

## **RESUME**

Le bassin de Marennes-Oléron est le premier site ostréicole européen. Depuis 1988 des mortalités chroniques apparaissent sur les élevages conchylicoles. En 1996, un programme de suivi de mortalité et des paramètres environnementaux a été développé. Les différentes conclusions retenues au cours des années antérieures font état de brusques variations de température suspectées dans l'apparition de ces mortalités.

Une approche écophysiological des huîtres par l'intermédiaire de la mesure de respiration a permis de déterminer l'effet significatif d'un stress thermique ( $\Delta T=28^{\circ}\text{C}$ ). La maturité sexuelle apparaît également comme un facteur prépondérant dans la demande métabolique

A l'issue de cette étude, il apparaît que les huîtres matures et de surcroît stressées par le facteur température peuvent refléter un certain niveau de "détresse physiologique".

**I PRESENTATION DE L'ETUDE**

## I 1. Le Bassin de Marennes-Oléron et l'Ostréiculture

Le bassin de Marennes-Oléron a une surface de 175 km<sup>2</sup> limitée au Nord par l'estuaire de la Charente, au Sud par celui de la Seudre, à l'Est par le continent et à l'Ouest par l'île d'Oléron (figure 1). Sur l'ensemble de l'estran des Pertuis charentais, **4 500 hectares** représentant **32 000 concessions** sont concédés en 1996 aux activités conchylicoles (Populus *et al.*, 1996).

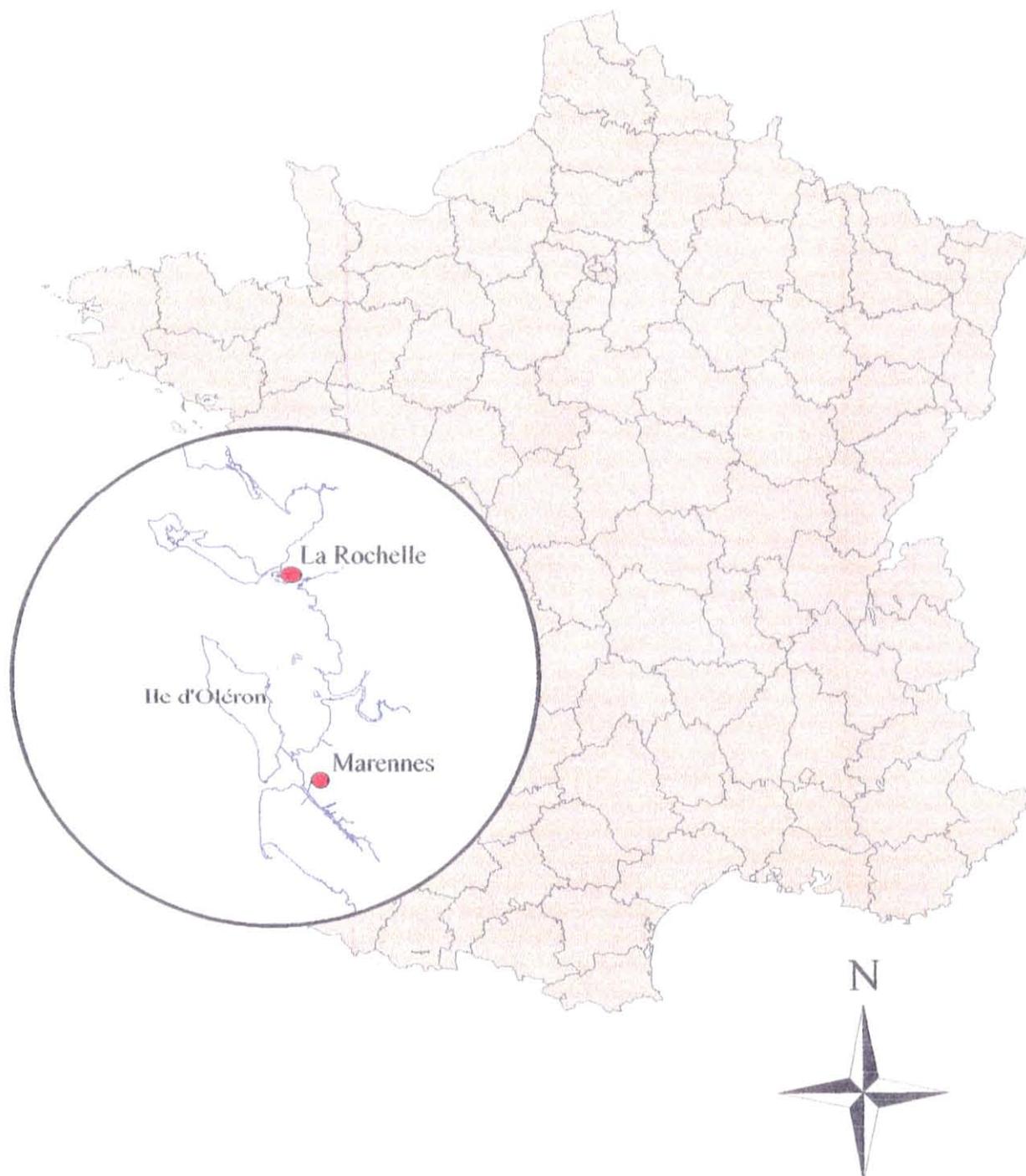


Figure 1 : Situation géographique du Bassin de Marennes-Oléron.

Sur le plan économique, le stock de **110 000 tonnes** d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*, pour une production commercialisée annuelle d'environ **30 000 tonnes**, fait du Bassin de Marennes-Oléron le premier bassin ostréicole européen.

Le site de Ronce Les Bains et de Perquis est responsable à lui seul de **8 à 10 000 tonnes** d'huîtres creuses produites et commercialisées par le bassin. L'élevage pratiqué sur Ronce affiche, de surcroît, d'excellents taux de croissance comparativement au reste du bassin (Annexe 1). Le banc de Ronce tient donc une place significative dans l'économie du bassin de Marennes-Oléron. La surface en élevage des bancs de Ronce et de Perquis dans l'utilisation actuelle du Domaine Public Maritime est d'environ **175 hectares**, réparties en **1 600 concessions** (fig 2).

### Bancs de Ronce et Perquis: Situation Géographique

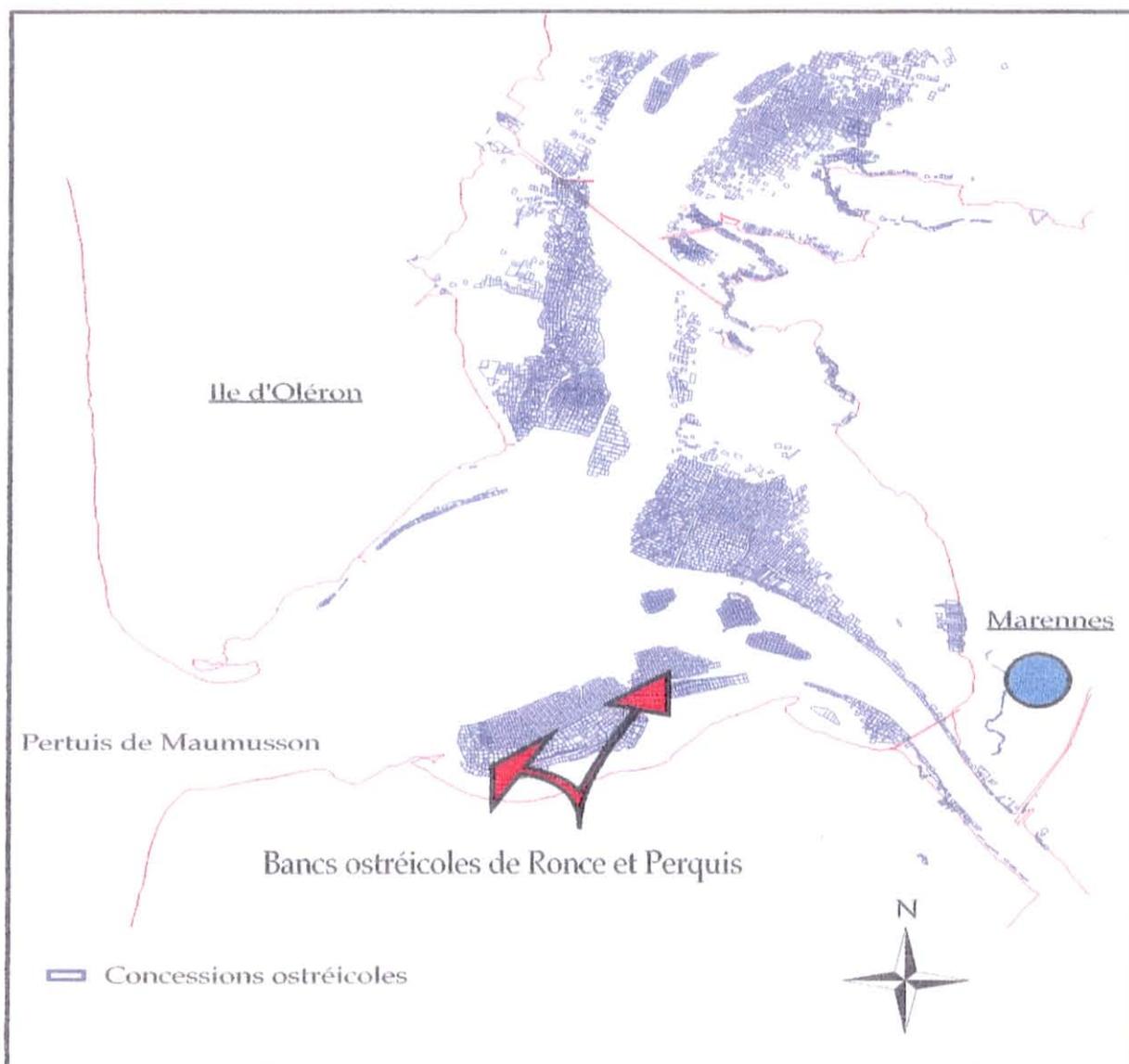
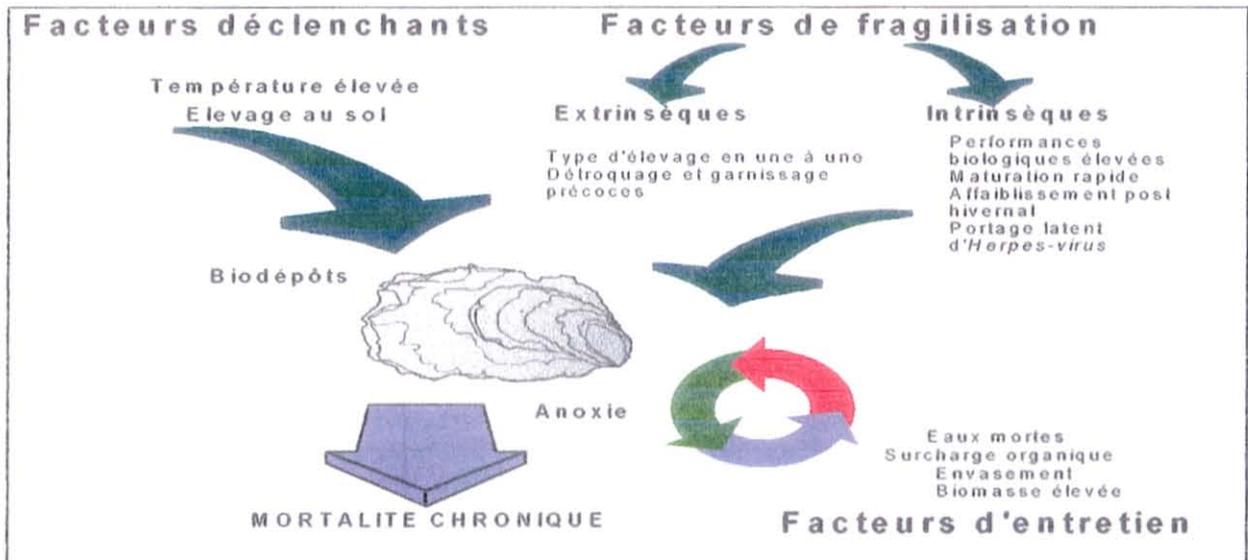


Figure 2 : Situation géographique des bancs ostréicoles de Ronce et Perquis

## 1.2. La problématique des mortalités estivales

Depuis 1988, des mortalités chroniques apparaissent sur les élevages ostréicoles à plat dans le sud du bassin de Marennes-Oléron. Cette année là, une perte massive a été estimée à 7 800 tonnes (Bodoy *et al.*, 1990). Les bancs ostréicoles de Ronce Les Bains et de Perquis sont plus particulièrement touchés par ce phénomène pouvant atteindre des taux de 30 à 40 % des cheptels. Ces mortalités apparaissent lors de l'élévation de la température en fin de printemps ou début d'été (Le Moine, 1997). En 1996, les mortalités estivales apparaissent sur le banc ostréicole en "tâches" et avec une intensité variable allant de 15 à 50 % (Lodato, 1997). Les mortalités résultent d'une conjugaison complexe de stress (thermiques et environnementaux) subis par des huîtres fragilisées. Dès l'élévation des températures, les conditions environnementales au niveau de l'interface eau-sédiment et dans la colonne d'eau, semblent constituer un facteur déclenchant de mortalités chroniques (figure 3)(Lodato, 1997).



**Figure 3:** Proposition explicative du phénomène de mortalité chronique. Influence multifactorielle des paramètres environnementaux, zootechniques et biologiques (Lodato, 1997).

Le phénomène de mortalité estivale ainsi décrit a donné lieu depuis 1988 à diverses hypothèses explicatives :

Le banc de Ronce, localisé à l'extrême Sud du Bassin de Marennes-Oléron, ne se trouve que peu irrigué par la veine de courant principal de circulation générale Nord-Sud. Parallèlement, au niveau du Pertuis de Maumusson, la quantité d'eau sortante est 2,2 fois plus importante que l'apport d'eaux océaniques entrant en période de vives-eaux (Bodoy *et al.*, 1990).

L'hypothèse de l'origine toxique a été précocement écartée (Lodato, 1997) et celle d'une cause infectieuse n'a jamais été validée (LBEIM, 1992). Un excès de densité et un faible apport trophique lié à la position des bancs auraient pu aboutir à l'amaigrissement et à l'affaiblissement du cheptel. Les différentes conclusions retenues au cours des années antérieures font état d'un processus de "stress thermique" précédé d'une détresse physiologique (Maurer *et al.*, 1986). Pendant la gamétogenèse, le potentiel de croissance est différent selon les stades de maturité sexuelle (Soletchnik *et al.*, 1996). Des expérimentations

mettant en oeuvre un stress thermique peuvent être envisagés afin d'observer la variabilité de réponse physiologique de l'huître en période de maturation sexuelle.

Depuis 1996, suite à l'inquiétude des ostréiculteurs du Bassin de Marennes-Oléron, l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) a décidé de renforcer ses programmes liés à l'écosystème en vue d'essayer de mieux comprendre les causes des mortalités chroniques sur les bancs de Ronce et de Perquis.

Ainsi, une estimation des stocks d'huîtres, un suivi par sondes de paramètres environnementaux (température, oxygène et salinité), la pose d'un valvomètre, une étude de l'évolution bathymétrique locale, la modélisation de la trajectoire des eaux de la Seudre, un suivi des eaux de lagune de la station d'épuration de La Tremblade (Lagarde, 1996.) ainsi que des expérimentations *in vitro* sur la maturation des huîtres creuses (Soletchnik *et al.*, 1996) constituent autant d'opérations entreprises en 1996.

En 1997, le programme de recherches de l'IFREMER comprend des actions simultanées sur le terrain et en laboratoire en liaison avec l'état des cheptels ostréicoles des bancs de Ronce et Perquis (site atelier). Un protocole d'échantillonnage sur le terrain permet de suivre en temps réel une population d'huîtres sur un site atelier (Forest, 1997 sous presse). Dans un deuxième temps, des expériences concernant l'effet de fortes variations de température sur la physiologie des huîtres seront menées en laboratoire (Le Moine, 1997).

### ***Présentation du site atelier de Ronce-Perquis***

Les huîtres échantillonnées sont des huîtres individuelles mises sur parc précocement au printemps afin de maximiser l'exposition à divers facteurs d'affaiblissement (Lodato, 1997). La population homogène d'huîtres *C. gigas* est répartie sur 15 sites expérimentaux (6 sur Perquis, 9 sur Ronce) (fig. 4). Un lot témoin placé sur le parc IFREMER d'Agnas plus au Nord dans le bassin de Marennes-Oléron. La répartition des sites est basée sur deux facteurs : la répartition géographique et le gradient bathymétrique. Un élevage à plat et un élevage sur table sont réalisés sur chaque site.

Quelques sites d'élevage sont équipés d'une sonde permettant le suivi de la température en continu au niveau de l'interface eau-sédiment. L'amplitude du stress thermique subi par les huîtres d'un point de vue spatio-temporel est mesurée.

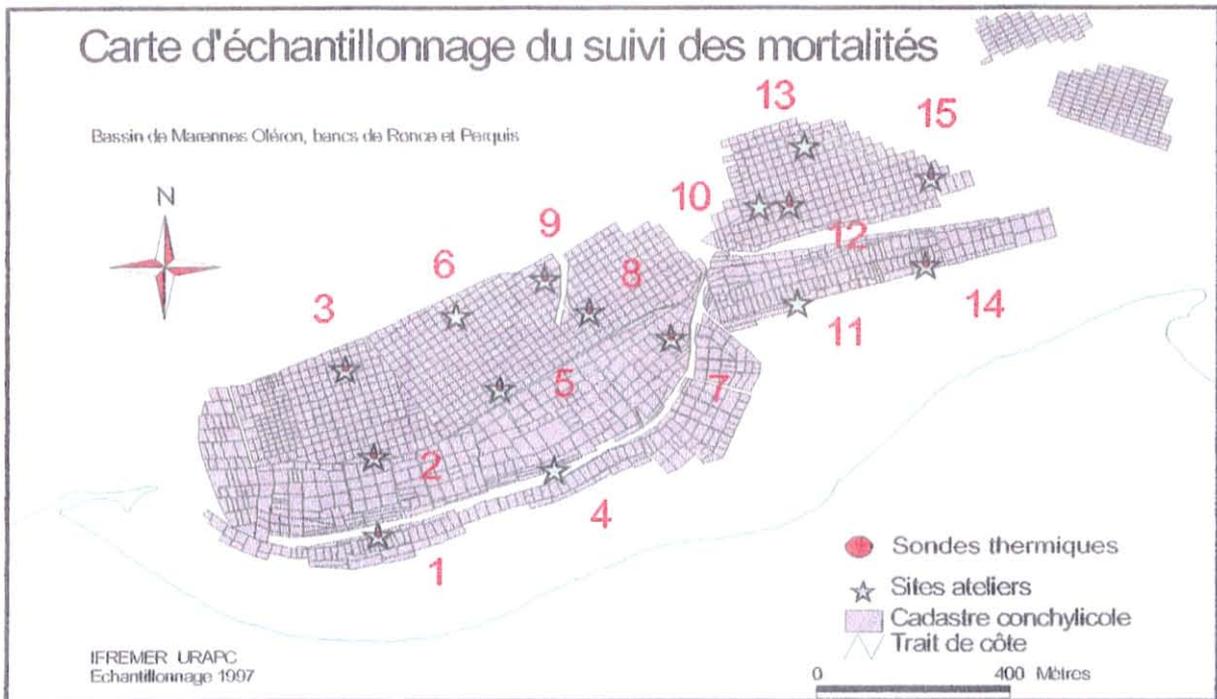


Figure 4 : Site atelier de Ronces-Perquis et stations expérimentales de suivi des élevages (d'après Forest, 1997 sous presse).

### I 3. Eléments d'écophysiologie de l'huître *Crassostrea gigas*

#### *La respiration et le bilan énergétique*

L'étude du bilan énergétique de *C. gigas* en cours de maturation sexuelle a déjà été abordée dans ce laboratoire (Soletchnik *et al.*, 1996, 1997). La mesure du taux de respiration permet d'avoir une première approche vis à vis du bilan énergétique des huîtres pendant la maturation sexuelle.

Dans les cellules animales, la source d'énergie par réaction exergonique est obtenue, soit par respiration en présence d'oxygène, soit par fermentation en absence d'oxygène (Lucas, 1993). La respiration représente la part des apports utilisés pour produire l'énergie nécessaire au métabolisme (consommation d'oxygène, production de CO<sub>2</sub> et de chaleur). En outre, le potentiel de croissance (J. h<sup>-1</sup>) est estimé par la formule suivante (Lucas, 1982) :

$$\text{Potentiel de croissance} = \text{Absorption} - \text{Respiration}$$

La **fonction de respiration** représente la consommation d'oxygène (mg O<sub>2</sub>. h<sup>-1</sup>) convertie en J. h<sup>-1</sup> par le coefficient de conversion énergétique de 0,45 J. μmol<sup>-1</sup> O<sub>2</sub> (Bayne *et al.*, 1976).

Bayne (1975) a donné la définition du stress appliqué aux mollusques bivalves marins: "Le stress est une altération mesurable d'un état physiologique permanent (comportemental, biochimique ou cytologique) qui est induit par un changement environnemental, et qui rend les individus (ou les populations) plus vulnérables au changements environnementaux ultérieurs".

De nombreuses **perturbations environnementales** peuvent avoir une action directe sur les mollusques bivalves. Elles peuvent être physiques (manipulations, envasement, agitation excessive, exondation, hypothermie, hyperthermie, excès de seston total), chimiques (salinité, oxygène, métaux, polluants organiques) ou biologiques (parasites, algues toxiques, compétiteurs, pathogène, prédateurs) (Baud *et al.*, 1997).

Les mortalités printanières se manifestent en période de maturation des huîtres. En absence de causes pathogènes évidentes, **les conditions de température et l'état physiologique des huîtres en cours de maturation, font partie des facteurs suspectés** (Soletchnik *et al.*, 1997).

#### Effet de la température sur la respiration

La température est reconnue comme un des facteurs environnementaux majeurs agissant sur l'activité métabolique des organismes poïkilothermes. Beaucoup d'invertébrés du littoral ne peuvent assurer leur régulation thermique et font varier respiration et filtration afin de rester relativement indépendant de la température. La respiration d'un bivalve se trouve modifiée par le facteur température selon l'histoire thermique, la taille, le stade de maturité et par le niveau de métabolisme de l'animal (Bayne *et al.*, 1976.).

Le temps d'immersion des huîtres pendant lequel ces dernières peuvent satisfaire leurs besoins trophiques et principalement s'alimenter, varie avec la bathymétrie du parc sur lequel elles sont mises en culture. Une augmentation du temps d'exondation prolonge la durée d'exposition aux hautes températures. A chaque parcelle ostréicole est directement associée une position bathymétrique et par conséquent une durée d'exondation. Dans le cadre de l'étude menée en 1997 (Forest, 1997 sous presse), l'apport trophique et le stress thermique varient avec la position des sites expérimentaux.

Selon l'évolution de la bathymétrie de 1970 à 1994, il y a un colmatage progressif du pertuis de Maumusson qui peut atteindre plusieurs mètres localement. Une augmentation moyenne du niveau bathymétrique de 0,5 m a été observée dans le sud du Bassin (Prou, *Com per*; Annexe 2).

L'étude de la respiration permettra de vérifier l'effet de la situation géographique, en temps réel et ponctuel, sur le métabolisme des huîtres. Un des objectifs de cette étude est de tester l'effet des fortes variations de température sur le taux de consommation d'oxygène de l'huître à différents stades de maturation sexuelle.

#### ***L'évaluation des températures intervalvaires***

Les caractéristiques morphologiques jouent un rôle important dans l'élévation de la température des huîtres. Les mesures importantes seront précisées dans l'objectif d'élaborer un modèle de suivi de la température intervalvaire. Cette étude permet d'observer les conditions thermiques auxquelles sont réellement confrontées les huîtres (chair du mollusque) sur les parcs exondés en conditions printanières et estivales.

### *L'activité valvaire*

Blandin (1986) définit un indicateur biologique comme "un organisme ou ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème et de mettre en évidence, aussi précocement que possible les modifications naturelles ou provoquées".

L'étude de l'activité valvaire d'huîtres entrera en complément d'information. Elle est basée sur la comparaison de fréquences d'ouverture et de fermeture d'huîtres issues de parcs ostréicoles de caractéristiques différentes.

L'étude réalisée s'inscrit dans le cadre du programme de recherche IFREMER en liaison avec l'état des cheptels ostréicoles des bancs de Ronce les bains et Perquis par rapport à l'environnement. Trois axes sont suivis pour avoir une approche de l'état des huîtres *in situ* :

- ⇨ **l'écophysiologie de la respiration** qui détermine l'effet de la température (stress thermique) en période de maturité sexuelle.
- ⇨ **le suivi de l'élévation des températures intervalvaires** selon le stress envisagé.
- ⇨ **l'observation du comportement** des individus selon leur position géographique sur le site d'élevage.

**II MATERIEL ET METHODES**

## II 1. Physiologie de la respiration

La consommation d'oxygène chez les bivalves peut être estimée de manière statique ou par l'intermédiaire d'une installation à débit constant. Les moyens mis à disposition permettent de réaliser la méthode statique; cette dernière sera retenue (fig. 5).

La méthode statique consiste à observer la diminution de la concentration d'oxygène dissous dans les cellules de mesure sur une période de temps définie. Après la mise en cellule de mesure des bivalves, les conditions ne sont plus constantes. En effet, la concentration en oxygène et en particules alimentaires diminue au profit de la concentration en dioxyde de carbone et en déchets azotés qui augmente. Cependant, l'utilisation de courtes périodes de mesure n'induit pas d'effet significatif de cette dérive sur la respiration (Small et Widdows, 1994).

### *Matériel biologique*

Une population homogène d'huîtres de 3 ans, captées sur le banc ostréicole de Bonne Anse et prégressie sur le banc de la Mortanne, est répartie sur les 14 sites expérimentaux du programme "Suivi de mortalité" (Forest, 1997, sous presse). Les prélèvements sont réalisés essentiellement sur les parcs en culture à plât, ceux-ci étant plus sensibles aux mortalités chroniques printanières (Lodato, 1997).(fig. 4).

### *- Reconstitution du milieu environnemental*

Les huîtres sont prélevées sur les sites 1 à 2 jours avant le début des mesures. Les conditions de stockage reproduisent les conditions environnementales (marées).

Un race way de 200 l est équipé d'un système de pompage reconstituant le rythme des marées. L'eau de mer utilisée est pompée dans le Bassin de Marennes-Oléron, stockée en bassin de 300 m<sup>3</sup> puis en bassin couvert de 30 m<sup>3</sup>. A partir de ce bassin, deux pompes refoulantes (400 watts) sont utilisées. La première a pour fonction d'amener l'eau de mer à un débit d'environ 1 à 1.5 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> en race-way tandis que la deuxième assure un mouvement de l'eau afin d'éviter la décantation du seston. Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau de mer ne sont que très peu modifiées par le stockage. On constate simplement une dégradation des chlorophylles au profit des phéopigments (bassin couvert) (Annexe 2 b).

### *Mesures de la respiration*

Selon Bayne *et al.* (1976), il existe 3 niveaux différents de consommation d'oxygène liés aux conditions trophiques du milieu : le taux standard (eau de mer dépourvue de suspension algale), le taux de routine (eau de mer avec une concentration de phytoplancton soutenue), le taux actif (eau de mer concentrée en algue). Le système permet de travailler avec le taux de routine

L'appréciation de la respiration la plus simple est la mesure de l'oxygène consommée. Elle est réalisée à l'aide d'un oxymètre, en milieu confiné (volume déterminé a posteriori) par visualisation de la chute de pression partielle en oxygène dissous dans le milieu (fig. 5).

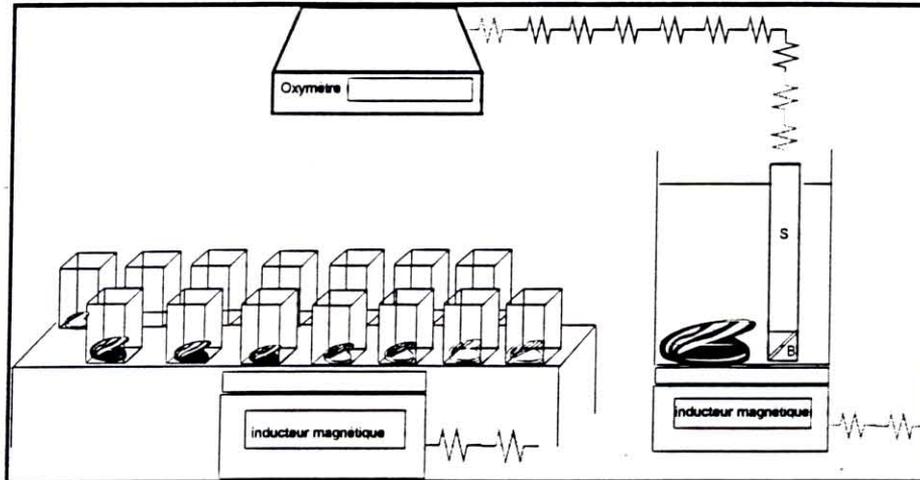


Figure 5 : Cellules de mesure de la respiration de *C. gigas* (d'après Soletchnik *et al.*, 1997).

La concentration en oxygène est mesurée toutes les ½ heures, sur une période totale de 2 heures, grâce à une sonde polarographique à membrane semipermeable (basée sur le principe de l'électrode de Clark) de type WTW OXI E0 96 équipée d'un agitateur magnétique et un oxymètre à microprocesseur WTW OXI 196.

La température n'est pas contrôlée mais est suivie par le biais d'un thermomètre électronique. Les animaux sont placés en cellule de mesure 10 à 15 minutes avant les premières mesures de la baisse de concentration d'oxygène.

La consommation d'oxygène ( $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1}$ ) est calculée par la formule suivante :

$$\text{Cons} = ([\text{O}_2]\text{initial} - [\text{O}_2]\text{final}) * V_{\text{cellule}} / ((T_{\text{final}} - T_{\text{initial}})/60)$$

<u>Cons</u> :	Consommation d'oxygène par individu ( $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1}$ ).
<u>[O<sub>2</sub>]initial</u> :	Concentration initiale en oxygène dissous en cellule de mesure ( $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ).
<u>[O<sub>2</sub>]final</u> :	Concentration finale en oxygène dissous en cellule de mesure ( $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ).
<u>V<sub>cellule</sub></u> :	Volume d'eau de mer en cellules de mesure (l).
<u>T<sub>final</sub></u> :	Temps final du relevé de mesure (min.).
<u>T<sub>initial</sub></u> :	Temps initial du relevé de mesure (min.).

### ***Les descripteurs biométriques et de maturité sexuelle***

A l'issue de chacun des cycles de mesures de l'activité respiratoire, pour chaque huître, le poids mouillé de coquille, le poids sec (après congélation de la chair

fraîche puis lyophilisation), ainsi que les stades de maturité sexuelle sont mesurés. Les échantillonnages ont eu lieu avant l'apparition de ponte dans le milieu naturel. Les stades sexuels d'huîtres peu matures et en post pontes ne peuvent être confondus.

Les stades de maturité sexuelle sont déterminés sur la base d'observations macroscopiques et microscopiques à partir de critères issus des échelles de maturation de Marteil (1976) et de Le Dantec (1968) (Soletchnik *et al.*, 1996). Les critères macroscopiques concernent le recouvrement de la masse hépatopancréatique par la gonade. Après biopsie des gonades, les critères microscopiques permettent de définir le sexe et précisent la mobilité des cellules sexuelles mâles, la taille et forme des ovocytes (tableau 1). La Somme des Observations Macroscopiques et Microscopiques (SOM) pour mâles et femelles définit une échelle relative de maturité sexuelle comprise entre 1 et 3. Le sexe n'entre pas dans la somme des critères.

Tableau 1 : Détermination des stades de maturité sexuelle chez *C. gigas* (d'après Soletchnik *et al.*, 1996).

Observations macroscopiques	échelle descriptive
gonade recouvre la masse viscérale de moins de la moitié	1
gonade recouvre la masse viscérale de plus de la moitié	2
gonade recouvre la masse viscérale totalement	3
Pression	
pas d'émission de gamètes	1
émission de produits génitaux par forte pression	2
émission de produits génitaux par pression légère	3
Sexe	
mâle	1
femelle	2
Observations microscopiques	
<i>mâle</i>	
pas de mobilité des spermatozoïdes	1
mobilité partielle des spermatozoïdes	2
mobilité active de l'ensemble des spermatozoïdes	3
<i>femelle</i>	
stade ovogonie	1
ovocytes en vitellogénèse	2
ovocytes en vitellogénèse avancée (piriforme)	3
Somme des observations macro et microscopiques	2-9

Dans le cas de l'étude et sur la base de l'échelle ci-dessus (tableau 1), un regroupement des classes est effectué :

Echelle relative des modalités du facteur "Maturité sexuelle"

- 1 : individus immatures à peu matures (SOM : de 2 à 4).
- 2 : individus peu matures à matures (SOM : de 5 à 7).

### Le stress thermique

Un des objectifs des expérimentations est d'administrer un stress thermique court et intensif aux huîtres. L'acquisition des données thermiques environnementales est possible grâce aux sondes thermiques Tinytalk<sup>TM</sup> Pt100 Datalogger Tinytag. Ces sondes sont placées à l'interface eau/sédiment afin de mesurer les températures que subissent les huîtres élevées à plat. L'amplitude thermique maximale est mesurée sur le site le plus "haut" en altitude du banc (site n°2) (fig. 4) et par conséquent le plus exondé. On constate une variation de température d'environ 20°C part exemple le 11 avril 1997 (fig. 6, marée diurne). Des écarts thermiques de 28°C ont également été rencontrés. La température de l'eau au début des expérimentations est à 15 °C. Le stress thermique sera appliqué à une température de 43°C ( $\Delta T = 28^\circ\text{C}$ ).

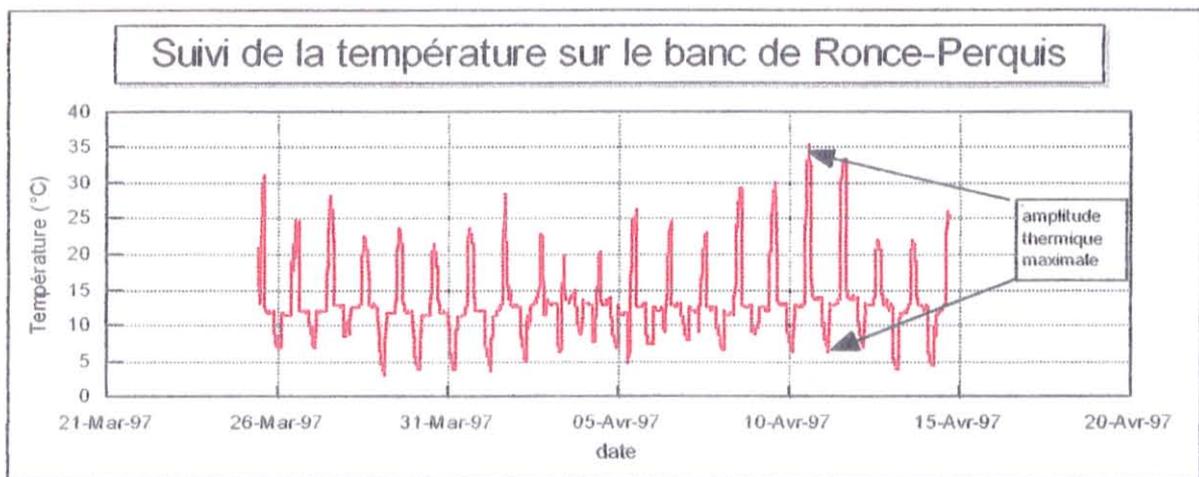


Figure 6 : Suivi de température sur le site le plus "haut" en altitude (site n°2) du banc de Ronce-Perquis.

Le choix de la durée du stress thermique fait référence à des données environnementales du banc étudié. Des durées d'exondation ont été évaluées sur 2 sites expérimentaux (site 8 et site 15) d'altitude respective 3 m et 1,7 m ( fig 7). La durée d'exondation varie entre ces 2 points de 2 à 5 heures.

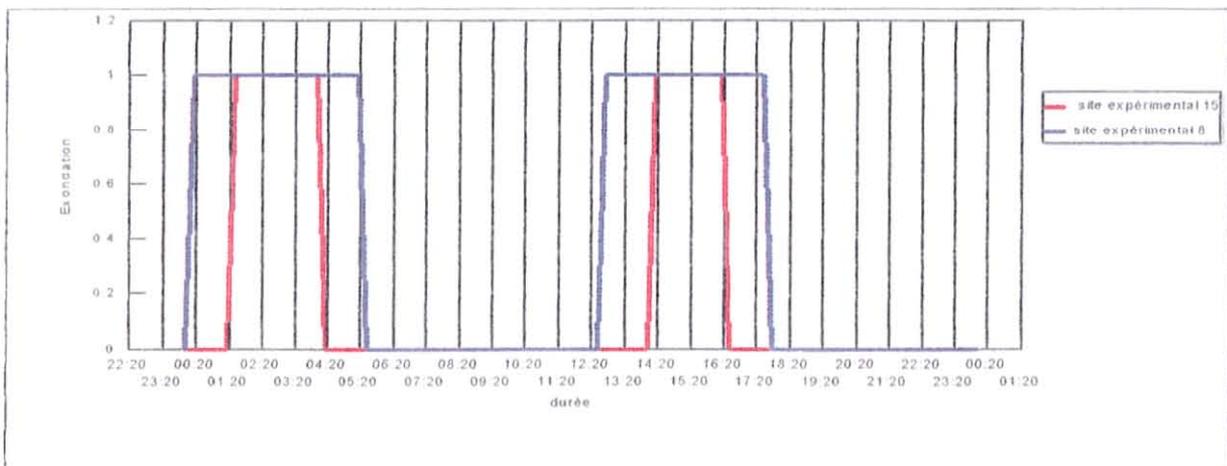


Figure 7 : Représentation des durées d'exondation sur des sites d'altitudes différentes.

Sur la base d'observations de terrain, la méthode retenue sera de faire subir un choc thermique important ( $\Delta T = 28^{\circ}\text{C}$ ) et de courte durée (2 heures).

### *Les expérimentations*

Le suivi de mortalités (Forest, 1997, sous presse) permet de visualiser l'ensemble des données biométriques de terrain. Les caractéristiques du matériel biologique échantillonné se différencient par le poids total, le poids sec, le poids frais ainsi que par les stades de maturité sexuelle selon les sites.

Le programme "suivi de mortalité" sert de base pour le choix des prélèvements d'huîtres. Des cartes élaborées par Système d'Informations Géographiques permettent d'observer l'évolution de caractéristiques biométriques (Le Moine, *com. pers.*). Les huîtres des différentes expériences ont leurs caractéristiques biométriques définies associées à des sites d'élevage.

Les expérimentations sont conduites selon un plan d'expérience à facteurs croisés :

- Le **stress thermique** avec la modalité "stress", et la modalité "non-stress".
- La **maturité sexuelle** qui se subdivise en 3 modalités "stades de maturité".
- Le **site d'élevage**.
- La **durée de stockage** qui se décompose en 3 classes horaires. Elle est évaluée par rapport à la durée de stockage à partir du prélèvement (tableau 2).

Tableau 2 : précision des classes horaires des différentes durées de stockage.

<u>Durée de stockage</u>	<u>Nombre d'heures à partir du prélèvement</u>
1	18 à 23 heures
2	25 à 29 heures
3	42 à 50 heures

### Expérience 1

Cette première expérience est conduite croisant les 2 facteurs envisagés : maturité sexuelle et stress (tableau 3).

Tableau 3 : Conditions expérimentales de l'expérience 1.

matériel biologique	origine des huîtres	site 2 ; site 15
	date de prélèvement	28/04/97
	effectif total	70
conditions externes	température	15,5°C à 16°C
	chlorophylle a et phéopigments (mg/m <sup>3</sup> )	phéo :3,94 chl a :2,3
mesures de respiration	facteurs croisés	maturité sexuelle
		stress thermique
	nombre de cycles de mesures	4

Après observation des résultats du programme "suivi de mortalités", il a été établi que la maturité sexuelle était largement corrélée à la position bathymétrique des huîtres sur le banc de Ronce les Bains et Perquis. Afin d'obtenir une diversité maximale au niveau du facteur "stades de maturité", les huîtres sur des parcs d'altitude différents où l'exondation est différente (plus les huîtres sont exondées, moins elles sont matures) (Annexe 3). Les sites choisis sont les points 2 et 15 (fig. 4).

### Expérience 2

La première expérience montre que les conditions de stockage des huîtres en race way et l'enchaînement des cycles de mesures de la respiration induisent un biais qui ne permet pas la reproductibilité des cycles dans le temps. L'expérience 2 permet de suivre l'évolution de la consommation d'oxygène après le stress thermique en fonction des différents stades de maturité sexuelle (§ choix des stress) et de suivre l'effet de **la durée de stockage** sur la fonction de respiration (tableau 4).

Tableau 4 : Conditions expérimentales de l'expérience 2.

matériel biologique	origine des huîtres	site 15
	date de prélèvement	13/05/97
	effectif total	40
conditions externes	température	14,5°C à 17°C
	chlorophylle a et phéopigments (mg/m <sup>3</sup> )	phéo :4,5 chl a :2,5
mesure de respiration	facteurs croisés	maturité sexuelle
		stress thermique
		durée de stockage
nombre de cycles de mesures	3	

Expérience 3

L'objectif de cette expérience est de conforter les résultats de l'expérience 2.

Tableau 5 : Conditions expérimentales de l'expérience 3.

matériel biologique	origine des huîtres	site 4 ; site 15
	date de prélèvement	27/04/97
	effectif total	120
conditions externes	température	18,7°C à 19,2°C
	concentration en chlorophylle a et phéopigments (mg/m <sup>3</sup> )	phéo : 3 chl a : 5
mesure de respiration	facteurs croisés	maturité sexuelle
		stress thermique
		durée de stockage
	nombre de cycles de mesures	4

Expérience 4

L'expérience 4 a comme objectif de comparer l'effet du stress thermique et de la maturité sexuelle sur la respiration, près de 2 mois après la première expérience. Elle permet également d'étudier l'effet du facteur "site" (historique du cheptel) sur la respiration.

Tableau 6 : Conditions expérimentales de l'expérience 4.

matériel biologique	origine des huîtres	site 11, site 15, site 7
	date de prélèvement	16/06/97
	effectif total	132
conditions externes	température	18 à 20 °C
	chlorophylle a et phéopigments (mg/m <sup>3</sup> )	phéo :0,86 chl a :2,49
méthodes	facteurs croisés	Maturité sexuelle
		stress thermique
		site
	nombre de cycles de mesures	3

covariables (ressource trophique, température, poids sec, durée de stockage) sont prises en compte à dans les différentes analyses. Les **interactions** entre les facteurs analysées sont également testées.

Chaque analyse concernant les facteurs "stress", "maturité sexuelle" et "durée de stockage" groupe la totalité des effectifs des 4 expériences, soit 306 individus. L'ensemble des résultats est analysé sur une période de 10 semaines.

## II 2. Mesure de la température intervalvaire de *Crassostrea gigas*

Les huîtres étudiées sont issues des claires ostréicoles du Bassin de Marennes-Oléron de l'IFREMER. Les huîtres, dont le poids est supérieur à 35 g, sont des échantillons du programme REMORA des années précédentes. Les mesures sont effectuées sur une trentaine d'individus d'une gamme de poids allant de 16 à 150 grammes.

La sonde thermique utilisée est un enregistreur de données de type TYNITAG -50/300°C. Les relevés de température s'effectuent en degré Celsius. La capacité d'acquisition de données est de 7900 relevés. Un capteur de température, d'un diamètre de 2 mm et d'une longueur de 25 mm, est monté sur un flexible et rattaché à l'enregistreur par une connexion étanche.

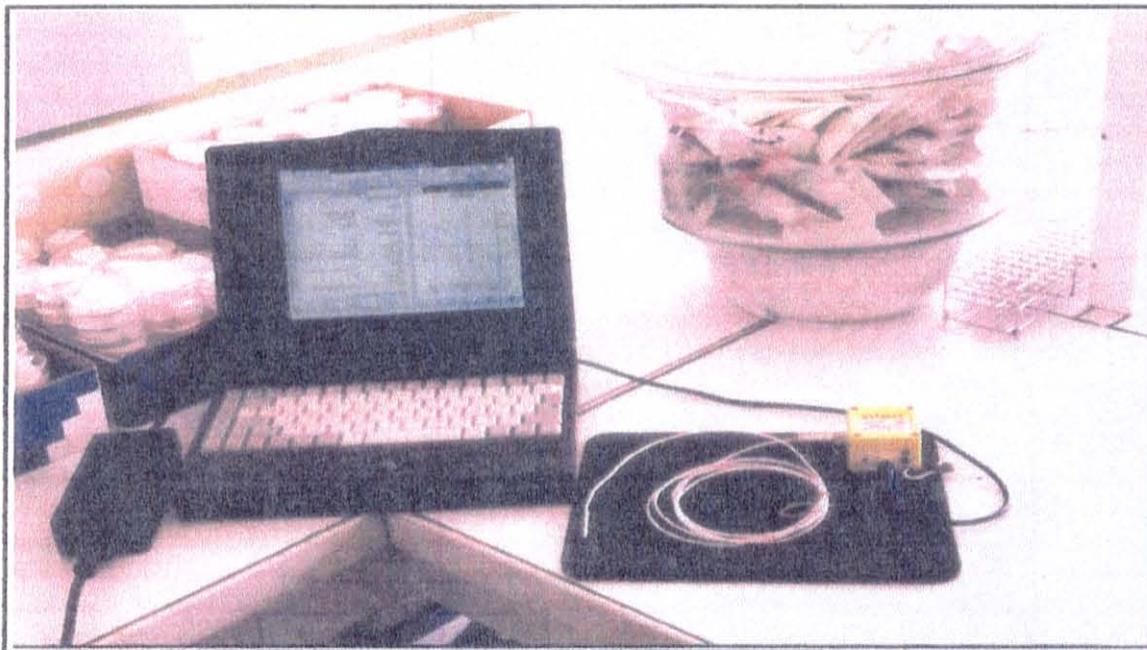


Figure 8 : Enregistreur de données de type TYNITAG -50/300°C avec capteur externe en liaison avec l'ordinateur.

L'étuve utilisée est une étuve de marque Memmert, d'une puissance de 2 400w. La ventilation à l'intérieur de l'étuve est en fonctionnement pendant les mesures. Cet appareil a une précision de 5 % de la température programmée.

Après avoir percé la coquille d'une huître, le capteur thermique est introduit dans le volume intervalvaire de l'animal. L'hermétisme de l'espace intervalvaire est rétabli en

obstruant l'orifice par du mastic "Futtex". Le bivalve est ensuite placé dans l'étuve afin de subir le stress. Les durées de séjour en étuve sont variables selon la classe de poids.

La principale mesure est de déterminer le temps nécessaire (en minute) pour atteindre une température intervalvaire de 40 °C (**inertie thermique**). Cette mesure est fonction des caractéristiques biométriques de chaque huître. Les mesures du poids total, du poids de coquille, du poids frais, du poids sec, du volume intervalvaire, de la longueur, de la largeur, de l'épaisseur, doivent permettre l'élaboration d'un modèle établissant une relation entre les caractéristiques biométriques et la résistance passive des huîtres à l'élévation de température.

Une première modélisation de chaque relevé de mesure de température pour chaque huître est nécessaire pour obtenir une standardisation de chaque suivi. Cette modélisation se fait par l'intermédiaire de régressions calculés par le logiciel "Statgraphics plus" et permet de déterminer le temps nécessaire pour atteindre la température choisie (40°C) (fig. 9). Cette variable est nommée "**Inertie40°**".

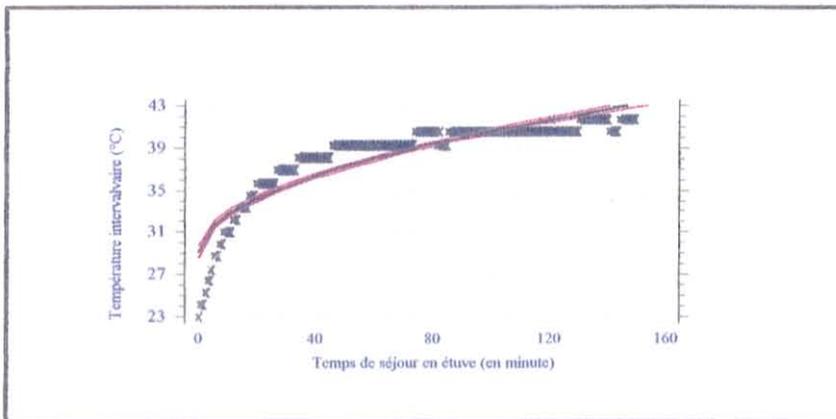


Figure 9 : Exemple de modélisation par régression simple non linéaire d'un suivi de température intervalvaire.

A partir de la variable "**Inertie40°**" et des caractéristiques biométriques de chaque huître, une modélisation linéaire par régression multiple permet d'obtenir à un modèle prédictif de "**l'inertie thermique**" des huîtres en fonction de leurs caractéristiques biométriques.

### II 3 Activité valvaire de *C. gigas*

L'objectif de cette étude est de comparer les activités valvaires d'huîtres échantillonnées sur les différents sites étudiés.

#### *Le valvomètre*

Le valvomètre IFREMER\MICREL est un appareil conçu en 1993 par PENNEC Serge (chercheur de l'IFREMER). Ce dispositif permet d'enregistrer de façon autonome, automatique et continue, les mouvements valvaires d'un échantillon de mollusques bivalves.

Le valvomètre IFREMER\MICREL se présente sous la forme d'une structure cylindrique de 332 mm de diamètre, pour une hauteur maximale de 60 mm et une masse de 1 kg (fig. 10).



Figure 10 : Le valvomètre IFREMER/MICREL, vue d'ensemble avec l'ordinateur portable associé.

Les huîtres sont collées horizontalement en périphérie sur une couronne en PVC, tandis que le centre de l'appareil renferme une centrale d'acquisition de données miniaturisée à microprocesseur. L'appareil utilise un type de capteur original. La mesure se fait entre un aimant déplacé lors des mouvements valvaires et un détecteur à effet Hall noyé dans la résine du support. Une vis ajustée à la valve libre de la moule permet le déplacement du capteur et entraîne une modification du champ magnétique.

Les mesures sont mémorisées dans une micro-centrale d'acquisition de données intégrée à l'appareil, autonome en énergie et dotée d'une mémoire de 32 Ko. Le déclenchement des enregistrements s'effectue manuellement ou automatiquement (en différé ou lors de franchissement d'un seuil préprogrammé).

L'absence de connexion constitue un point fort de l'appareil puisqu'il laisse une parfaite liberté à son utilisateur quant au choix du lieu d'installation (immersion au large ou sur le littoral sans nécessité d'un abri pour le terminal, pas de risque de panne due à une corrosion du connecteur ou à une fuite).

Les valeurs enregistrées dans la centrale sont collectées périodiquement et transmises à un micro-ordinateur type PC, par induction sans connexion, au moyen d'une sonde étanche (raccordée à l'ordinateur) que l'on approche de l'extrémité supérieure de l'appareil. La transmission s'opère instantanément.

Pour l'instant, l'appareil n'enregistre que les valeurs brutes correspondant aux écartements valvaires. Un logiciel d'analyse du signal et de détection d'alarmes est en cours de conception.

Le logiciel "MEMO" du constructeur MICREL permet la communication entre l'appareil et l'utilisateur pour configurer la centrale, lancer l'enregistrement, récupérer les valeurs, tracer les signaux valvaires et enfin exporter des fichiers de mesures sous forme ASCII, exploitable par informatique (Floch, 1994).

(raccordée à l'ordinateur) que l'on approche de l'extrémité supérieure de l'appareil. La transmission s'opère instantanément.

Pour l'instant, l'appareil n'enregistre que les valeurs brutes correspondant aux écartements valvaires. Un logiciel d'analyse du signal et de détection d'alarmes est en cours de conception.

Le logiciel "MEMO" du constructeur MICREL permet la communication entre l'appareil et l'utilisateur pour configurer la centrale, lancer l'enregistrement, récupérer les valeurs, tracer les signaux valvaires et enfin exporter des fichiers de mesures sous forme ASCII, exploitable par informatique (Floch, 1994).

### ***Matériel biologique***

La plus simple observation envisageable porte sur la comparaison de fréquences d'ouverture et de fermeture par rapport à des huîtres issues de site expérimentaux différents. Le site 13 est un site bas où les huîtres profitent d'une immersion prolongée alors que le site 14 est un parc "haut" en altitude avec une forte exondation. Le critère de sélection des cheptels est basé sur la différence de poids frais (annexe 4). Disposant de 2 valvomètres, l'effectif total sera de 16 huîtres.

### ***Traitement et analyse du signal***

Le traitement des signaux n'est pas immédiat. Par ailleurs, les informations apportées par la simple observation des signaux bruts sont insuffisantes et doivent rapidement être relayées par une analyse statistique.

Le premier traitement des valeurs consiste à normaliser des signaux bruts mesurés, afin de comparer chaque individu (fonction de la taille, de la morphologie du coquillage et du réglage initial du capteur) à un pourcentage d'ouverture valvaire calculé d'après le minimum et le maximum enregistrés ponctuellement au cours de la période de mesure (fig. 11). Cette valeur relative permet de comparer le comportement des bivalves entre eux, en éliminant les paramètres "taille" et "fixation". L'analyse du signal consiste, dans le cadre de cette étude, à établir une distribution de fréquence des pics d'ouverture et de fermeture.

Calcul du pourcentage de l'écartement valvaire par individus :

$$\text{Ecartement (\%)} = \frac{[(Val - Val \text{ min}) \times 100]}{(val \text{ max} - val \text{ min})}$$

*val min* : Valeur minimale lue pendant l'enregistrement.

*val max* : Valeur maximale lue pendant l'enregistrement.

*Val* : Valeur lue à comparer pendant l'enregistrement.

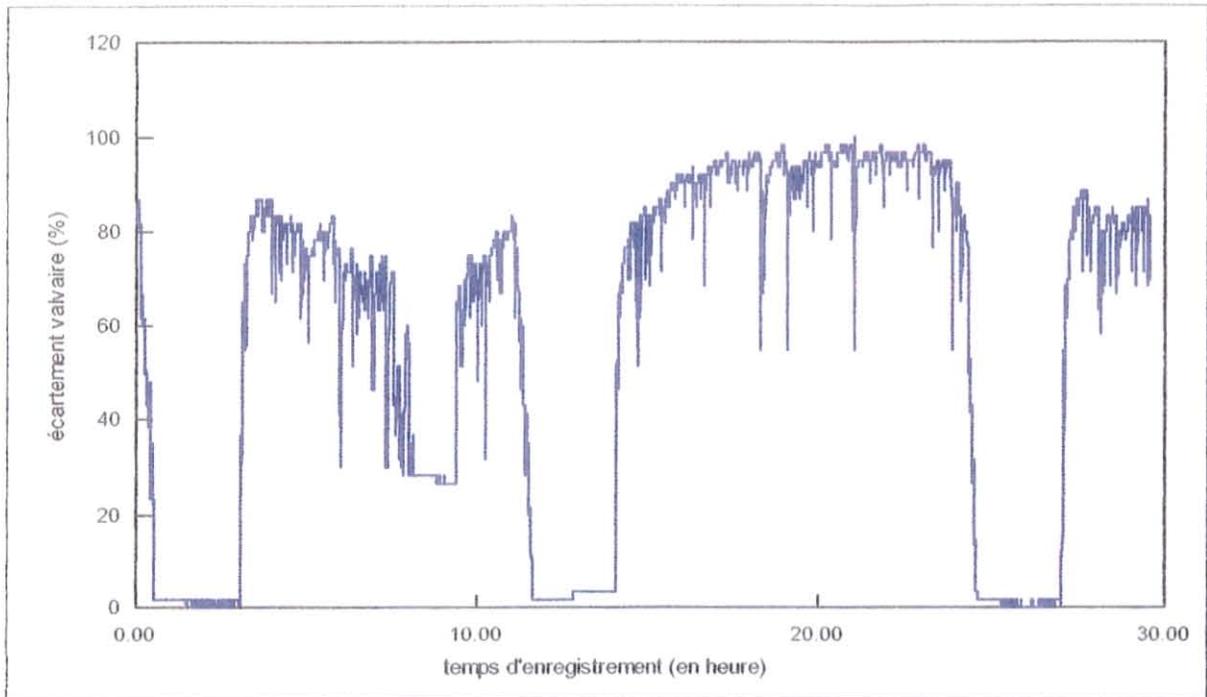


Figure 11 : Mouvements valvaires physiologiques (en %) de *Crassostrea gigas*.

Après avoir calculé le pourcentage d'ouverture valvaire, il est nécessaire de poursuivre le traitement du signal. Ainsi, le dénombrement des ouvertures et des fermetures de la coquille sur une période donnée semble adapté à la détermination d'une activité valvaire différente selon l'histoire et l'origine des huîtres. L'obtention de la fréquence d'ouverture et de fermeture se fait par l'intermédiaire d'un tableur et de bases de données.

Une analyse statistique non paramétrique sur des échelles ordinales est donc envisagée afin de vérifier une éventuelle différence significative d'activité valvaire des huîtres issues de parcs différents. Le test de Kruskal-Wallis permet l'analyse de données étudiées avec une faible quantité d'échantillons.

**III RESULTATS**

### III 1. Physiologie de la respiration

Les analyses globales de covariances de la respiration sont réalisées avec les facteurs "maturité sexuelle", "stress thermique", "catégorie de stockage" sur une population de 306 individus, soit l'ensemble des huîtres testées au cours des 4 expériences (10 semaines). Les seuils de probabilité de ces facteurs sont significatifs pour la maturité sexuelle et le stress thermique alors que la probabilité du facteur "durée de stockage" n'est pas significatif (tableau 7).

Tableau 7 : Valeurs de probabilité associées aux principaux facteurs de l'analyse de covariances pour la respiration.

<i>Principaux facteurs</i>	<i>Valeurs de probabilité</i>
durée de stockage	0,2478
maturité sexuelle	0,0027
stress thermique	0,0000

Les covariables prises en compte sont le poids sec, la température, le temps et la concentration algale dans le milieu environnemental (tableau 8). La respiration est une fonction allométrique du poids de l'huître (Bougrier *et al.*, 1995). Dans l'analyse, le poids sec est une covariable significative au seuil de probabilité de 1 ‰.

Tableau 8 : Valeurs de probabilité associées aux covariables de l'analyse de covariances pour la respiration.

<i>Les covariables</i>	<i>Valeur de probabilité</i>
température (°C)	0,0605
poids sec net (g)	0,0000
chlorophylle <i>a</i> et phéopigments (µg/l)	0,0000
temps (min.)	0,0000

La concentration en chlorophylle *a* et phéopigment varie dans le bassin de Marennes-Oléron (fig 12). Le descripteur de la ressource trophique est introduit comme covariable dans l'analyse au seuil de probabilité de 1 ‰.

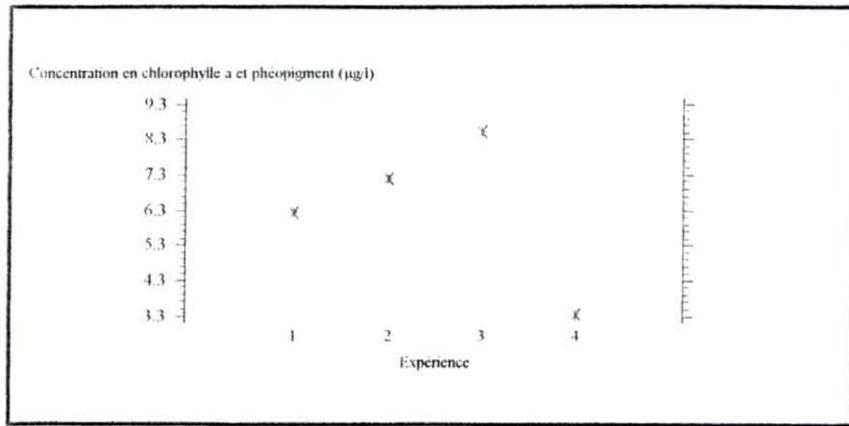


Figure 12 : Variabilité dans les concentrations de chlorophylle a et phéopigment au cours des différentes expériences.

Le facteur temps est une covariable significative au seuil de 1 ‰. La covariable température n'est pas significative au seuil de 5 % mais n'est pas loin de la valeur de probabilité de 0,05.

### *La respiration et la maturité sexuelle*

L'analyse de covariance de la respiration par rapport à la maturité sexuelle montre qu'il existe une différence significative entre les 3 stades de maturité sexuelle. La respiration augmente avec la maturité sexuelle (tableau 9). La moyenne de la respiration pour la modalité "stade de maturité sexuelle 1" est de 0,728 mg O<sub>2</sub>/h alors qu'elle est de 0,919 mg O<sub>2</sub>/h et 0,929 mg O<sub>2</sub>/h pour les stades 2 et 3 (tableau 9, fig 13).

Tableau 9 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration en fonction des stades de maturité sexuelle au seuil de 5%.

Stade de maturité sexuelle	Effectifs	Respiration moyenne (mg O <sub>2</sub> /h)	Limites hautes de la respiration (mg O <sub>2</sub> /h)	Limites basses de la respiration (mg O <sub>2</sub> /h)
1	51	0,728	0,624	0,832
2	110	0,919	0,874	0,964
3	146	0,929	0,883	0,975

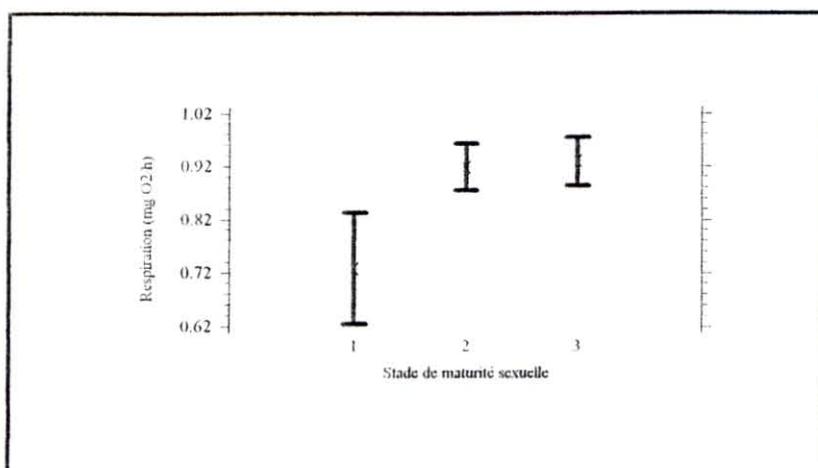


Figure 13 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration des huîtres selon le facteur "stades de maturité sexuelle".

### *La respiration et le stress thermique*

Le stress thermique induit un effet significatif sur la respiration au seuil de 1 %. La respiration moyenne augmente d'environ 15 % dans le cas d'huîtres stressées (fig 14 ; tableau 10). La consommation en oxygène de 0,812 mg O<sub>2</sub>/h pour la modalité "non-stress" est de 0,959 mg O<sub>2</sub>/h pour la modalité "stress".

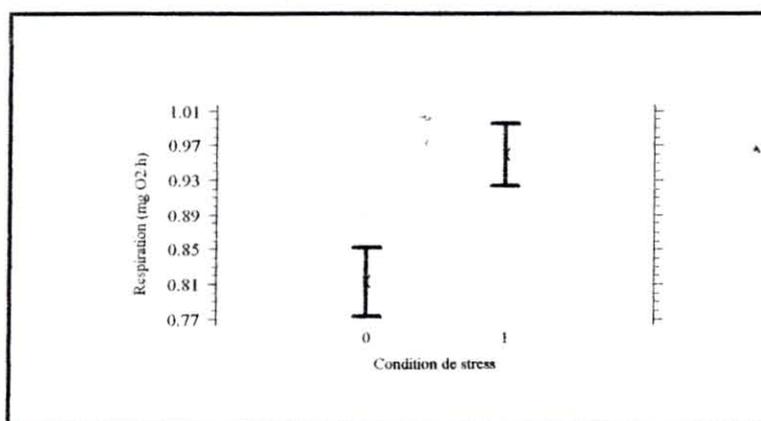


Figure 14 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration des huîtres selon le stress thermique ("0" : non stress, "1" : stress).

Tableau 10 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration en fonction du stress.

Facteur de Stress	Effectifs	Respiration moyenne (mg O <sub>2</sub> /h)	Limites hautes de la respiration(mg O <sub>2</sub> /h)	Limites basses de la respiration (mg O <sub>2</sub> /h)
Stress	145	0.959	0.922	0.995
Non stress	161	0.812	0.772	0.852

### *La respiration et le site d'élevage*

Le facteur "site" n'apparaît pas significatif par rapport aux résultats de cette expérience (seuil de probabilité = 0,24). Il n'y a pas de différence significative au niveau de la respiration selon les sites dans les conditions expérimentales décrites. La moyenne de la respiration varie de 0,978 mg O<sub>2</sub>/h pour le site 11 à 1,008 mg O<sub>2</sub>/h pour le site 7 et 1,078 mg O<sub>2</sub>/h pour le site 15 (fig 15).

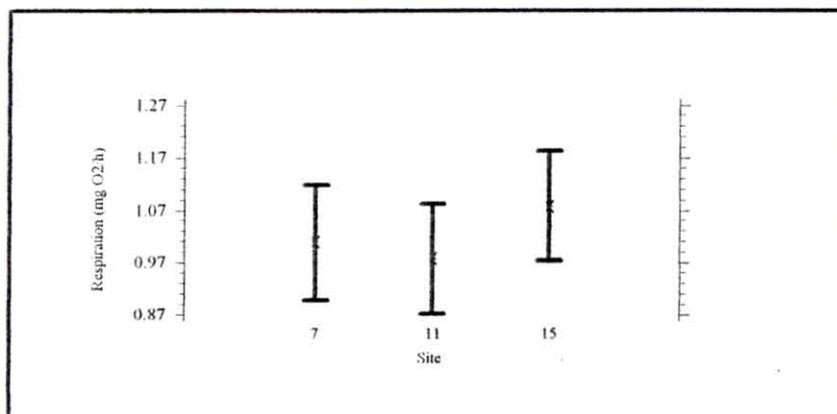


Figure 15: Moyennes et intervalles de confiance de la respiration des huîtres selon le facteur "site"(exp 4).

Tableau 11 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration en fonction du facteur "Site".

Facteur site	Effectif	Respiration moyennes (mg O <sub>2</sub> /h)	Limites hautes de la respiration (mg O <sub>2</sub> /h)	Limites basses de la respiration (mg O <sub>2</sub> /h)
site 7	42	1,008	0,055	0,899
site 11	42	0,978	0,053	0,872
site 15	38	1,078	0,052	0,975

### *Etude des interactions entre les facteurs*

Les interactions [durée de stockage-maturité sexuelle] et [durée de stockage-stress thermique] sont significatives au seuil de 1%. L'interaction [stress thermique-maturité sexuelle] n'apparaît pas significative (tableau 12).

Tableau 12 : Valeurs de probabilité associées aux interactions entre les facteurs principaux de l'analyse.

<i>Les interactions</i>	<i>Valeur de probabilité</i>
[Durée de stockage- Stress thermique]	0,0247
[Durée de stockage- Maturité sexuelle]	0,0184
[Maturité sexuelle- Stress thermique]	0,5767

La respiration des huîtres creuses *C. gigas* varie avec les facteurs stress et maturité sexuelle. Ces deux facteurs évoluent dans le même sens, il n'y a pas d'interaction. Il n'y a pas de différence significative au stade sexuel 1 selon les conditions de stress. Les stades 2 et 3 des modalités "stress" et "non stress" sont significativement différents. Le niveau de respiration des huîtres augmente avec le stress (fig 16, Annexe 5).

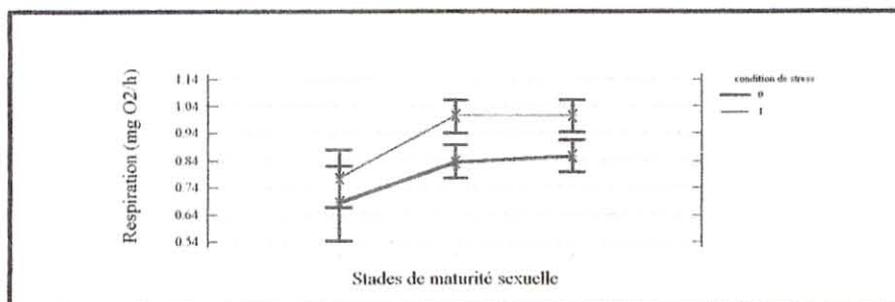


Figure 16 : Respiration en fonction de la maturité sexuelle et de la condition de stress.

L'interaction entre la "durée de stockage" et le "stress" par rapport à la réponse "respiration" est significative au seuil de 5% (0,0247). Les intervalles de confiance font apparaître une différence significative de respiration selon le facteur "stress" pour la modalité de stockage 1 (0,73-0,86 mg O<sub>2</sub>/h pour la modalité "non stress" et 0,95-1,08 mg O<sub>2</sub>/h pour la modalité "stress"). La consommation d'oxygène est plus forte chez les individus stressés. Les différences observées pour la durée de stockage 1 selon le facteur "stress" ne se vérifient pas pour les durées de stockage 2 et 3 (fig 17).

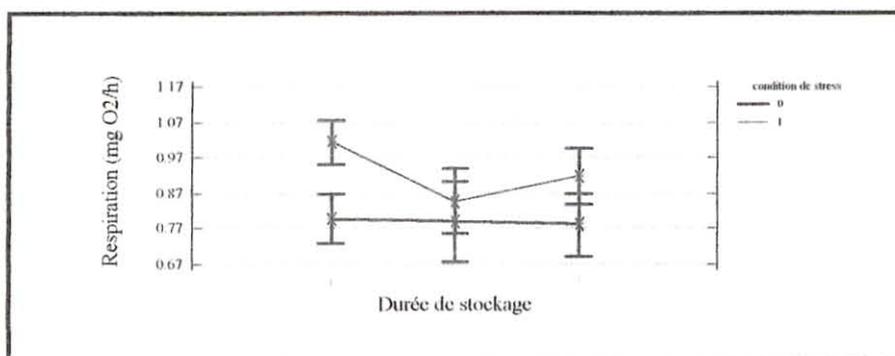


Figure 17 : La respiration par rapport à la condition de stress et à la durée de stockage.

D'après la valeur de probabilité de l'interaction entre la catégorie de stockage et la maturité sexuelle, on observe que la réponse "Respiration" par rapport à la maturité sexuelle subit une variabilité significative au seuil de 5% (valeur de probabilité = 0,0184) induite par le facteur "durée de stockage" (figure 18). Ainsi au stade 1 de la maturité sexuelle, soit pour les huîtres immatures, le niveau de respiration diminue de la durée de stockage 1 (18 à 23 heures) à la durée de stockage 3 (42 à 50 heures) (Annexe 5).

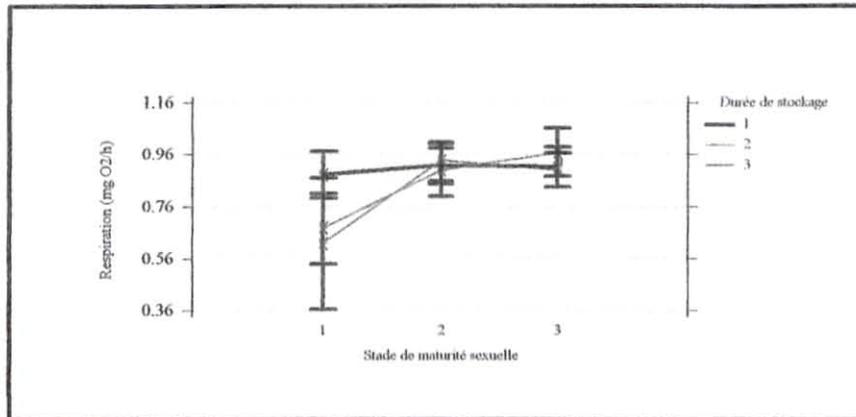


Figure 18 : La respiration par rapport à la maturité sexuelle et à la catégorie de stockage.

Pour les huîtres au stade de maturité sexuelle 2 et 3, le niveau de respiration est supérieur au niveau de respiration des huîtres au stade sexuelle 1, et en durée de stockage 2 et 3. La respiration des huîtres à un stade de maturité avancée ne varie pas avec le facteur durée de stockage (fig 18, annexe 5).

### III 2. Etude de la température intervalvaire

Les mesures : le poids total, le poids de coquille, le poids frais, le poids sec, le volume intervalvaire, la longueur, la largeur et l'épaisseur de l'huître constituent les descripteurs utilisés dans l'élaboration d'un modèle de l'"Inertie thermique". La variable à expliquer est "Inertie40°C".

L'analyse de la régression "pas à pas" montre que le facteur le plus important est le volume intervalvaire (paramètre  $R^2 = 54,7\%$  où R est le coefficient de corrélation). L'ajout du poids sec dans le modèle permet d'améliorer le coefficient de corrélation ( $R^2 = 80,8\%$ ). L'insertion du poids de coquille augmente également la précision du modèle pour arriver à un coefficient de corrélation de  $87,9\%$  (tableau 13).

Tableau 13 : Résultats de l'analyse par régressions multiples pas à pas et de l'analyse de variance des variables constitutives du modèle.

Régression multiple pas à pas	Variabes	Part de variabilité expliquée : $R^2$ (%)	Niveau de probabilité
1 <sup>er</sup> niveau	volume intervalvaire	55	0,0030
2 <sup>eme</sup> niveau	poids sec	25	0,0434
3 <sup>eme</sup> niveau	poids de coquille	8	0,0390

Le modèle linéaire obtenu est le suivant :

$$\text{Inertie}_{40^{\circ}} = 60 + 8,82 \times \text{volume intervalvaire} - 1,28 \times \text{poids de coquille} - 42,76 \times \text{poids sec.}$$

Ce modèle permet d'évaluer le temps nécessaire pour atteindre la température intervalvaire (40 °C) avec un stress thermique analogue au stress étudié selon le **poids frais** (en gramme), le **poids de coquille** (en gramme) et le **volume intervalvaire** (en cm<sup>3</sup>).

### III 3. Etude de l'activité valvaire de l'huître creuse *Crassostrea gigas*

#### *L'activité valvaire et le site*

La représentation de fréquence d'ouverture sur une période définie (63 heures) apparaît sur la figure 19. On observe une différence entre les activités de la population du site 13 et la population du site 14 en comparant des répartitions de fréquence (fig 19 et fig 20.). Il est cependant nécessaire d'approfondir les analyses par un traitement statistique des données.

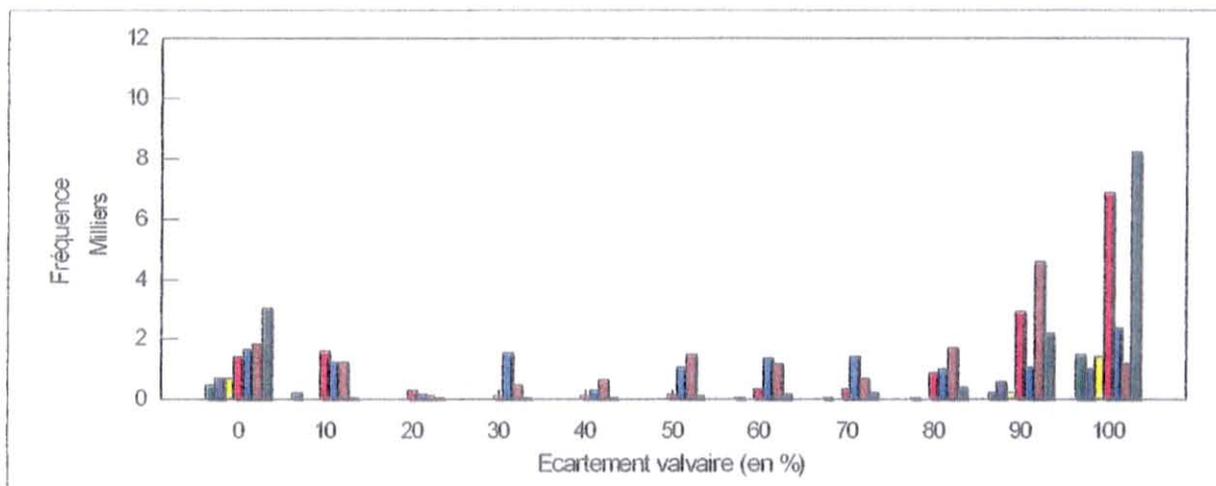


Figure 19 : Répartition de fréquence de l'écartement valvaire de 7 huîtres issues du site 14.

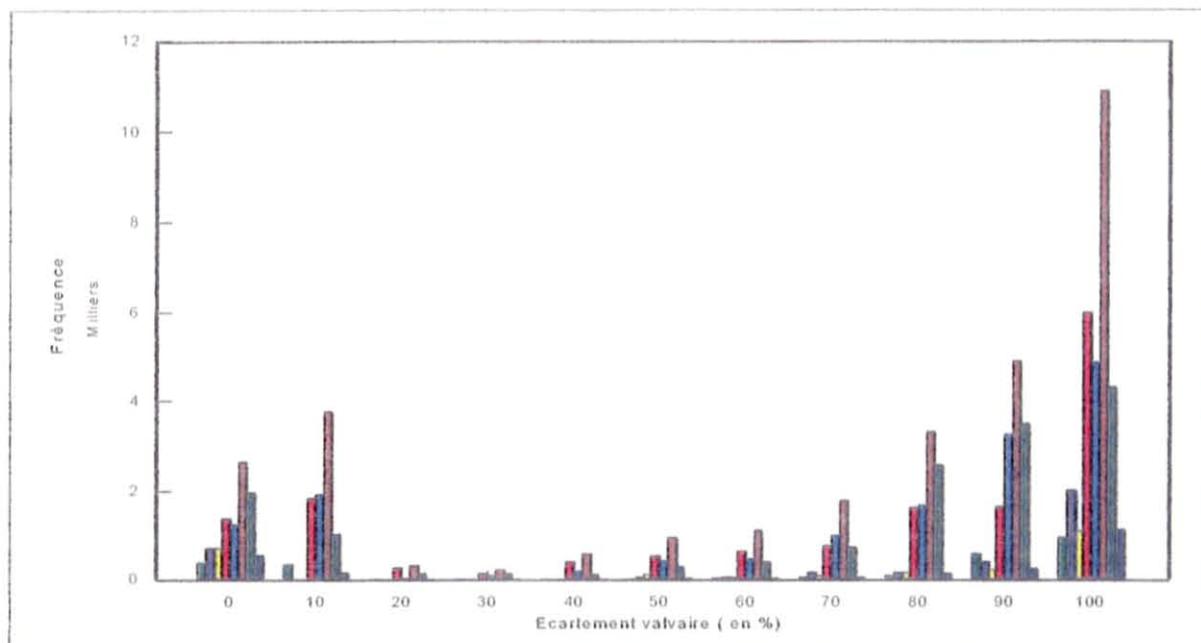


Figure 20 : Répartition de fréquence de l'écartement valvaire d'huîtres issues du site 13.

Le test de rang de Krukall-Wallis entre les distributions de fréquence des huîtres issues du site 13 et celles issues du site 14 montre une différence significative pour l'analyse du test de rang du nombre d'ouverture ( $p=0.02$ ) et du nombre de fermeture ( $p=0.008$ ) (tableau 14).. D'après les valeurs du test de rang, la fréquence d'ouverture et de fermeture des individus du site 13 est supérieure à la fréquence des huîtres issues du site 14. Dans le cadre de cette étude, une différence d'activité valvaire est mise en évidence entre deux populations d'huîtres de même origine mais ayant par la suite connues une histoire environnementale différente.

Tableau 14 : Test de rang et valeur de probabilité du test de Krukall-Wallis liés aux mesures de l'activité valvaire.

Sites	Nombres d'échantillon	Nombre d'ouvertures		Nombre de fermetures	
		Test de rang	Valeur de probabilité	Test de rang	Valeur de probabilité
13	8	11,25	0,02	11,625	0,008
14	8	5,75		5,375	

**DISCUSSION**

## L'acclimatation

L'activité respiratoire du bivalve (*C. gigas*) peut constituer une réponse physiologique indicatrice de la qualité de l'environnement. L'objectif de ces expérimentations est de mesurer la respiration en laboratoire, dans des conditions aussi proches que possible de celles du milieu naturel. Pour ce faire, un bassin reconstitue en laboratoire le rythme des marées. L'aliment des huîtres durant la période de stockage (avant les mesures de respiration), est identique à la ressource alimentaire (matière particulaire en suspension) de la baie de Marennes-Oléron.

Les cycles de mesure ont une capacité maximale de 44 huîtres (capacité maximale de l'infrastructure de mesure). Il est donc nécessaire de faire plusieurs cycles pour obtenir un nombre de répliquats suffisant pour chaque modalité expérimentale. En effet, si le premier cycle de mesures de respiration est effectué dans les 24 heures, période pendant laquelle la réponse des huîtres doit être proche de la réponse obtenue dans le milieu naturel (Widdows *et al.*, 1979), les autres cycles sont effectués dans certaines expérimentations plusieurs heures, voir plus de 24 heures après le premier cycle. Ainsi, malgré des conditions de stockage proches de celles du milieu naturel, un facteur "**durée de stockage**" apparaît dans l'analyse. Ce facteur traduit l'acclimatation des huîtres avant les mesures physiologiques faites sur les bivalves (Bayne, 1976) et sur les huîtres en particulier. Dans le cas de cette étude, le facteur "**durée de stockage**" entre en interaction avec les facteurs "stress" et "maturité sexuelle". En particulier pour la maturité sexuelle, il est important de signaler qu'un début d'acclimatation est noté en moins de 60 heures, uniquement pour les individus immatures. Pour les huîtres, au stade de maturation sexuelle avancé, aucune acclimatation de la respiration n'est perceptible au cours de cette étude.

Les adaptations physiologiques non génétiques sont divisées en 2 catégories :

-Les adaptations immédiates, liées aux changements de température, surviennent pendant les heures qui suivent le prélèvement et jusqu'à 24 heures de conditionnement.

-Les ajustements compensatoires apparaissent après une journée de captivité et sont mesurables jusqu'à plusieurs semaines. Les individus sont alors conditionnés selon des paramètres imposés par la méthode (Bayne *et al.*, 1976).

## Les mesures de respiration

En référence aux récents travaux menés sur les réponses physiologiques de *C. gigas* en période de maturation et de ponte (Soletchnik *et al.*, 1996, 1997), cette étude porte également sur la physiologie de la maturation, mais concerne uniquement la fonction de respiration. A l'inverse de ce qui avait été fait en 1995 et 1996, les huîtres ne sont pas conditionnées en laboratoire sous contrôle de la température et de l'apport alimentaire. Ces 2 paramètres sont donc identiques au milieu naturel et les huîtres sont prélevées sur différents "sites ateliers" d'élevage de *C. gigas* sur le banc ostréicole de Ronce-Perquis (Forest, 1997, sous presse).

Le **stress thermique** appliqué aux huîtres, dans une étuve, juste avant le début des mesures, a une amplitude et une durée comparable à certaines conditions thermiques

réellement rencontrées sur le terrain, sur des parcs à plat, et en particulier sur le banc ostréicole de Ronce - Perquis.

Ainsi, il est clairement démontré que le taux de respiration de *C. gigas* augmente en condition de stress thermique par rapport au huîtres qui ne subissent pas ce stress. Ainsi dans une telle situation environnementale, la demande énergétique de *C. gigas* augmente. L'allocation d'énergie nécessaire pour assurer le métabolisme de base augmente. Ainsi, dans l'équation de Lucas (1982) : Croissance = Absorption - Respiration, il est concevable que dans certaines situations où la fonction d'absorption est faible, la croissance puisse s'annuler voir devenir négative !..... Cette situation est bien évidemment une situation de stress physiologique dans laquelle l'animal peut s'affaiblir, voir mourir...

Le deuxième facteur croisé avec le stress est le **stade de maturation sexuelle** de *C. gigas*. Les mesures physiologiques se sont étalées du 28 avril au 16 juin. Tous les stades de maturité sexuelle se sont ainsi trouvés représentés dans l'étude. L'échelle en 8 niveaux (Soletchnik *et al.*, 1996) a été ramenée à une échelle à 3 niveaux, afin de disposer d'effectifs suffisants pour chaque modalité des analyses de variance. Ainsi, en accord avec les résultats obtenus par Soletchnik *et al.*, (1996), la fonction de respiration est significativement plus forte pour les individus à un stade avancé de la maturation sexuelle (stades 2 et 3), comparativement aux individus au stade "immature".

Ainsi, la demande métabolique de l'huître mesurée ici par consommation d'oxygène augmente-t-elle sous la conjonction des deux facteurs : stress thermique et maturation sexuelle . Ces résultats doivent pouvoir être extrapolés aux huîtres sur les parcs ostréicoles.

### **Effet de la température**

La question de savoir comment l'animal percevait (et éventuellement régulait) les fluctuations thermiques du milieu naturel, a suscité le protocole d'une deuxième partie de l'étude: cinétique de l'évolution de la température dans la cavité palléale de l'huître (situation intra valvaire).

Aucune remarque particulière n'est à faire sur la méthodologie mise en oeuvre. Le même stress tant en intensité qu'en durée, est appliqué aux huîtres. Le modèle d'inertie thermique ainsi obtenu permet de voir que les variables principales sont : le volume inter-valvaire, le poids de coquille et le poids sec de l'huître pour expliquer près de 88 % de l'inertie thermique (modèle prédictif de qualité). Quand on sait que la température est le facteur essentiel qui contrôle le modèle de croissance des bivalves (avec la ressource trophique), on comprend tout l'intérêt que présente la connaissance précise de cette température dans la cavité palléale de l'huître. En fait la "montée en température" est étroitement associée aux caractéristiques biométriques de l'huître. Ainsi, sur la base des résultats de cette étude, une huître de 150 g soumise à une température de 40°C (fréquemment observée sur les élevages à plat, Forest, 1997, sous presse) atteint la température intra valvaire de 40° C en 200 minutes; soit en plus de 3 heures, alors qu'une huître de 14 g atteint cette même température en seulement 37 minutes !...

Sur la base de cette étude, on peut comprendre comment certaines années, des fortes mortalités ont pu être enregistrées sur du naissain ou des juvéniles de moins d'un an. De plus,

par exemple), la montée de température est très faible par rapport au sites peu profonds (site 2).

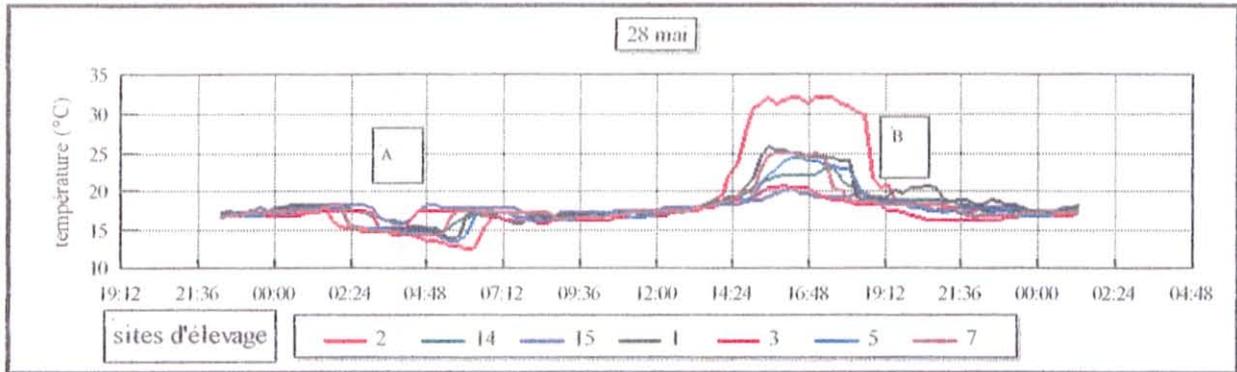


Figure 21 : Exemple de températures enregistrées sur des sites d'élevage à différentes altitudes au niveau du sédiment. A : durant la nuit ; B : durant le jour.

Enfin, le troisième volet de cette étude concerne le **comportement valvaire des huîtres**. Le valvomètre est un appareil de plus en plus employé pour enregistrer le comportement des bivalves, et servir ainsi d'indicateurs biologiques (Floch, 1994; Baud, 1997). Dans le cas de l'étude générale du banc de Ronce-Perquis, un appareil fonctionne en permanence sur un des sites expérimentaux, afin de détecter un éventuel comportement valvaire anormal chez *C. gigas*. Dans le cadre de cette étude, l'objectif était de voir si après plusieurs mois d'élevage sur deux sites différents (14 et 13), et après stress thermique, des différences de comportement valvaire pouvaient apparaître. Une première constatation est de voir que les signaux se ressemblent beaucoup pour des huîtres issues d'une même population, qui ont donc un comportement valvaire proche. Dans le cas de cette étude, l'analyse de la fréquence des mouvements valvaires montre une légère différence selon l'origine des huîtres (site 13 ou 14). Quelle en est la signification ? De gros efforts sont encore à faire dans l'analyse des signaux de valvomètres en provenance du terrain (Floch, 1994).

**CONCLUSION**

Les mortalités chroniques et saisonnières rencontrées dans le sud du Bassin de Marennes-Oléron touchent plus particulièrement les bancs ostréicoles de Ronce les Bains et Perquis. Un programme de suivi des mortalités a donc été développé depuis 1994 afin de mieux comprendre ces phénomènes et tenter de les solutionner.

La température semble être le facteur prépondérant agissant sur les élevages "à plat" (interface eau-sédiment) d'après une étude de 1996. Des températures élevées (environ 50°C) ont été observées sur des parcs ostréicoles. Des tests concernant l'effet de fortes variations de température sur la physiologie de l'huître se sont donc avérés d'un intérêt particulier et constituent le sujet principal de la présente étude.

Une approche écophysiological des huîtres, par l'intermédiaire de la mesure de la respiration a permis de déterminer l'impact d'un stress thermique ( $\Delta T = 28^\circ\text{C}$ ) sur des populations issues de sites ostréicoles d'altitude et de situation géographique différentes. Globalement, un effet significatif de la température a été mis en évidence. Une augmentation de l'activité respiratoire chez les huîtres subissant le stress confirme l'idée de la contribution de facteurs environnementaux dans l'affaiblissement des cheptels. D'autre part, les mesures de respiration de *C. gigas* en fonction de leur stade de maturité sexuelle sont en accord avec les résultats de Soletchnik *et al* (1996). En effet, la respiration augmente avec la maturation sexuelle. Les huîtres matures et de surcroît stressées par le facteur température ont donc une demande métabolique supérieure (mesure de la respiration) qui peut refléter un certain niveau de "détresse physiologique".

Le suivi de l'élévation de température intervalvaire d'huîtres de poids différents a permis de mieux caractériser l'inertie thermique des huîtres par rapport à leurs caractéristiques biométriques. Ainsi le volume intervalvaire, le poids de coquille et le poids sec des huîtres sont les mensurations déterminantes dans la résistance des huîtres à l'élévation de température.

Une approche du comportement valvaire des huîtres a également permis de montrer des différences de distribution de fréquence d'ouverture et de fermeture des deux populations d'huîtres situées sur des parcs différents.

L'utilisation de l'outil valvomètre dans le cadre de cette étude est porteuse de nombreuses informations. Un travail d'acquisition de données valvométriques sur une période prolongée (1 mois minimum) par l'intermédiaire de plusieurs valvomètres *in situ* permettrait de suivre l'activité valvaire des cheptels et détecter d'éventuelles pollutions sur les bancs ostréicoles. Cependant, les données valvométriques, à elles seules, ne suffisent pas pour expliquer un éventuel affaiblissement ou bouleversement métabolique. Par ailleurs, de nombreux efforts restent à faire dans l'analyse des signaux.

Afin d'obtenir plus de précisions sur le métabolisme des huîtres *in situ* face à l'effet du stress thermique ( $\Delta T = 25-28^{\circ}\text{C}$ ), une étude physiologique complète sur le bilan énergétique total pourrait être envisagée. Des mesures des taux de filtration, d'absorption, d'excrétion et de la respiration sur des cheptels d'huîtres soumises au milieu environnemental préciseraient les modifications physiologiques et les adaptations du métabolisme.

**BIBLIOGRAPHIE**

## BIBLIOGRAPHIE

- BAUD J. P., FLEURY P. G. , MAZURIE J.,** 1997. Outils d'appréciation de l'état de santé chez les bivalves. *Présentation orale*. Comité de programme Recherche Aquacole Juin 1997.
- BAYNE B. L.,** 1975. Aspects of physiological condition in *Mytilus edulis*, with special reference to the effects of oxygen tension and salinity. Proceedings of the 9th European Marine Biology Symposium (H. Barnes, ed.). Aberdeen Univ. Press, Scotland. pp. 213-238.
- BAYNE B. L., THOMPSON R. J. & WIDDOWS J.,** 1976. Physiology. In : Marine mussels : their ecology and physiology. Edited by B. L. BAYNE, Cambridge University Press. pp.159-171. -
- BLANDIN P.,** 1986. Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.*, **17**, 215-307.
- BODOY A., GARNIER J., RAZET D., GEAIRON P.,** 1990. Mass mortalities of oysters *Crassostrea gigas* during spring 1988 in the bay of Marennes-Oléron, relates to environmental conditions. *Cons. Inter. Exp. Mer*, ref E+F. 26 p.
- BOUGRIER S., GEAIRON P., DESLOUS-PAOLI J. M. , BACHER C. & JONQUIERES G.,** 1995. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, **134** : 143-145.
- GOYARD E. et collaborateurs,** 1996. Bilan national de la croissance de l'huître creuse de 1993 à 1995. Avril 1996
- FLOCH A.,** 1994. Un capteur biologique original enregistrant les mouvements valvaires des mollusques bivalves. *Thèse Doct. Vét.*, Ecole Nationale vétérinaire de Nantes. 165p.
- FOREST G.,** 1997. Rapport de D. E. S. S., Université de Caen-Rouen. sous presse.
- LABEIM,** 1992. Rapport sur les mortalités d'huîtres observées dans la première semaine du mois de juin 1992, sur le banc de Ronce (commune de La Tremblade). 10 p.+ annexes.
- LAGARDE F.,** 1996. Etude de l'impact des effluents de lagune de la station d'épuration de La Tremblade (17) sur l'huître creuse *C. gigas* adultes et larves.. Rapport de stage (1<sup>ère</sup> année) INTECHMER/IFREMER URAPC. 18 p.
- LE DANTEC J.,** 1968. Ecologie et reproduction de l'huître portugaise (*C. angulata*) dans le bassin d'Arcachon et la rive gauche de la Gironde. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* **32**, 237-262.

- LE MOINE O.**, 1997. Mortalités estivales d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron. In : L'écho des cabanes. Ed : Section régionale conchylicole Marennes-Oléron, 19 : 4-7.
- LODATO M. I.**, 1997. Mortalité estivale de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur les bancs de Ronce et Perquis (Bassin de Marennes-Oléron) : Etude des pratiques culturales et des caractéristiques biologiques et spatiales des élevages. *Thèse Doct. Vét.*, Ecole Nationale vétérinaire de Nantes. 127 p.
- LUCAS A.**, 1982. La nutrition des larves de bivalves. *Oceanis*, 8.: pp 363-368.
- LUCAS A.**, 1993. Bioénergétique cellulaire. In : Bioénergétique des animaux aquatiques. Masson. Paris. P 30.
- MARTEIL L.** 1976. La Conchyliculture française, 2ème partie. Biologie de l'huître et de la moule. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* 40, 149-346.
- MAURER D., COMPS M., HIS H.**, 1986. Caractéristiques des mortalités estivales de l'huître *Crassostrea gigas* dans le bassin d'Arcachon. *Haliotis* 15 , 309-317.
- POPULUS J., LOUBERSAC L., PROU J & GOULLETQUER P.**, 1996. Système d'informations localisées pour la conchyliculture. Note thématique du groupe SILLAGE/TM/04. Mars 1996. 18 p.
- SMALL A. C., WIDDOWS J.**, 1994. The Scope For Growth of bivalves as an Integrated Response Parameter in biological monitoring. In : Biomonitoring of coastal waters and estuaries. Edited by Kees J. M. Kramer, CRC Press : p. 253.
- SOLETCHNIK P., GEAIRON P., RAZET D. & GOULLETQUER P.**, 1996. Physiologie de la maturation et de la ponte chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. RI DRV-96-05-RA/La Tremblade. 27 p.
- SOLETCHNIK P., GEAIRON P., RAZET D., FAURY N. & GOULLETQUER P.**, 1997. Physiologie de la maturation et de la ponte chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. *Aquat. living Resourc.*, 1997, 10. pp 177-185.
- WIDDOWS J., FIETH P., WORRAL C.M.**, 1979. Relationships between seston, available food and feeding activity in the common mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 50 : 195-207.

**ANNEXES**

ANNEXE 1 : Résultats moyens de croissance des huîtres adultes du Réseau REMORA de 1993 à 1995 (Goyard *et al*, 1996).

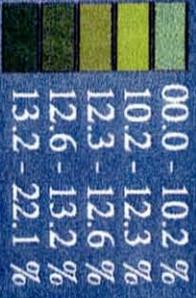
		LONGUEUR		LARGEUR		EPAISSEUR		POIDS		INDICE AFNOR	
		(mm)		(mm)		(mm)		(g)			
Code station	Localisation	Moy.	c.var.	Moy.	c.var.	Moy.	c.var.	Moy.	c.var.	Moy.	c.var.
<b>NORMANDIE</b>											
B. Veys 01	Grandcamp	91.6	10%	51.4	11%	28.7	13%	68.0	21%	11.3	20%
B. Veys 02	Gefosse	90.9	10%	53.9	12%	28.2	13%	73.4	19%	13.3	18%
B. Veys 03	Utah Beach	91.8	9%	54.9	11%	29.8	12%	75.6	17%	17.0	17%
St Vaast 01	Crasville	83.6	9%	46.4	13%	26.7	12%	58.6	17%	10.8	20%
St Vaast 02	Cul de L	87.1	10%	50.4	11%	28.3	13%	61.5	19%	12.1	20%
St Vaast 03	Coulège	85.2	9%	49.9	12%	27.9	12%	63.1	17%	12.9	18%
Côte W. 01	St Germain	84.0	10%	47.3	12%	27.2	14%	54.7	20%	10.8	21%
Côte W. 02	Gouville	88.7	11%	48.6	11%	28.4	12%	63.3	20%	10.5	22%
Côte W. 03	Blairville	87.8	9%	49.7	11%	28.3	11%	62.9	18%	10.6	17%
<b>BRETAGNE NORD</b>											
Cancale 02	Terrelabouet	88.5	11%	45.4	12%	27.6	13%	66.1	20%	10.0	19%
Paimpol 03	Bouiquel	86.6	12%	45.7	12%	27.3	14%	62.5	24%	10.2	25%
Morlaix 02	Pennal Lann	83.4	13%	43.4	12%	27.7	18%	62.6	20%	11.7	23%
Aber Benoit 02	Port du Vil	82.3	11%	46.2	13%	31.1	15%	76.8	23%	15.2	23%
Brest 03	Roscanvel	82.5	11%	46.5	12%	29.8	13%	65.8	20%	12.0	18%
<b>BRETAGNE SUD</b>											
Etel 02	ManeHellec	92.7	13%	53.6	14%	30.6	12%	78.1	25%	9.5	25%
Quiberon 01	Penthievre	83.3	11%	43.8	11%	27.7	12%	58.0	20%	10.5	20%
Quiberon 02	MenerRoue	102.9	13%	52.0	13%	32.1	14%	89.0	27%	11.4	25%
G. Morb 02	Baden	89.8	10%	47.2	11%	28.7	12%	75.0	22%	10.3	19%
Penerf 02	TourParc	88.4	11%	45.2	13%	29.8	14%	70.3	22%	9.6	22%
Pen Bé 02	Chenal	98.7	12%	54.3	12%	33.5	11%	98.9	20%	12.5	17%
<b>VENDEE</b>											
B. Bouin 01	Gri	80.3	10%	47.6	10%	28.0	13%	52.8	18%	7.5	18%
B. Bouin 02	Coupelasse	80.3	9%	48.0	12%	27.0	12%	54.1	18%	7.5	19%
B. Bouin 03	Moutiers	78.8	9%	46.3	11%	27.0	13%	53.3	18%	7.3	21%
B. Bouin 04	Gresseloup	84.8	11%	48.8	10%	27.5	14%	58.4	19%	7.3	18%
<b>RE &amp; MARENNES OLERON</b>											
Ré 01	Ars	89.3	11%	49.8	12%	28.1	13%	69.4	19%	10.2	19%
Ré 02	Fosse	86.3	10%	48.6	10%	28.2	14%	61.7	21%	8.3	21%
Ré 03	Martray	84.8	10%	47.4	11%	28.2	15%	57.1	20%	8.9	22%
Fouras	Fouras	84.7	10%	49.3	11%	28.6	13%	65.9	21%	8.4	22%
Marennes 01	Les Doux	81.2	12%	45.9	12%	25.1	17%	59.1	21%	8.0	21%
Marennes 02	Mortanne	83.2	11%	47.9	12%	27.6	13%	54.4	23%	9.5	23%
Marennes 03	D'Agnas	79.7	13%	44.5	12%	26.1	13%	56.7	19%	8.5	20%
Marennes 04	Bourgeois	82.8	10%	46.5	11%	27.2	12%	54.9	20%	9.0	22%
Marennes 05	Ronce	83.5	11%	46.5	11%	28.8	14%	65.0	20%	11.4	20%
<b>ARCACHON</b>											
Cap Ferret		91.8	11%	51.2	11%	28.9	11%	69.4	20%	8.8	18%
Jacquets		83.7	11%	46.2	11%	27.4	12%	60.3	21%	7.9	22%
Tès		87.7	10%	47.4	11%	27.7	13%	67.4	20%	8.6	20%
<b>ETANG DE THAU</b>											
Thau 01	Sète	103.7	11%	61.0	13%	38.1	18%	122.2	39%	11.4	22%
Thau 02	Bouzique	101.5	9%	60.1	12%	35.2	14%	114.8	19%	10.5	23%
Thau 03	Marseillan	97.2	15%	58.3	14%	34.5	20%	99.7	28%	16.2	32%
<b>FRANCE MOYENNE</b>											
		86.3		48.6		28.5		63.1		9.8	

L'abréviation Moy. signifie « Moyenne » : cette moyenne est calculée sur 30 individus échantillonnés au hasard.

L'abréviation C.Var. signifie « Coefficient de variation » : il s'agit ici de la moyenne des 3 coefficients de variation observés chaque année.

# ANNEXE 2

## Diminution (%) du temps d'immersion des concessions ostreicoles pour une elevation de 50 cm de la bathymetrie



1:20000

**ANNEXE 2 b : Méthode de mesure des pigments chlorophylliens : chlorophylle *a* et phéophytine *a*. (D'après Les Notes Techniques de L'URAPC, 1996).**

Le dosage en routine des pigments chlorophylliens est effectué au laboratoire depuis plusieurs années grâce au fluorimètre TURNER selon le protocole de Neveu (1973). Cette méthode a été préférée à la méthode spectrophotométrique de Lorenzen (1967) qui nécessite de filtrer d'importants volumes d'eau. La méthode fluorimétrique (Yentch et Menzel, 1963) permet des mesures rapides et précises. Sa sensibilité permet d'éviter la filtration de volumes importants d'échantillons. 50 à 100 cc d'eau de mer suffisent.

L'étalonnage est réalisé à l'aide d'une solution acétonique riche en chlorophylle *a* dont la concentration est tout d'abord déterminée par mesures spectrophotométriques. Elle va permettre ensuite de déduire les constantes du fluorimètre.

Il convient d'étalonner l'appareil à chaque nouvelle série de mesures afin de déterminer les constantes de celui-ci. En effet, les sources lumineuses ont une durée de vie courte (1 000 h). Leur énergie diminue avec le temps.

**Préparation de la solution mère de pigments chlorophylliens. Dosages spectrophotométriques**

- Filtrer une quantité d'eau de mer (préalablement préfiltrée à 250  $\mu$ ) sur filtre en fibre de verre type *Whatman GFC* de 47 mm de diamètre. **Le volume doit être suffisant pour obtenir une densité optique à 665 nm comprise entre 0,300 et 0,400 en raison de la perte de linéarité entre concentration et fluorescence.**

- Broyer le filtre dans un mortier avec du sable de Fontainebleau et un volume précis d'acétone à 90 % (25 à 50 cc).

- Recueillir le soluté ainsi obtenu dans un tube à centrifuger et boucher

- Laisser extraire 4 heures au réfrigérateur

- Centrifuger à 3 000 g pendant 15 minutes

- Lire la densité optique à 665 nm et à 750 nm avec une cuve à faces parallèles de 50 mm de chemin optique (volume de l'étalon > 15 cc).

La solution acétonique de pigments chlorophylliens ainsi obtenue permet de déterminer de manière très précise, grâce à la loi de Lorenzen, la concentration en chlorophylle *a* et phéopigments (phéophytine *a*) (Neveu, 1973) :

$$[\text{Chl}a] = 26,7 \cdot (\text{DO } 665\text{av} - \text{DO } 665\text{ap}) / L$$

$$[\text{Phéo}a] = 26,7 \cdot (1,7 \cdot \text{DO } 665\text{ap} - \text{DO } 665\text{av}) / L$$

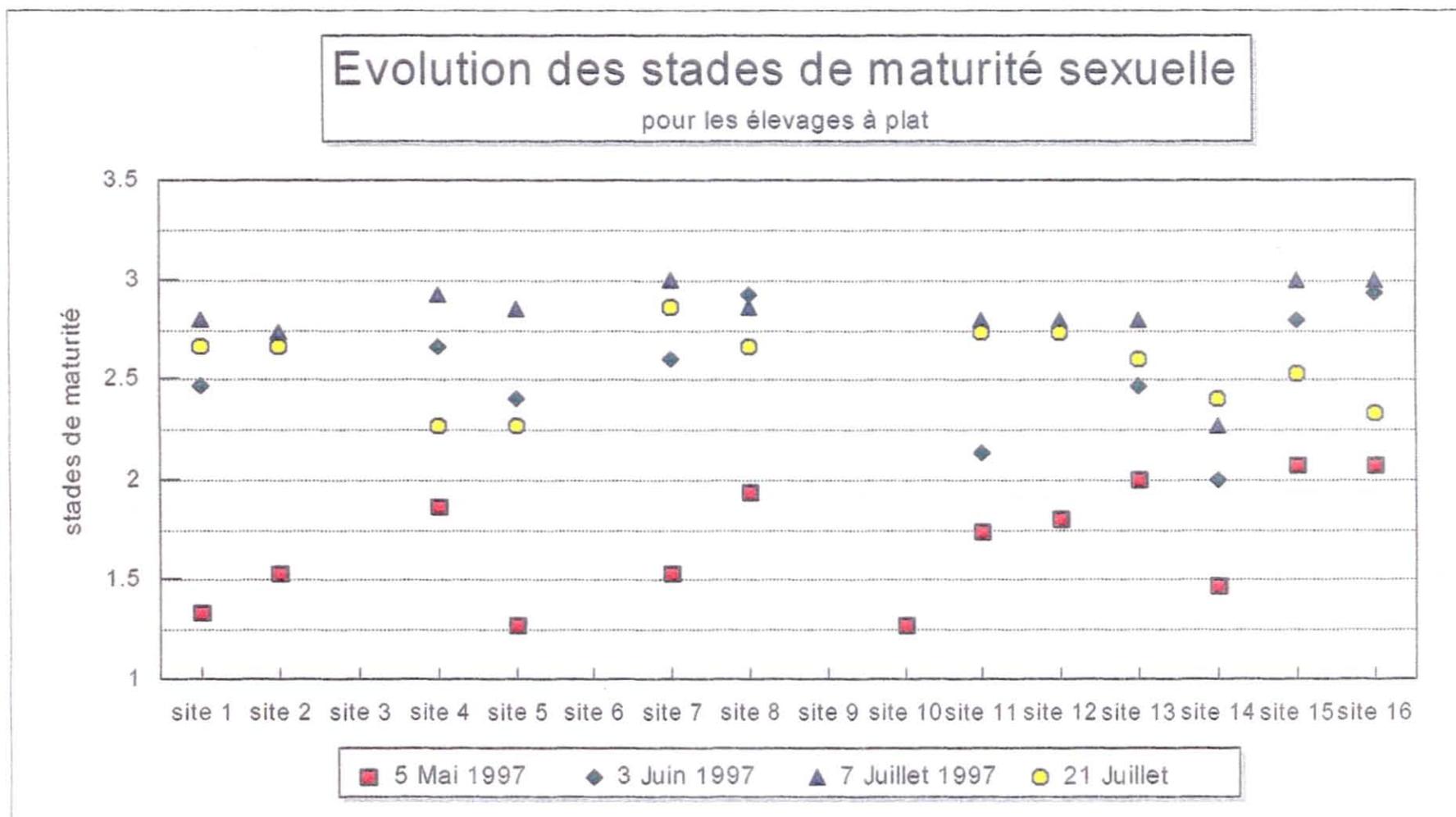
*L* = chemin optique

*DO 665 av* = (densité optique à 665 nm) - (la turbidité à 750 nm)

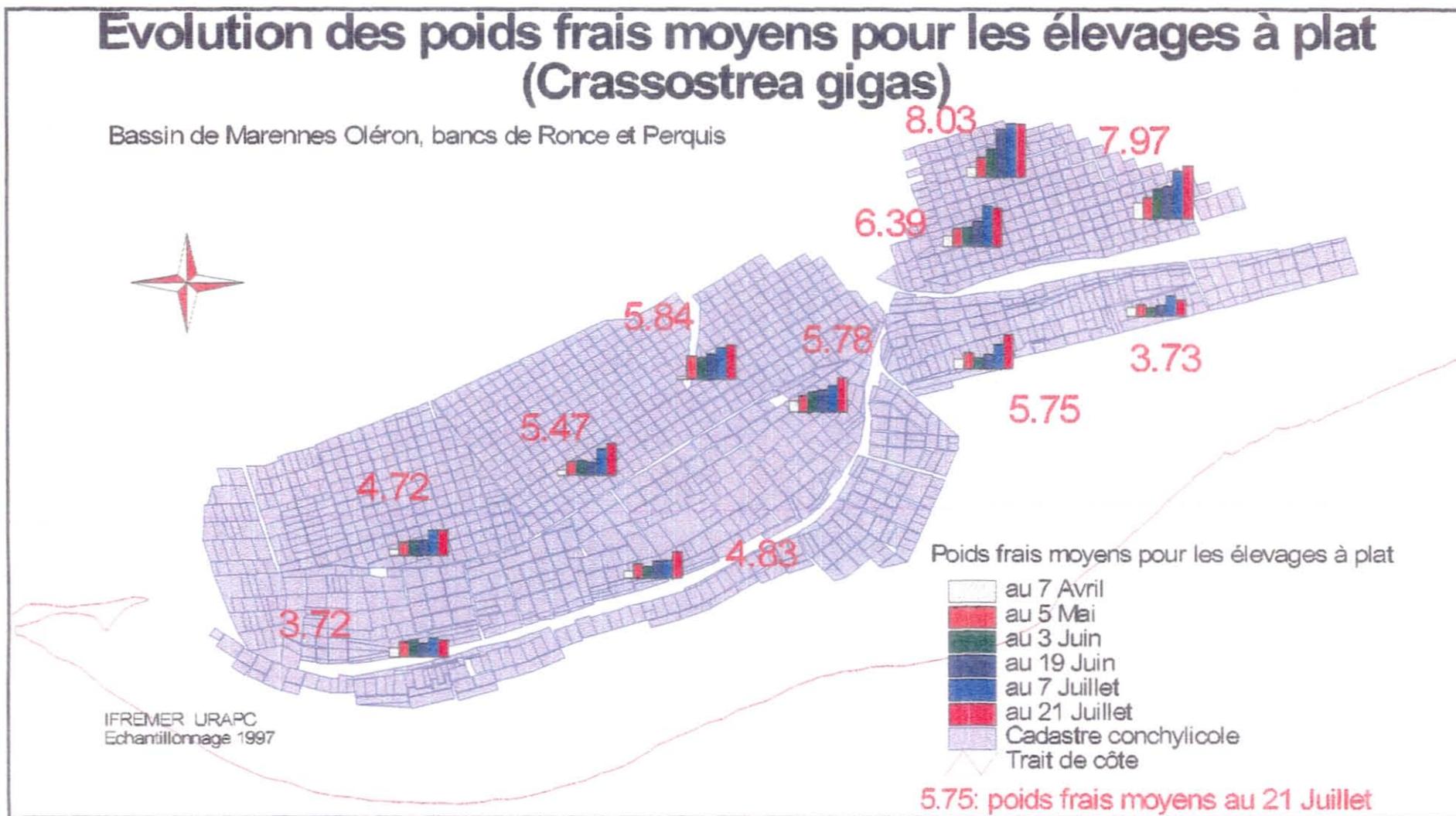
*DO 665 ap* = (densité optique à 665 nm) - (la turbidité à 750 nm après acidification par 100  $\mu$ l d'HCl 1N)

Les résultats sont exprimés en  $\mu$ g de Chlorophylle *a* ou  $\mu$ g de Phéophytine *a* par cc (centimètre cube) d'acétone.

ANNEXE 3 : Résultats moyens des stades de maturation sexuelle sur les différents sites expérimentaux de mai 1997 à juillet 1997. (Forest, sous presse).



ANNEXE 4 : Résultats du programme "Suivi de Mortalité 1997 sur les bancs ostréicoles de Ronce les bains et Perquis"  
 (d'après Forest, sous presse).



**ANNEXE 5: Moyennes et intervalles de confiance de la respiration des huîtres selon les facteurs croisés.**

<b>Facteurs/Modalités</b>	<b>Effectifs</b>	<b>Respiration moyenne (mg O<sub>2</sub>/h)</b>	<b>Limites basses de respiration (mg O<sub>2</sub>/h)</b>	<b>Limites hautes de respiration (mg O<sub>2</sub>/h)</b>
<i>[durées de stockage - maturité sexuelle]</i>				
1 - 1	37	0.8861	0.7950	0.9771
1 - 2	53	0.9199	0.8507	0.9891
1 - 3	39	0.9161	0.8374	0.9947
2 - 1	3	0.6211	0.3670	0.8753
2 - 2	40	0.9359	0.8632	1.0087
2 - 3	77	0.9012	0.8360	0.9663
3 - 1	11	0.6781	0.5435	0.8128
3 - 2	17	0.9012	0.7982	1.0042
3 - 3	29	0.9706	0.8755	1.0657
<i>[durées de stokage - stress]</i>				
1 - 0	59	0.7993	0.7308	0.8679
1 - 1	70	1.0154	0.9533	1.0775
2 - 0	60	0.7912	0.6779	0.9044
2 - 1	60	0.8477	0.7560	0.9393
3 - 0	26	0.7817	0.6932	0.8703
3 - 1	31	0.9182	0.8379	0.9986
<i>[maturité sexuelle - stress]</i>				
1 - 0	18	0.7836	0.5466	0.8206
1 - 1	33	0.7733	0.6668	0.8797
2 - 0	57	0.8339	0.7727	0.8952
2 - 1	53	1.0041	0.9435	1.0648
3 - 0	70	0.8547	0.7966	0.9129
3 - 1	75	1.0038	0.9450	1.0626