

Analyse des lots d'huîtres
du groupe de travail
"POUSSE EN CLAIRES"
TAUX DE GLYCOGENE

P. Gouletquer & P. Geairon & P. Gras
IFREMER-GAP
Unité de Recherche Aquacole en Poitou-Charentes
(Mai 1996)



Analyse des lots d'huîtres
du groupe de travail
"POUSSE EN CLAIRES"
TAUX DE GLYCOGENE

1. Introduction

Dans le cadre du groupe de travail "Huîtres Pousses en claires", initié par la Section Régionale ostréicole de Marennes-Oléron, le CREEA et l'IFREMER participent à la caractérisation de différents lots d'huîtres provenant d'exploitations professionnelles. La première partie concernant les caractéristiques biométriques des lots a fait l'objet d'un rapport du CREEA intitulé 'Echantillonnage des lots d'huîtres du groupe pousse en claires' (février 1996).

L'objet du présent rapport est de préciser les caractéristiques biochimiques (i.e., taux de glycogène) des lots d'huîtres ayant préalablement fait l'objet du travail du CREEA. Le sous produit de l'analyse consiste à vérifier si le critère 'taux de glycogène' est discriminant vis à vis de produits commercialisés de même taille et d'établir des relations entre les différents descripteurs des lots.

2. Matériels et Méthodes

L'ensemble des lots contenant 30 huîtres par lot a été fourni par le CREEA en février 1996 sous une forme congelée.

Une lyophilisation individuelle des huîtres a été effectuée pendant une durée de 36h afin d'assurer une déshydratation totale. La durée de lyophilisation a été rallongée du fait de la taille des individus. Les huîtres ont été par la suite pesées au 1/100^e de mg au moyen d'une balance SARTORIUS.

Le paramètre "poids sec de chair" permet de calculer par la suite l'indice de condition de Lawrence et Scott (1982) considéré généralement comme plus précis que l'indice de qualité AFNOR. Cet indice est calculé selon la formule suivante :

$$(\text{Poids sec de chair} * 10^3) / (\text{Poids total} - \text{Poids de coquille})$$

La chair sèche est finement broyée au broyeur à bille pendant une durée de 30mn. Un aliquote d'environ 10mg est utilisé pour l'analyse du glycogène qui est réalisée selon la méthode de Dubois *et al.* (1956). Cette méthodologie, basée sur un principe colorimétrique, fait intervenir du phénol en présence d'acide sulfurique concentré afin d'estimer les microquantités d'oses et dérivés (osides, polyholosides). Les résultats sont exprimés en équivalent glucose (Annexe 1).

Les résultats sont comparés de façon relative avec les observations en teneur de glycogène provenant des différents réseaux IFREMER et en particulier des suivis de croissance réalisés sur Marennes-Oléron.

3. Résultats

3.1 Poids Sec de Chair

L'ensemble des résultats est présenté sur le tableau N°1 et la figure N°1. Des classes de poids ont été définies arbitrairement en fonction de la variabilité totale observée. L'intervalle de chaque classe est de 0,6g. La classe N°1 comprend donc les animaux pesant de 0,1 à 0,6g, la classe N°2 de 0,6 à 1,2g et ainsi de suite (Figure 1).

Le poids sec moyen est de 2,42 g avec un écart-type exprimant la variabilité de 1,24. On notera que le poids sec de chair varie de 1,5 g du lot N°4 à 4,51 g pour le lot N°7. Cette variabilité inter-lot est par conséquent particulièrement importante. Globalement, deux lots (N°2 & 7) sont significativement supérieurs aux autres lots avec des poids respectifs de 3,45 et 4,51 g. Le coefficient de variation défini comme σ/X (i.e., rapport de l'écart type sur la moyenne) varie de 0,5 (lot 1) à 0,2 (lots 4, 5, 7). La variabilité relative la plus élevée concerne les lots 1 et 6. Les lots N°4 et 5 sont particulièrement homogènes en poids de chair, avec 60% des individus pesant entre 1,8 et 2,4 g pour le lot 5. La variabilité interpolât reste globalement supérieure à celle observée en intra-lot.

3.2 Indice de Condition

L'ensemble des résultats est présenté sur le tableau N°2 et la figure N°2. La fréquence de distribution des classes d'indice est calculé avec un intervalle de 17 (i.e., classe 1 de 0 à 17 ; classe 2 de 17 à 34). L'indice moyen sur l'ensemble des lots est de 81,5 (ET=34,2). Ces résultats permettent de mettre à nouveau en évidence les lots 2 et 7 dont l'indice moyen est respectivement de 120 et 131. Les 5 autres lots restent dans une gamme relativement homogène avec un indice variant de 59 à 70. On notera que cet indice reste plus discriminant que l'indice de qualité AFNOR atteignant 11,04, 16,85, 12,46, 12,69, 14,22, 12,5 et 19,2 pour les lots 1 à 7.

3.3 Taux de Glycogène de la Chair

La figure N°3 présente la moyenne du taux de glycogène ainsi que la variabilité observée au sein de chaque lot. Les cinq lots préalablement décrits montrent des taux variant entre 8,2% et 12,8% de glycogène. Les lots 2 et 7, dont les poids sec moyens sont significativement supérieurs, atteignent des taux remarquables de 19,5 et 21,3% de glycogène. Compte tenu de ces résultats, nous pouvons mettre en évidence une relation linéaire hautement significative entre le taux de glycogène et le poids sec de chair de l'huître ($Y=3,23+3,894*X$; $F=85,76$; $P<0,0001$). Le coefficient de corrélation de 0,75 permet d'expliquer 56% de la variabilité observée sur l'ensemble des observations (Figure 4). De façon similaire, une régression entre le taux de glycogène et l'indice de condition de Lawrence et Scott (1982) permet de définir la relation hautement significative $y=0,308+0,155*X$ avec $F=94,59$ et $P<0,0001$ ($R^2=58,2$) (Figure 5). Par conséquent, le taux de glycogène au niveau des lots d'huîtres analysés est directement proportionnel à l'engraissement de celles-ci.

En l'occurrence, une analyse de variance sur les 7 lots permet de comparer statistiquement leur variabilité (Figure 6). Une comparaison multiple des moyennes de taux de glycogène selon le test de Knewman-Keuls permet de distinguer 3 groupes homogènes :

groupe 1 = lots 1, 4, 6, 3

groupe 2 = lots 4, 6, 3, 5

groupe 3 = lots 2, 7

Tableau N°1: Poids sec de chair individuel des huîtres "Pousse en claires".

Huître (N°)	LOT (N°)						
	1	2	3	4	5	6	7
1	1.072	4.956	1.949	1.868	1.479	1.59	3.574
2	2.229	2.074	2.687	2.083	1.559	1.308	5.595
3	1.088	3.073	2.161	0.806	1.65	1.088	4.395
4	1.96	4.108	1.09	1.885	1.979	2.925	3.906
5	3.762	3.874	2.378	1.454	1.953	1.45	1.725
6	3.65	2.649	1.914	1.912	1.335	1.892	4.648
7	1.354	4.171	1.692	0.982	1.523	1.962	4.875
8	4.203	3.827	1.529	1.719	1.582	1.191	4.866
9	2.765	4	1.579	1.497	2.322	1.745	5.551
10	1.339	2.884	1.922	2.11	1.378	1.25	3.7
11	0.666	3.142	2.104	1.347	1.99	1.327	5.866
12	0.844	1.49	1.598	1.684	2.34	1.522	4.161
13	1.444	4.616	1.447	1.506	2.32	1.587	3.695
14	3.111	3.609	1.915	1.379	2.468	3.407	4.011
15	1.79	2.036	1.127	0.933	1.628	3.646	4.823
16	1.515	3.982	1.795	1.407	2.303	1.386	4.498
17	1.315	3.443	2.587	2.162	1.984	1.174	5.035
18	2.259	3.853	1.986	1.139	1.696	1.46	4.447
19	1.298	3.054	2.496	1.586	2.362	1.589	4.776
20	2.737	2.974	1.96	1.76	1.899	1.322	5.522
21	1.257	2.763	1.147	1.384	1.829	1.958	4.982
22	0.967	2.626	1.786	2.083	1.802	1.547	3.966
23	2.261	4.09	2.063	1.065	1.88	1.764	3.513
24	1.555	5.057	1.329	1.19	1.866	1.668	3.28
25	1.282	4.215	2.975	1.415	2.201	1.827	5.237
26	2.181	4.733	1.282	1.298	2.228	1.329	5.201
27	2.887	2.893	2.453	1.474	2.634	1.067	5.905
28	2.785	3.007	1.539	1.511	2.056	1.7	3.98
29	2.11	2.695	2.094	1.149	1.96	0.997	5.39
30	1.062	3.569	2.284	1.298	2.747	1.206	4.248

LOT (N°)	1	2	3	4	5	6	7
Moyenne	1.96	3.45	1.8956	1.5	1.96	1.66	4.51
Ecart type	0.93	0.88	0.48	0.36	0.37	0.63	0.9

Fréquence de distribution des poids sec de chair

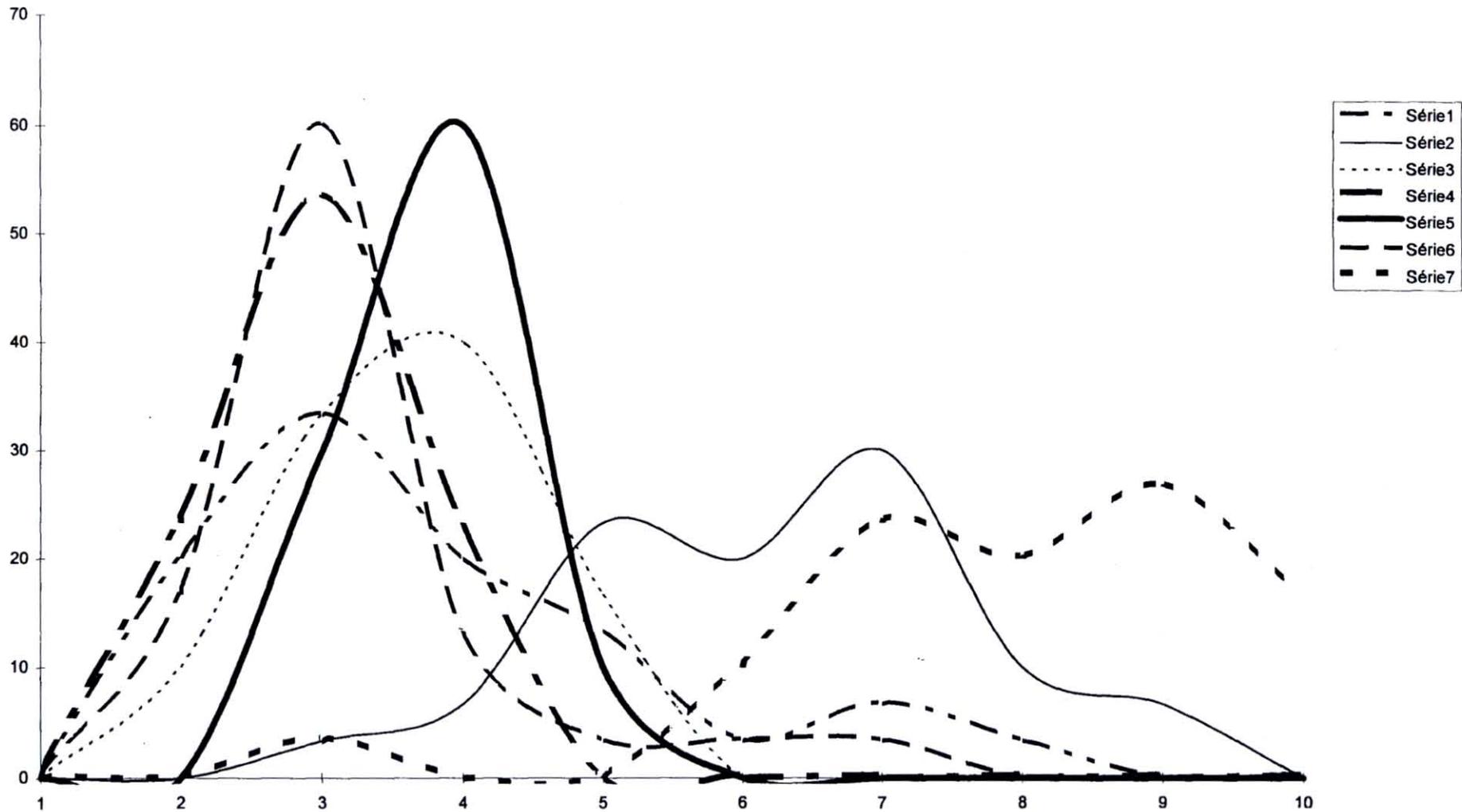


Figure 1: Fréquence de distribution (%) des poids secs de chair des huîtres "Pousse en claires" en fonction des lots (séries 1à 7) (Classe 1 : 0,1g à 0,6g ; Classe 2 : 0,6g à 1,2g...).

Tableau N°2: Indice de condition individuel des huîtres "Pousse en claires" selon Lawrence et Scott (1982).

INDICE DE CONDITION DE LAWRENCE & SCOTT (1982)							
HUITRE (N°)	LOT (N°)						
	1	2	3	4	5	6	7
1	57.02	157.83	57.16	66.01	59.16	55.02	116.04
2	60.90	84.31	72.62	64.09	59.05	48.99	130.72
3	47.51	119.11	48.78	41.55	55.37	42.83	102.45
4	70.25	158.61	28.02	77.89	89.95	87.57	122.45
5	111.96	127.43	91.81	59.59	56.28	61.70	70.70
6	89.68	95.29	67.16	77.72	62.97	73.91	146.62
7	49.42	132.41	48.21	35.45	51.11	67.42	133.56
8	127.36	154.94	46.90	63.67	65.64	45.29	139.43
9	83.28	130.72	41.34	65.09	80.63	79.32	140.18
10	46.98	114.44	60.63	99.06	56.94	45.45	149.80
11	28.46	89.77	80.00	49.52	73.43	56.23	141.69
12	56.27	65.93	55.49	70.17	85.40	62.38	122.38
13	57.99	144.70	49.73	68.45	66.10	74.16	103.79
14	86.90	132.20	63.62	46.12	78.10	115.88	111.42
15	60.68	99.32	36.01	35.21	85.24	123.59	109.61
16	40.95	104.79	43.25	66.06	70.64	56.11	133.47
17	60.32	126.58	73.08	86.14	61.61	42.54	141.83
18	62.75	117.11	112.20	61.90	63.05	60.83	142.53
19	59.00	101.80	70.91	70.49	63.49	55.75	143.42
20	84.22	128.19	70.00	66.17	67.34	51.04	148.84
21	43.34	115.61	39.55	46.29	73.75	63.78	161.23
22	38.22	118.29	61.16	132.68	56.14	49.27	130.46
23	76.13	107.63	44.56	38.73	71.76	59.39	132.07
24	74.40	154.65	42.06	47.60	69.37	73.81	134.43
25	51.69	149.47	56.88	56.60	85.31	64.11	121.79
26	74.95	135.23	47.31	50.51	87.72	52.53	161.52
27	107.32	117.60	84.30	57.58	80.30	48.50	134.51
28	79.12	102.28	45.67	65.13	67.63	56.29	138.68
29	50.36	87.22	66.90	45.96	61.44	42.43	140.00
30	40.38	128.84	58.41	54.08	99.53	54.82	133.58
Moyenne	65.93	120.08	58.79	62.18	70.15	62.36	131.31
Ecart-type	23.43	22.81	18.42	20.22	12.20	19.56	18.77

Fréquence de distribution des Indices de Condition (L&S)

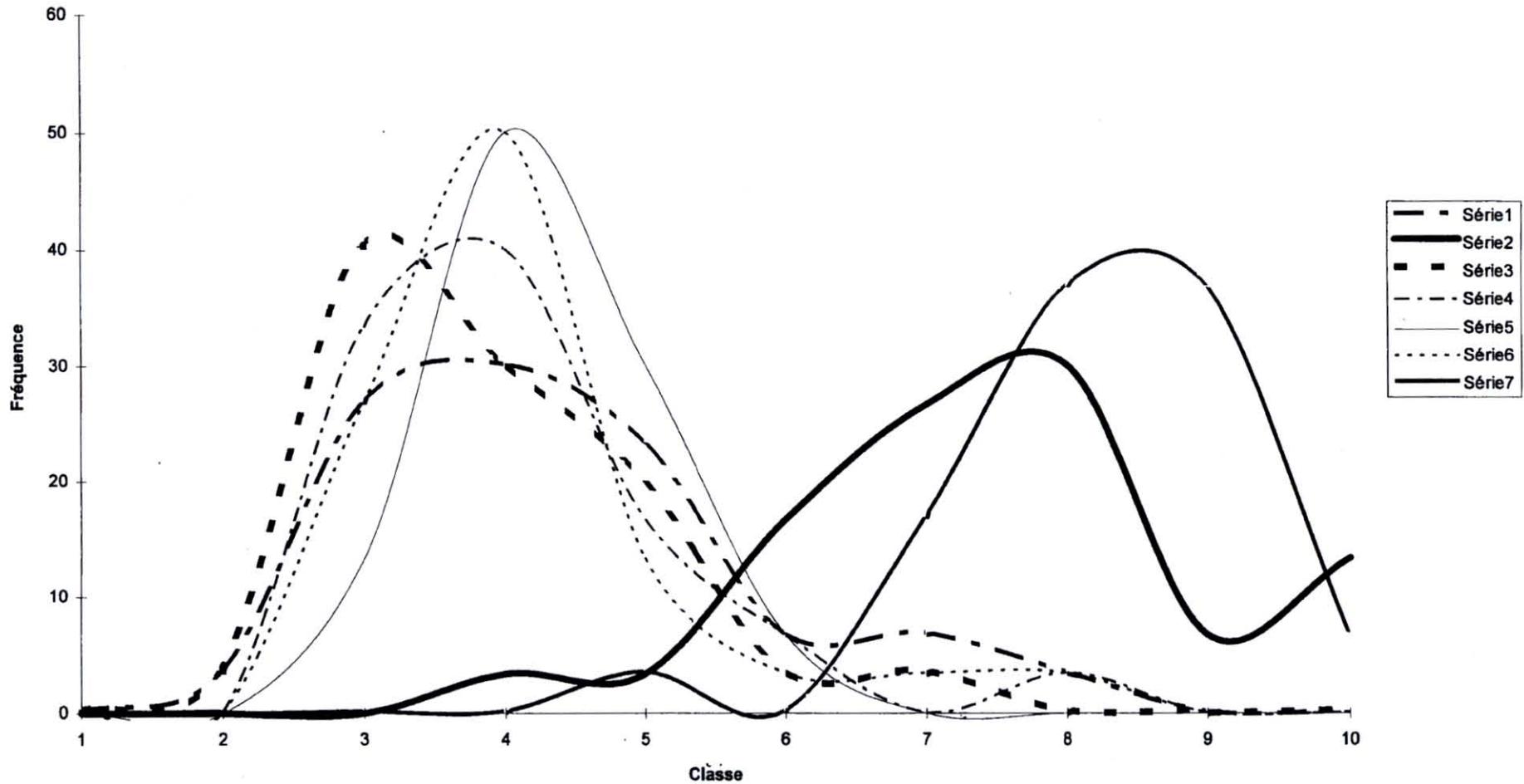


Figure 2: Fréquence de distribution des indices de condition calculés selon Lawrence et Scott (1982) des huîtres "Pousse en claires" en fonction des lots (séries 1 à 7) (Classe 1 : 0 à 17 ; Classe 2 : 17 à 34.....).

Taux de Glycogène (%) et Variabilité

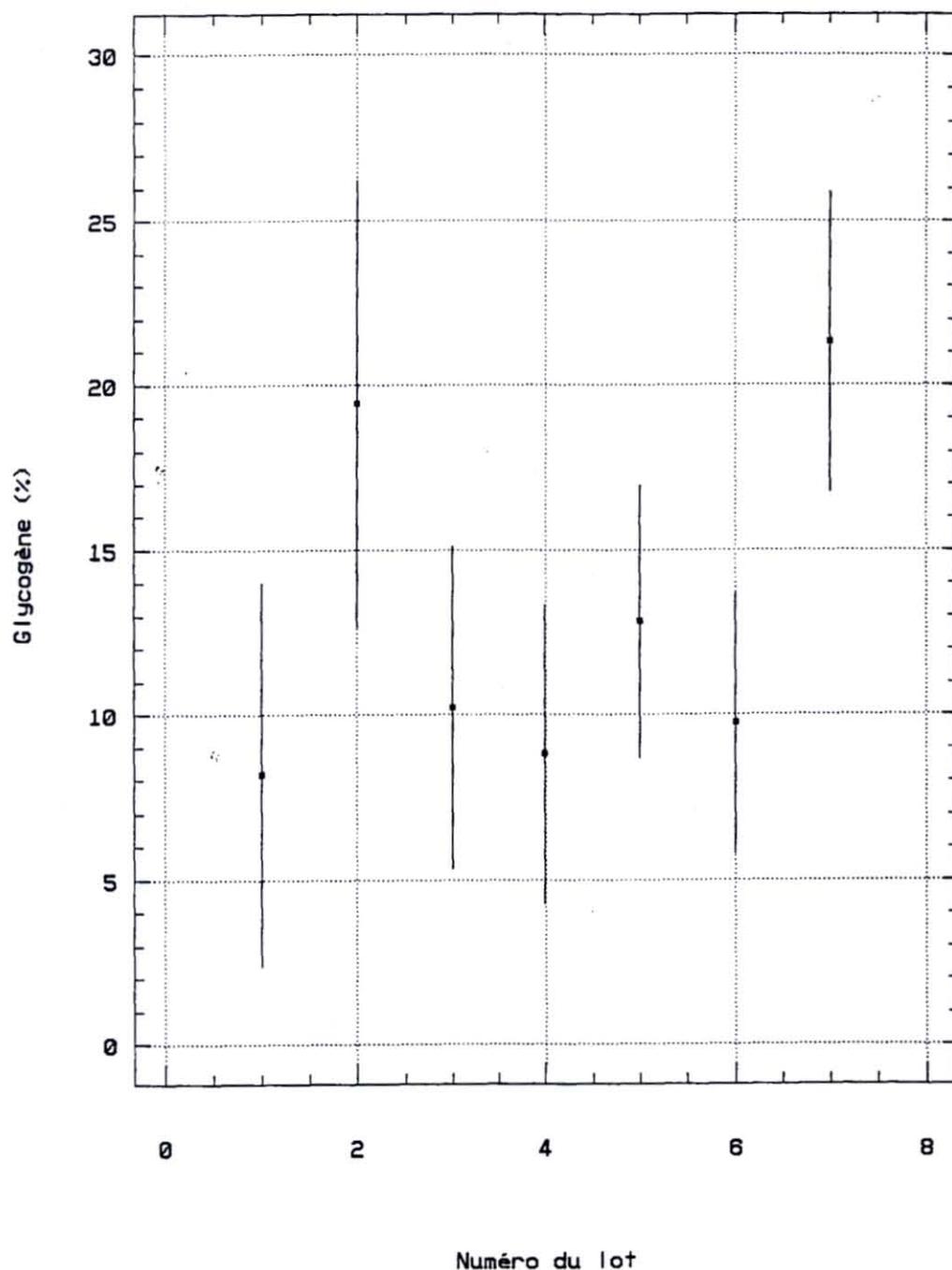


Figure 3: Moyenne et écart-type des concentrations (%) en glycogène dans la chair des huîtres "Pousse en claires" en fonction des lots (Numéro de 1 à 7).

Régression entre le taux de glycogène et le poids sec de chair

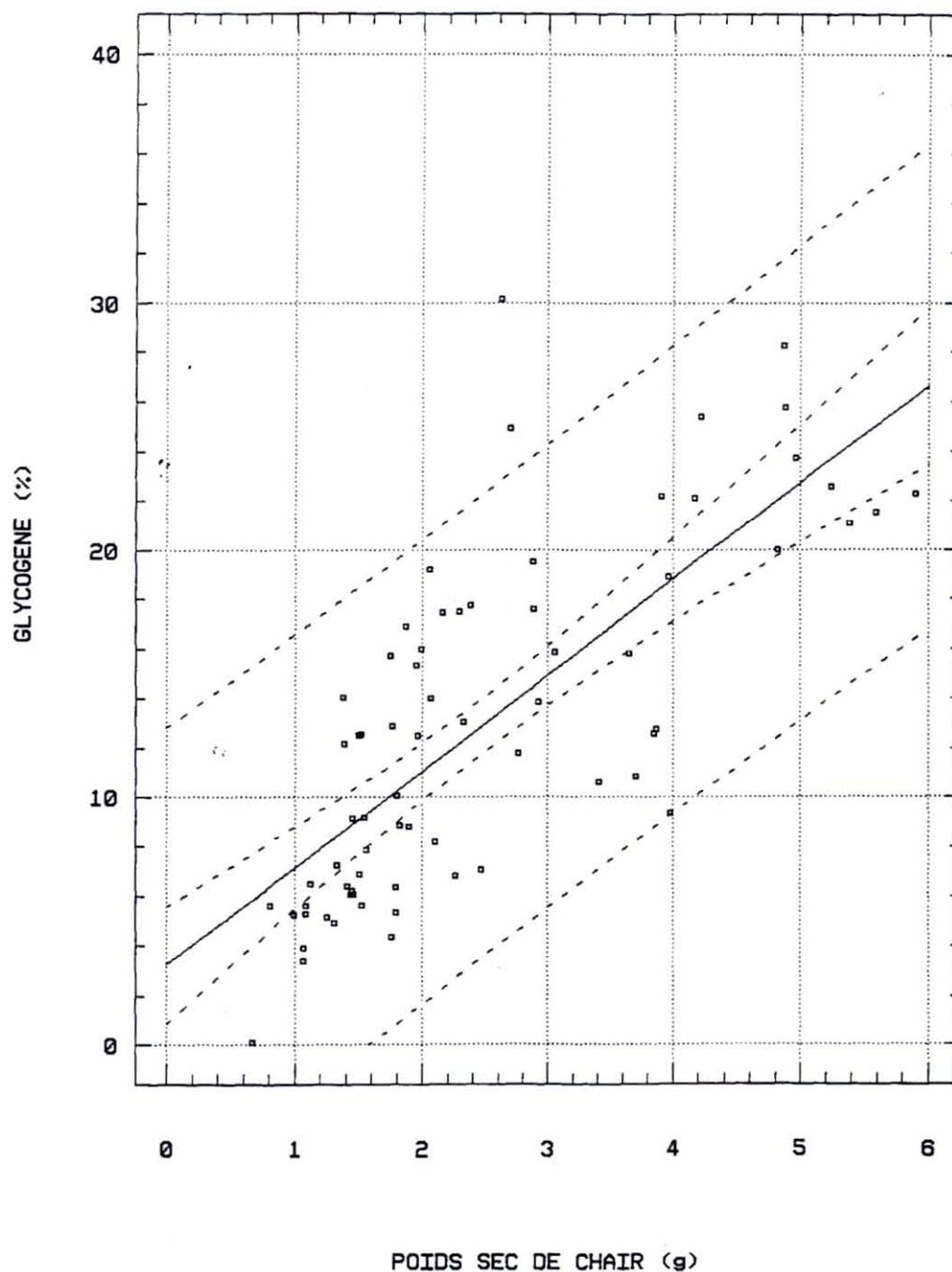


Figure 4: Calcul de la régression linéaire de la concentration en glycogène dans la chair en fonction de l'engraissement de l'huître.

Régression entre le taux de glycogène et l'indice de condition de L & S

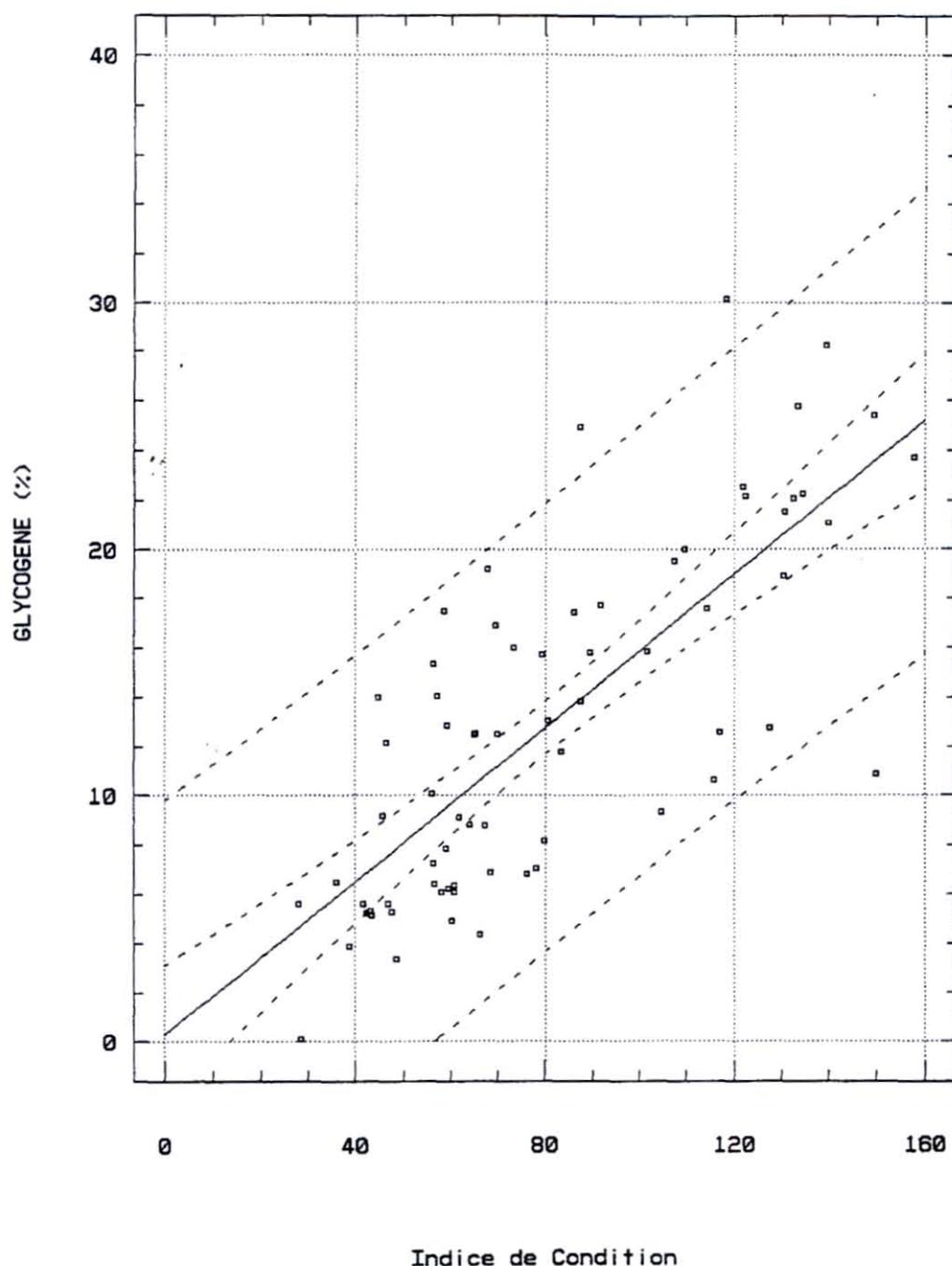


Figure 5: Calcul de la régression linéaire de la concentration en glycogène dans la chair en fonction de l'indice de condition (L&S) de l'huître.

Analyse de la variance

Intervalle de confiance des moyennes

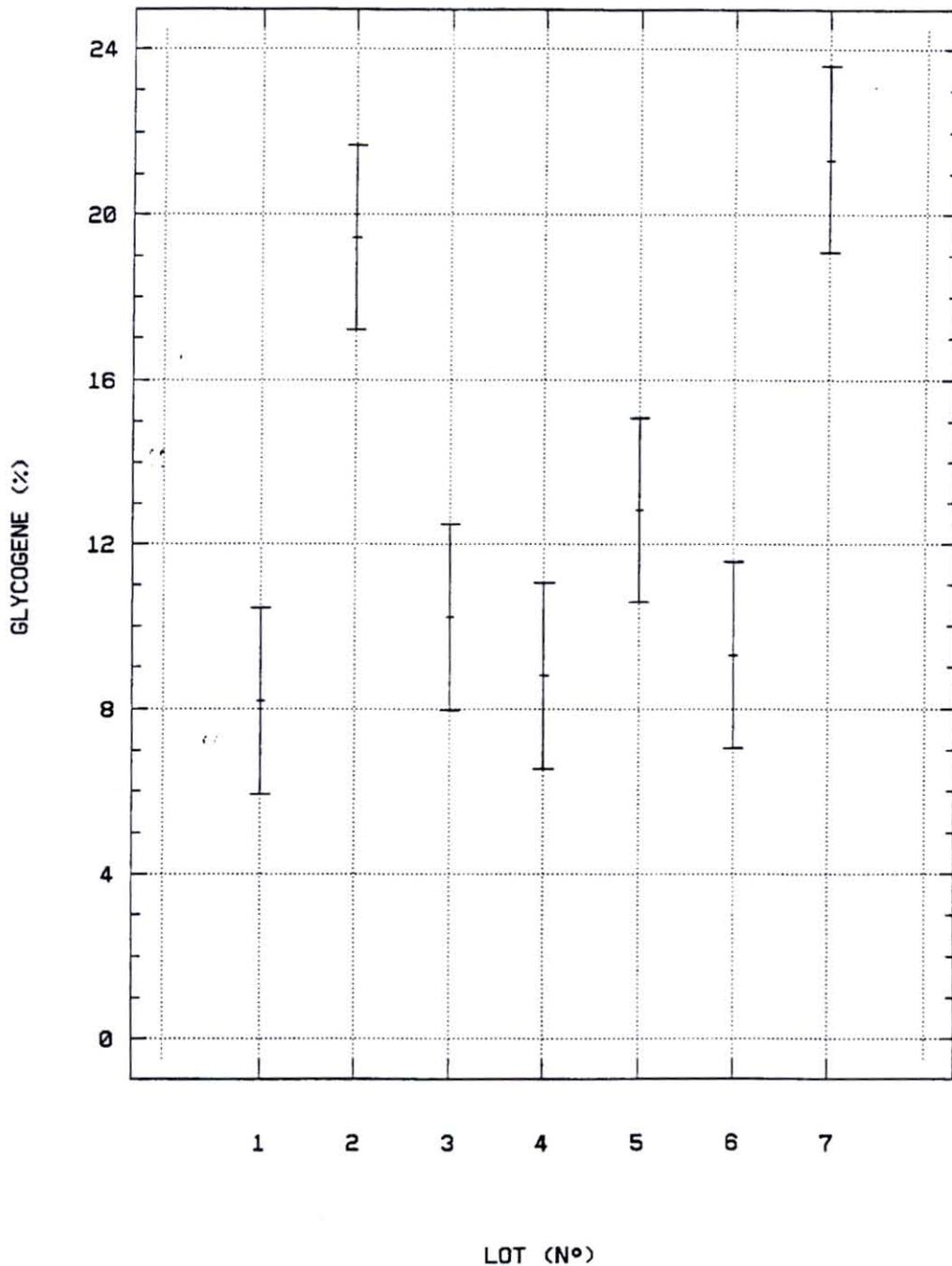


Figure 6: Analyse de la variance des taux de glycogène en fonction des lots (1 à 7). Deux groupes se distinguent de façon significative (groupe 1 : lots 2 et 7 ; groupe 2 : lots 1, 3, 4, 5, 6).

4. Discussion -Conclusion

L'ensemble des analyses des lots 'professionnels' permet de mettre en évidence une variabilité importante des paramètres "poids sec" et "glycogène" nécessitant une vérification ultérieure. En effet, il est particulièrement important de vérifier si cette variabilité inter-lot provient de la pratique culturale même, en particulier de l'origine du lot et du travail subit, ou/et du fait d'un biais au moment de l'échantillonnage final par un tri arbitraire non homogène entre les professionnels. Globalement les sept lots analysés peuvent être répartis sous forme de 2 groupes bien distincts.

Une comparaison de ces données avec les lots d'huîtres provenant 1) du réseau IFREMER de croissance sur le bassin de Marennes-Oléron (1992-1994), 2) du réseau REMORA (1993), et 3) d'expérimentations IFREMER sur l'affinage des huîtres (1994) peut être effectuée de façon préliminaire (Figure 7). L'analyse de covariance de ces lots, qui tient compte du niveau d'engraissement des animaux, ne montre pas de différence significative entre les lots "Pousses en claires" et les autres lots, bien que la moyenne la plus élevée soit observée sur le lot "Pousse en claires, b" (Figure 8). Il serait toutefois nécessaire d'effectuer une recherche exhaustive d'animaux cultivés sur estran présentant en particulier un niveau d'engraissement similaire aux lots N°2 et 7. Cette visualisation permet de confirmer que les lots professionnels "Pousses en claires", hormis les lots N°2, 7 (i.e., lettres b, g), ne diffèrent pas significativement des autres lots pour ces seuls critères que sont le poids sec et le taux de glycogène. Par conséquent, il apparaît donc nécessaire de rechercher une combinaison plus large de critères supplémentaires afin de discriminer cette catégorie d'huîtres qu'est la "Pousse en claire".

5. Bibliographie

- CREAA, 1996. Echantillonnage des lots d'huîtres du groupe "Pousse en claire": Biométrie, 18p.
- Dubois M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28:350-356.
- Goyard E. et laboratoires côtiers IFREMER, 1994. REMORA 1993. Analyse des résultats de la première année du réseau de suivi de la croissance de l'huître creuse sur les côtes françaises. RI DRV 96.01-RA La Trinité/Mer, 60p
- Lawrence D.R. and G.I. Scott, 1982. The determination and use of condition index of oysters. *Estuaries*, 5(1): 23-27.
- Le Moine O., P. Geairon, S. Heurtebise, P. Gouletquer, 1996. Bilan de 10 années du réseau de suivi de croissance de l'huître creuse *C. gigas* dans le Bassin de Marennes-Oléron (sous presse).
- Soletchnik P., D. Razet, P. Gouletquer, P. Geairon, O. Le Moine, N. Faury, 1995. Analyse de la capacité trophique de l'écosystème "claires ostréicoles" dans le cadre de l'affinage de l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Bassin de Marennes-Oléron). RI DRV 95-24 - RA La Tremblade, 43p.

Comparaisons des taux de glycogène sur différents lots d'huîtres

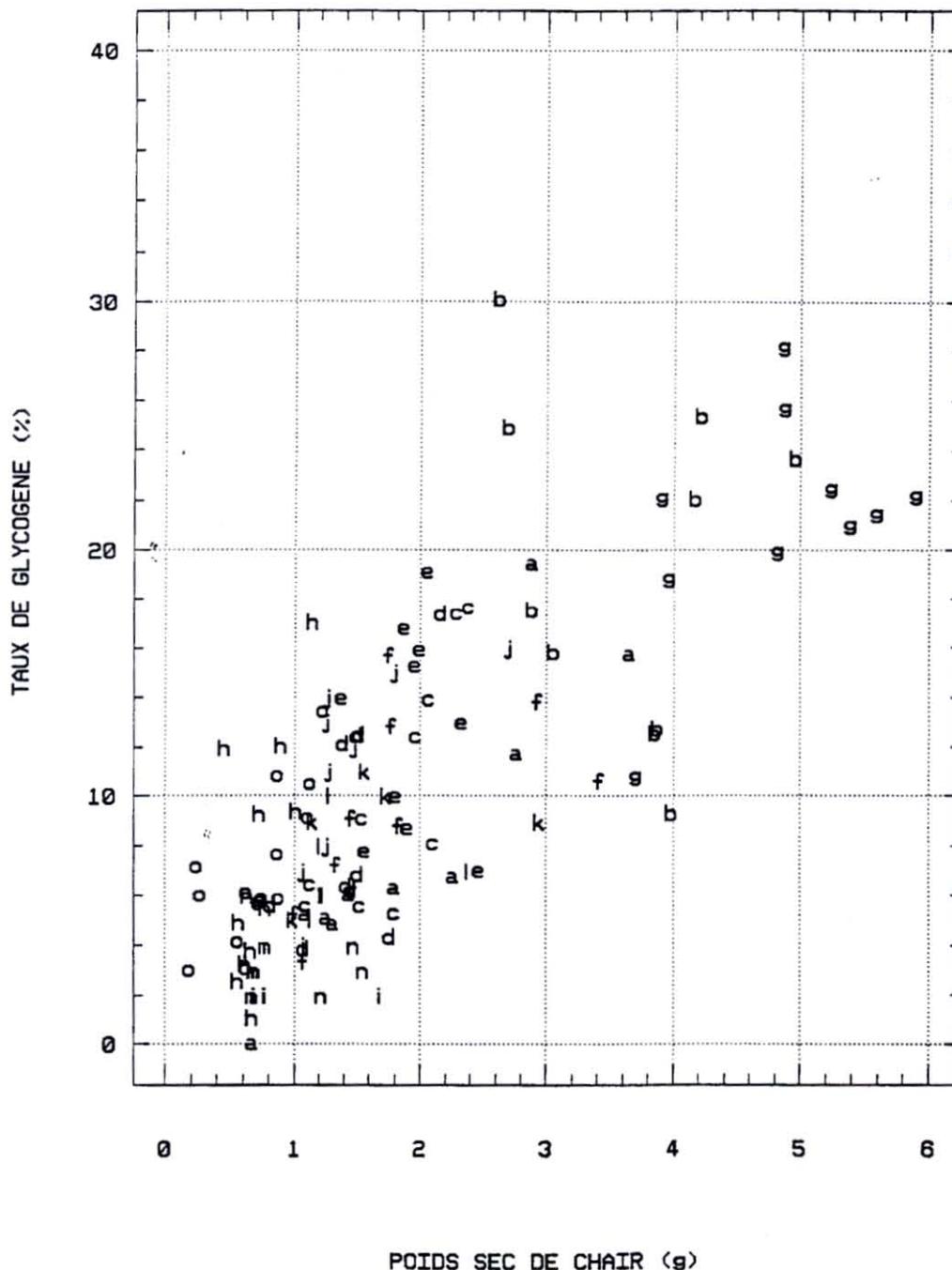


Figure 7: Comparaison des concentrations de glycogène en fonction des poids secs de chair des lots d'huîtres "Pousses en claires" (a à g), des huîtres "fines" et "spéciales" d'expérimentations 1994, du réseau REMORA sur Marennes-Oléron (i), du réseau REMORA au niveau national (Normandie, j ; Bretagne Nord, k ; Bretagne Sud, l ; Baie de Bourgneuf, m ; Bassin d'Arcachon, n), du réseau de croissance de Marennes-Oléron, o.

Analyse de Covariance du Taux de Glycogène sur différents lots

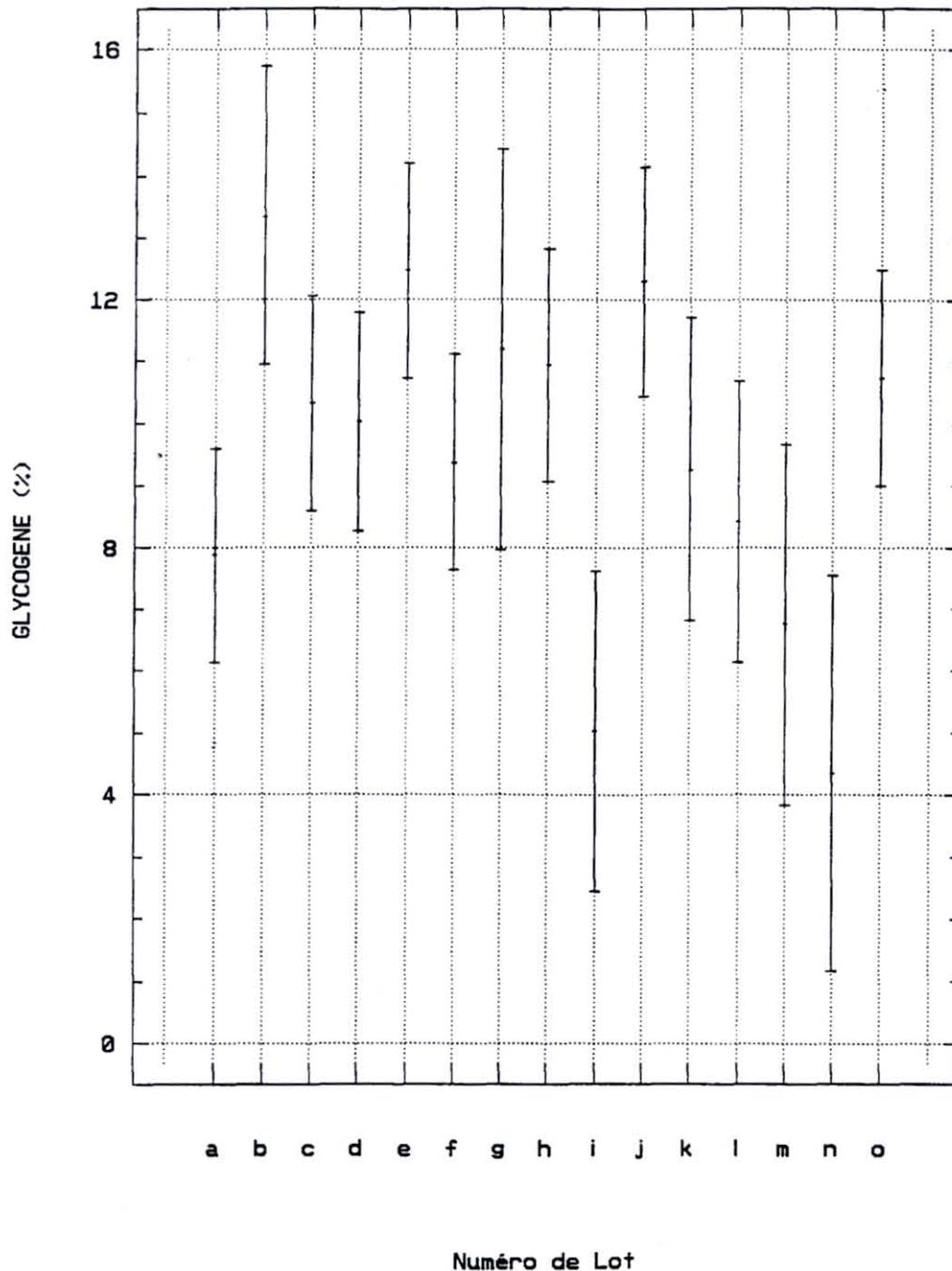


Figure 8: Analyse de covariance du taux de glycogène en fonction de l'origine des lots. Les lots correspondent à ceux de la figure 7. La covariable est le "Poids sec" ce qui permet de comparer les lots d'une façon standard.

ANNEXE

Dosages des glucides particuliers selon la méthode de DUBOIS

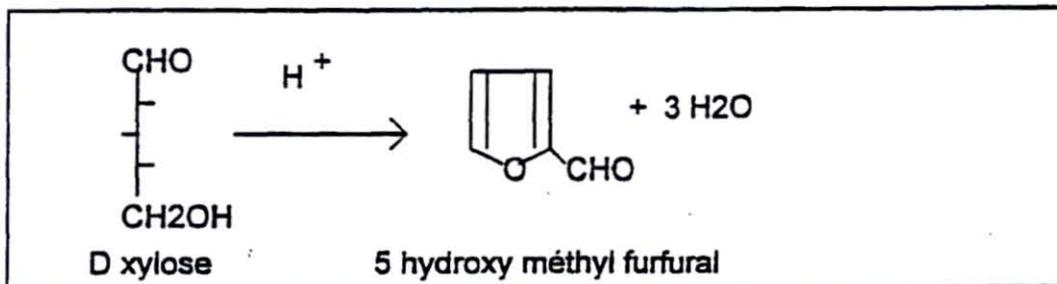
Les oses, et en particulier le glucose, doivent leur importance au fait que leur oxydation fournit aux organismes vivants une grande partie de l'énergie qui leur est nécessaire. Cependant, quel que soit son importance, l'aspect énergétique de l'oxydation du glucose ne doit pas faire oublier que le glucose est non seulement une source d'énergie mais aussi une source de carbone.

Principe

En 1951, Dubois a déclaré, après expérimentation, que "le phénol en présence d'acide sulfurique concentré peut être utilisé pour déterminer par colorimétrie des micro-quantités d'oses et leurs dérivés, d'osides et de polyholosides présents dans l'eau de mer". Cette méthode est simple, rapide, et donne des résultats reproductibles. Les réactifs sont bons marchés et stables. De plus, la coloration brune-orangée est également très stable.

Par cette méthode, nous avons dosé les oses et dérivés qui ont un maximum d'absorption à 490 μm tel que : D xylose (furfural), D mannose, D fructose, D glucose, D galactose, D galacturonique, D manurone, 2 desoxy d ribose, le saccharose, le maltose, le lactose et le raffinose.

Un exemple de réaction produite (en présence d'un acide minéral fort les pentoses donnent du furfural) :



Le furfural et ses dérivés se combinent avec le phénol pour donner un complexe coloré.

Extraction

Avant de commencer l'extraction, il faut préparer une solution de phénol à 5 % en poids (à conserver à 4°C).

Le filtre contenant la matière particulaire est mis dans un tube à centrifuger (diamètre 16 à 20 mm) avec 1 ml d'eau distillée et 1ml de solution de phénol à 5 %.

Puis il est broyé finement à l'aide d'une spatule métallique inoxydable pour libérer les glucides. Après cette étape, la solution obtenue est mise à extraire pendant 40 mn à température ambiante.

Ensuite, 5 ml d'acide concentré (acide sulfurique pur très concentré environ 30 N) sont rajoutés rapidement à l'aide d'une pipette automatique. Ce mélange est homogénéisé aussitôt avant de le laisser reposer 10 mn à température ambiante ou au bain marie à 25-30 °C.

Pour finir, il faut effectuer deux centrifugations pour éliminer les particules de fibres de verre en suspension. La première est faite à 3 000 tours pendant 20 mn. Alors que la seconde est faite à 1 500 tours pendant 15 mn après avoir transvasé la solution dans un tube à hémolyse de 5 ml.

Les centrifugations précédentes permettent de lire les densités optiques à 390 μm

Exploitation des résultats

Ici, les densités optiques lues au spectrophotomètre sont à comparer à la courbe d'étalonnage du glucose à des concentrations comprises entre 0 et 200 $\mu\text{g/ml}$. Les sucres présents sont mis en équivalence avec le glucose. La concentration en glucide est déduite automatiquement de la courbe d'étalonnage par le spectrophotomètre.