

E. Fleury, S. Pouvreau, J. Normand, S. Petton, G. Bellec, J-F. Bouget,  
F. D'Amico, L. Dechamps, J. Grizon, A. Lamoureux, W. Louis, D. Maurer,  
S. Mortreux, H. Palvadeau, J-F. Pépin, B. Petton, I. Quéau, V. Quillien.

## ECOSCOPA

### Evaluer la qualité des écosystèmes conchylicoles en lien avec les pressions climatiques et anthropiques



- Rapport annuel 2015 -

Coordination - Rédaction : Elodie Fleury

Contribution à la rédaction :

Julien Normand, Stéphane Pouvreau, Sébastien Petton

Mars 2016

Convention DPMA - IFREMER 14/1211577/F



<b>Numéro d'identification du rapport :</b> <b>Diffusion :</b> libre : <input checked="" type="checkbox"/> restreinte : <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/> <b>Validé par :</b> Pierre Boudry, responsable unité PFOM <b>Adresse électronique :</b> pboudry@ifremer.fr	<b>date de publication :</b> 30/03/2016 <b>nombre de pages :</b> 48 <b>bibliographie :</b> oui <b>illustration(s) :</b> 44 figures <b>langue du rapport :</b> Français
<b>Titre du rapport :</b>  ECOSCOPA Evaluer la qualité des écosystèmes conchylicoles en lien avec les pressions climatiques et anthropiques Rapport annuel campagne 2015	
Contrat n° <b>14/1211577/F</b> Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/> Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/>	
<b>Auteur principal :</b> Elodie Fleury  <b>Contributeurs :</b> S. Pouvreau, J. Normand, S. Petton G. Bellec, J-F. Bouget, F. D'Amico, L. Dechamps, J. Grizon, A. Lamoureux, W. Louis, D. Maurer, S. Mortreux, H. Palvadeau, J-F. Pépin, B. Petton, I. Quéau, V. Quillien.	<b>Organisme / Direction / Service, laboratoire</b>  Ifremer/ODE/LER MPL Trinité sur mer Ifremer/RBE/PFOM/PI UMR LEMAR 6539
<b>Cadre de la recherche :</b>  Réseau national VELYGER- Convention DPMA-Ifremer 2015	
<b>Destinataire :</b>	DPMA-Ifremer



## Table des matières

<b>1. Contexte général</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Matériel et méthodes</b> .....	<b>2</b>
2.1 Matériel biologique	2
2.2 Sites d'étude	4
2.3 Calendrier et fréquence d'échantillonnage	5
2.4 Variables mesurées	5
2.4.1 Mortalité	5
2.4.2 Croissance	6
2.4.3 Indice de condition	7
2.4.5 Données environnementales	7
2.6 Saisie et centralisation des résultats	10
<b>3. Résultats 2015</b> .....	<b>11</b>
3.1 Mortalités	11
3.1.1 Analyse des cinétiques de mortalités en 2015	11
3.1.2 Taux de mortalité cumulée en 2015	13
3.1.3 Comparaison inter-annuelle des taux de mortalité	14
3.2 Croissance	16
3.2.1 Poids moyen des différents lots suivis en 2015	16
3.2.2 Comparaison inter-annuelle des taux de croissance	19
3.4 Paramètres environnementaux	22
3.4.1 Température	22
3.4.2 Salinité	23
3.4.3 Concentrations phytoplanctoniques	24
<b>4. Descripteurs physiologiques : validation de marqueurs précoces de la réponse de l'huître aux mortalités</b> .....	<b>26</b>
4.1 Contexte de l'étude	26
4.2 Objectifs	26
4.3 Mise en œuvre	27
4.3.1 Matériel biologique	27
4.3.2 Suivis de mortalité et échantillonnages	28
4.3.3 Paramètres mesurés	29
4.3.4 Traitement des données	30
4.3.5 Résultats	32
4.4 Conclusion et perspectives	37
<b>5. Conclusion générale et perspectives</b> .....	<b>38</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>40</b>

---



## 1. Contexte général

L'ostréiculture française est le premier contributeur de la filière aquacole en France avec une production estimée à 85 000 tonnes ces dernières années. Pourtant, depuis 2008, la production subit une baisse correspondant à environ 40 000 tonnes, conséquence directe de l'épizootie associée à OsHV-1  $\mu$ Var frappant les naissains sur l'ensemble du littoral français. De plus, depuis 2012, une nouvelle épizootie associée à la bactérie *Vibrio aestuarianus* frappe le cheptel d'huîtres adultes, ce qui ne fait qu'aggraver la situation de la filière ostréicole déjà fortement impactée. Les évolutions de ces crises au cours du temps induisent la nécessité de pouvoir évaluer, d'une part, les risques sanitaires associés à la gestion globale de l'activité ostréicole (risques associés aux transferts, aux évolutions des pratiques culturales, ainsi qu'à l'émergence potentielle de nouvelles maladies), mais également de pouvoir disposer d'un outil fiable permettant de mesurer objectivement et à plusieurs échelles l'état de santé d'écosystèmes côtiers d'intérêt conchylicoles, halieutiques ou patrimoniales. Ainsi, compte-tenu de ce contexte, il serait intéressant de pouvoir développer un outil complet, permettant d'évaluer la qualité des écosystèmes conchylicoles en lien avec les pressions climatiques et anthropiques. Plus précisément, à terme, cet outil pourrait répondre aux caractéristiques listées en figure 1.

- Cinq mots clés : **Observation / Modélisation / Explication / Anticipation / Communication**
- Six grands sites-atelier d'intérêt
- Tous les stades de vies
- Plusieurs espèces sentinelles exploitées et sauvages (Huîtres creuses, huîtres plates, Moules...)
- Une série de paramètres multi-échelles choisis judicieusement (de la cellule au satellite)
- Un collectif de laboratoires implantés sur le littoral (DYNECO/PFOM/LEMAR/LERS/MARBEC/SG2M/IHPE/MMS...)
- Différentes filières impliquées (Aquaculture, Pêche, Cueillette, Gestion patrimoniale)

Figure 1 : Objectifs à moyen terme du réseau ECOSCOPA

Afin de préparer de façon concertée ce projet d'ampleur nationale, nous proposons dans un premier temps en 2015 de renforcer la synergie existante entre les réseaux RESCO et VELYGER au travers d'une nouvelle action nommée ECOSCOPA (Evaluer la qualité des éCOSystèmes CONchylicoles en lien avec les Pressions climatiques et Anthropiques). Cette action a pour premier objectif de mettre en œuvre un suivi proactif du cycle complet de la vie de l'huître (incluant la croissance, la reproduction, le captage puis la mortalité) à partir d'animaux communs sur différents sites ateliers, en lien avec l'acquisition de descripteurs environnementaux susceptibles d'influencer chacune de ces phases de vie. Notons que cette évolution, et la création de l'action ECOSCOPA s'est faite en parallèle de l'évolution des modalités de la surveillance des maladies des mollusques marins, la partie concernant la surveillance planifiée des maladies des huîtres creuses reposant désormais sur le réseau RESCO II (voir rapport DGAI 2015).

Pour atteindre ces objectifs, l'action ECOSCOPA 2015 a fait appel à un matériel biologique standardisé, reproductible et testé sur la base d'une épreuve thermique. Ce matériel, appelé 'NSI' (pour Naissain Standardisé Ifremer), a été déployé sur 6 sites

correspondant à des sites VELYGER, également communs aux sites suivis dans le cadre de RESCO II. L'utilisation récurrente de ce matériel, n'ayant jamais eu de contact avec les agents pathogènes présents *in situ*, doit permettre à terme d'évaluer la capacité des sites à contaminer ces huîtres. De plus, la production standardisée de ce matériel biologique permet de fiabiliser les comparaisons inter-annuelles en terme de croissance, d'indice de condition, de reproduction mais aussi de mortalité afin de suivre l'évolution progressive de la qualité de ces sites de production conchylicole.

Parallèlement à l'utilisation de ce matériel biologique et aux suivis biologiques réalisés dans le cadre d'ECOSCOPA (croissance, maturation, mortalité), il est apparu nécessaire d'acquérir simultanément des descripteurs de l'environnement. Les sites choisis ont donc été équipés, comme ils l'étaient déjà dans le cadre de RESCO et de VELYGER, de sondes de mesure haute fréquence de type SMATCH, permettant la mesure des paramètres température, salinité et pression toutes les 30 minutes.

Enfin, cette action avait pour objectif de développer l'acquisition de « nouveaux » descripteurs physiologiques, afin de disposer de proxy permettant de décrire les variations de l'état physiologique de l'huître en fonction des variations de l'environnement et/ou l'apparition des maladies *in situ*. Pour ce faire, l'action ECOSCOPA a approfondi des résultats préliminaires acquis au cours d'action PHYSITU (Fleury et al., 2015). En effet, l'année précédente sur l'un des sites ateliers, des mesures d'expression de gènes impliqués dans la réponse des naissains aux mortalités avaient été réalisées afin de qualifier l'évolution du statut physiologique de l'huître avant, pendant, et après les mortalités. Cette action avait permis d'identifier 4 gènes « marqueurs », dont l'expression varie significativement selon les périodes avant et après mortalité. L'action ECOSCOPA 2015 a donc pris en charge la poursuite de cette étude afin de tester la robustesse de ces gènes candidats en tant que marqueurs précoces de la réponse de l'huître face aux facteurs induisant des mortalités, et de valider si ces marqueurs peuvent être utilisés de façon récurrente pour la surveillance de la qualité des sites conchylicoles. En effet, si les résultats se révèlent concluants, ces marqueurs pourraient à terme faciliter le diagnostic de la qualité de ces sites de production. Notons que cette étude, étant encore au stade préliminaire par rapport aux suivis des autres indicateurs biologiques et environnementaux, a fait l'objet d'un plan expérimental spécifique et dédié. Les résultats de ces analyses seront donc présentés séparément dans la partie 4 de ce rapport.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé pour les suivis ECOSCOPA 2015 est basée sur un lot de Naissain Standardisé Ifremer (NSI) constituant un matériel biologique produit en condition d'élevage et milieux contrôlés (site expérimental d'Argenton RBE/PFOM/LPI et Plateforme Régionale d'Innovation de Bouin SG2M-LSPC). Ces NSI représentent un matériel biologique standard et reproductible, dont la variance inter-lot est minimisée grâce à l'utilisation d'un grand nombre de géniteurs d'origine sauvage et dont l'histoire de vie précédant le déploiement sur site sont parfaitement connus (Petton et al., 2013). Sur la base de l'utilisation de ce lot en



année N, les lots sentinelles sont conservés sur chacun des sites en année N+1 et N+2, afin de constituer des suivis de lots sur 3 ans issus d'une même cohorte.

Dans le cadre des suivis ECOSCOPA 2015, les lots sentinelles suivis sont donc composés de 3 classes d'âge : « 6 mois », « 18 mois » et « 30 mois » (figure 2).

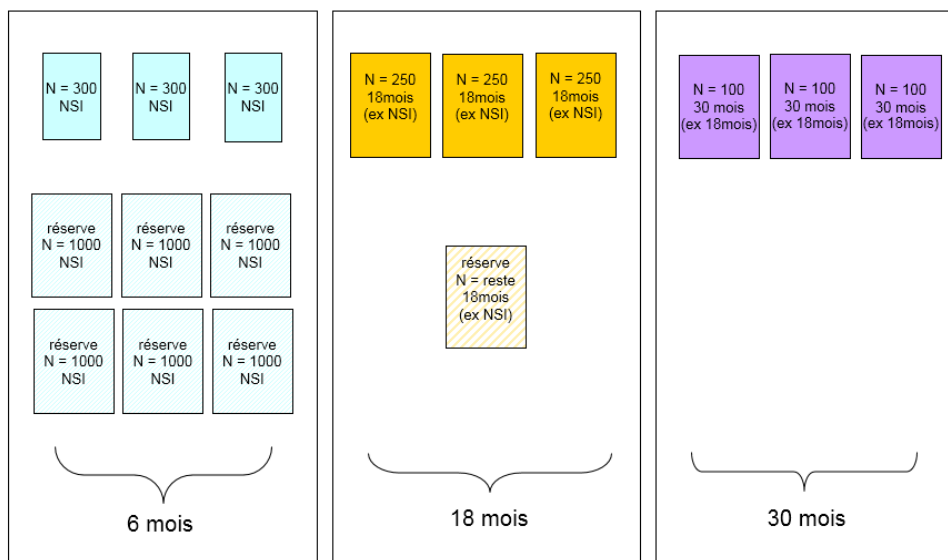


Figure 2 : Lots sentinelles suivis sur l'ensemble des sites ECOSCOPA en 2015.

La classe d'âge « 6 mois » se compose de :

- 3 poches contenant 300 individus du lot NSI et de 6 poches « réserve » contenant 1000 individus NSI. Ces poches « réserve » ne font pas l'objet des suivis actifs de 2015, mais servent à compléter le nombre d'individus NSI restant en fin de campagne pour constituer le lot « 18 mois » de l'année 2016. Ces lots NSI ont été produits à l'écloserie expérimentale d'Argenton (RBE-PFOM-PI / UMR LEMAR) selon le protocole décrit par Petton et al. (2013). Ce lot a été réceptionné à la station de la Trinité sur mer le 05/03/2015 et le poids moyen initial des huîtres était de 0,4g.

- 3 poches contenant 250 individus du lot « 18 mois » issu de la conservation des lots NSI de l'année 2014 sur chacun des sites (nommés « ex NSI »), et de poches « réserves » contenant le surplus de ces individus. Ces poches « réserve » ne font pas l'objet des suivis actifs de 2015, mais servent à compléter le nombre d'individus « 18 mois » restant en fin de campagne pour constituer le lot « 30 mois » de l'année 2016. Des biométries « initiales » pour ce lot « 18 mois » ont donc été effectuées sur chacun des sites suivis le 05/03/2015, date du lancement de la campagne de suivi.

- 3 poches contenant 100 individus du lot « 30 mois » issu de la conservation des lots « 18 mois » de l'année 2014 sur chacun des sites (nommés « ex 18 mois »). Des biométries « initiales » pour ce lot « 30 mois » ont donc été effectuées sur chacun des sites suivis le 05/03/2015, date du lancement de la campagne de suivi.

## 2.2 Sites d'étude

Les sites analysés par ECOSCOPA en 2015 correspondent aux sites étudiés dans le cadre du réseau VELYGER, dans un effort de mutualisation des observations. Ainsi, les sites suivis constituent des points assez espacés sur un plan latitudinal (Figure 3 et Tableau 1), afin de couvrir une large gamme de conditions hydro-climatiques. Ces sites sont (i) soit des sites traditionnels de captage pour lesquels la reproduction de l'huître creuse a eu lieu dès son implantation (Arcachon et Marennes Oléron) ; (ii) soit des sites plus récents en termes de recrutement de l'espèce et donc d'activité de captage (rade de Brest, rivière de Pénerf, baie de Bourgneuf et lagune de Thau). Notons que seul le site de « Marseillan est » est non découvrant, en accord avec les pratiques culturelles locales.

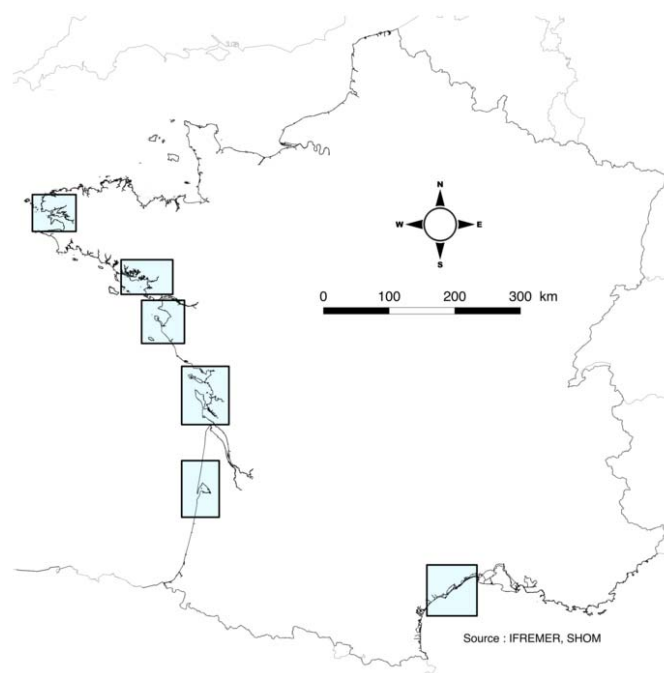


Figure 3 : Carte de localisation des sites-ateliers ECOSCOPA en 2015.

Secteur	Libellé site	Latitude WGS84	Longitude WGS84	Point Quadrigé
Rade de Brest	Pointe du Château	48.334998	-4.319390	039-P-068
Rivière de Pénérf	Pénérf-Rouvrant	47.510109	-2.648004	064-P-015
Baie de Bourgneuf	Coupelasse	47.026023	-2.030078	071-P-088
Marennes Oléron	D'Agnas	45.868543	-1.172305	180-P-065
Bassin d'Arcachon	Tès	44.665948	-1.138744	088-P-028
Etang de Thau	Marseillan est	43.379130	+3.571080	104-P-428

Tableau 1 : Nomenclature et coordonnées des sites ECOSCOPA 2015

## 2.3 Calendrier et fréquence d'échantillonnage

La fréquence des visites de terrain sur les sites ECOSCOPA s'est déroulée de façon bi-mensuelle du mois d'avril au mois de septembre, et de façon mensuelle du mois d'octobre au mois de février. Ainsi, 21 passages simultanés sur les 6 sites ont été effectués au cours de 2015.

Parallèlement aux visites de terrain, les données environnementales sont acquises de façon continue durant toute l'année, par des sondes effectuant des mesures en haute fréquence (une données toutes les 30 minutes, sur tous les sites, cf paragraphe 2.4.5). L'ensemble des données émises par ces bouées est centralisé sur le site 'co-en' (<http://www.ifremer.fr/co-en/>) géré par le Centre d'Océanographie Côtière Opérationnelle.

## 2.4 Variables mesurées

### 2.4.1 Mortalité

Lors de chaque passage sur site, les poches contenant les différents lots sentinelles sont vidées précautionneusement dans un panier de comptage grillagé. Les individus sont examinés visuellement puis triés selon leur statut : morts ou vivants (figure 4).



Figure 4 : Comptage des individus morts et vivants sur un site-atelier ECOSCOPA.

Les individus morts (correspondant à des coquilles ouvertes ou des coquilles vides) et les individus vivants sont alors dénombrés sur l'ensemble des 3 poches de chacun des lots. Ceci permet de déterminer en triplicat pour chaque lot les taux de mortalité suivants:

- le taux de mortalité instantanée (MI), constaté au temps t :

$$\text{Mortalité instantanée}_{(t)} = \frac{\text{Nombre mortes}_{(t)}}{\text{Nombre mortes}_{(t)} + \text{Nombre vivantes}_{(t)}} = MI_{(t)}$$

- le taux de mortalité cumulée (MC) au temps t :

$$\text{Mortalité cumulée}_{(t)} = 1 - [(1 - MC_{(t-1)}) \times (1 - MI_{(t)})] = MC_{(t)}$$

Cette formule permet de s'affranchir du nombre d'individus prélevés.

Appliquée au premier échantillonnage ( $t=t_1$ ), la mortalité cumulée du passage précédent est considérée comme nulle ( $MC_{(t_0)} = 0$ ) : la formule donne donc :

$$MC_{(t_1)} = 1 - [(1 - MC_{(t_0)}) \times (1 - MI_{(t_1)})]$$

$$MC_{(t_1)} = 1 - [(1 - 0) \times (1 - MI_{(t_1)})]$$

$$MC_{(t_1)} = 1 - [(1 - MI_{(t_1)})]$$

$$MC_{(t_1)} = MI_{(t_1)}$$

#### 2.4.2 Croissance

La croissance est évaluée pour chaque lot sentinelle (NSI « 6 mois », « 18 mois » et « 30 mois ») par le rapport du poids total des individus d'une poche donnée sur le nombre d'individus vivants de cette même poche.

$$\text{Poids moyen}_{(lot\ naissain\ A)} = \frac{\text{Poids total}_{(lot\ naissain\ A)}}{\text{Nombre vivantes}_{(lot\ naissain\ A)}}$$

Pour ce faire, l'ensemble des individus vivants d'une poche donnée est transféré dans un sceau, dont le poids est estimé à l'aide d'un peson (préalablement taré avec le poids du sceau) (figure 5).



Figure 5 : Pesée totale des individus d'un lot sur le terrain.

En ce qui concerne le lot « 18 mois », la croissance et les paramètres biométriques sont évalués dans chaque poche contenant les lots « 18 mois » à partir de mesures effectuées sur un prélèvement aléatoire de 10 individus par poche (30 individus en tout), selon le calendrier de passage. La longueur de la coquille est mesurée à l'aide d'un pied à relié à un ordinateur, permettant d'exporter directement les données dans la base de données Quadrigé<sup>2</sup>. La masse de l'individu entier, de la coquille vide, et de la chair totale humide sont également mesurées à l'aide d'une balance de précision connectée à un ordinateur (liaison RS232) et les données sont automatiquement transférées dans Quadrigé<sup>2</sup> via un logiciel générique (<http://www.billproduction.com/billscalebalance>).

### 2.4.3 Indice de condition

Chez l'huître creuse, la gamétogenèse se déroule tout au long du printemps à la faveur du réchauffement des eaux et des blooms de phytoplancton : on parle communément de maturation. Cette maturation conduit à un gain de chair ou engraissement (relativement à la croissance en coquille) qui se traduit par une augmentation printanière de l'indice de condition, celui-ci devenant maximal juste avant la ponte. Cet indice de condition maximal, noté IC, est un indicateur (ou 'proxy') qui permet de caractériser simplement la fécondité potentielle d'un lot sentinelle d'huîtres pour une année et un site donnés. Il présente l'avantage d'être aisé à obtenir et d'être indépendant de la taille ou de l'âge, contrairement aux valeurs directes de masses de chair.

Pour le calcul de cet indice (uniquement sur la classe d'âge « 18 mois » dans le cadre des suivis ECOSCOPA), les masses sèches de tissu des individus du lot «18 mois» sont mesurées sur les mêmes 30 individus prélevés pour les paramètres biométriques de la croissance (*i.e.* 3 x 10 individus de chaque poche). Pour cela, les chairs sont lyophilisées durant 48 heures, puis pesées à l'aide d'une balance de précision. L'évolution de la masse sèche de tissu en fonction du temps permet de rendre compte de la croissance des huîtres, mais également des indices de condition et des événements de ponte. Les indices physiologiques sont calculés à partir des paramètres mesurés, afin de caractériser l'état d'engraissement et la qualité de la chair des huîtres, tels que l'indice Afnor (Afnor, 1985) via le rapport du poids de chair égouttée sur le poids total de l'individu.

### 2.4.5 Données environnementales

Des mesures de température, pression et salinité sont réalisées toutes les 30 minutes sur l'ensemble des sites par le biais de sondes de mesure haute fréquence de type SMATCH (NKE Instrumentation).

Pour assurer le bon fonctionnement de ces sondes SMATCH, des formulaires de métrologie ainsi que des formulaires d'intervention sont à remplir par les agents de chaque site et sont ensuite archivés (figures 6 et 7).

## Formulaire de métrologie

### Résultat de la vérification des capteurs

**\*Obligatoire**

Sonde \*

Date \*

Intervenant

Température basse du bain relevée  
Valeur de l'étalon de référence

Température haute du bain relevée  
Valeur de l'étalon de référence

Ecart observé de la sonde  
Ecart toléré : -0.25°C : 0.25°C

	<	-0.5	-0.4	-0.3	-0.2	-0.1	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Température basse		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Température haute		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

Conductivité haute du bain relevée  
Valeur de l'étalon de référence

## Formulaire d'intervention

### Le but est de savoir où sont les sondes en temps réel

**\*Obligatoire**

Date

Sonde \*

Lieu \*

Où la sonde est actuellement ou va être prochainement

Etat après l'intervention \*

Sur Site : mise en place, nettoyage // Intervention : retrait, réparation, étalonnage, changement de piles / Stock : disponible pour la remettre sur le terrain

Figure 6 et 7 : Formulaire de métrologie et formulaire d'intervention des sondes SMATCHs

En effet, le protocole de métrologie associé à l'utilisation de ces sondes SMATCH impose un planning de rotation et de contrôle d'étalonnage réguliers sur l'ensemble du parc. Pour ce faire un contrôle global est effectué une fois par an par la société NKE et deux contrôles sont effectués en laboratoire par les correspondants métrologie du réseau (figure 8). Au final, les données de température et de salinité sont validées avec respectivement des écarts maxima tolérés de 0,1°C et de 0,5 PSU.

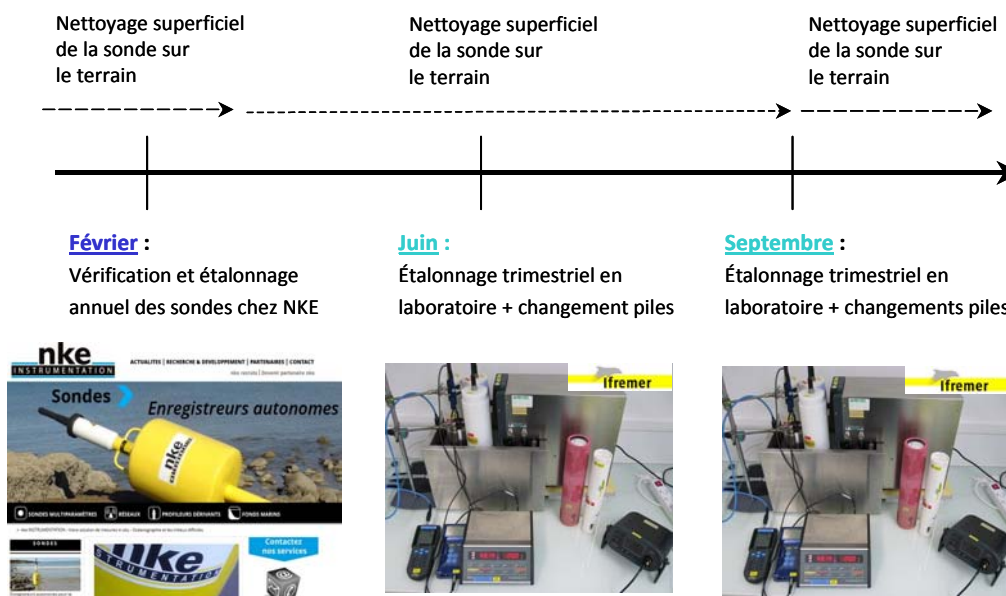


Figure 8 : Fréquence d'étalonnage et d'entretien des sondes SMATCH

Afin d'assurer l'acquisition continue des données environnementales lorsque des rotations de sondes SMATCH sont effectuées, tous les sites-ateliers sont tous équipés de sonde « crayon » positionnées à l'intérieur des poches : ces sondes effectuent des enregistrements haute fréquence à lecture en temps différé (type STPS pour pression / température / salinité) (figure 9). Les données enregistrées sont extraites et associées dans la base de données Quadriège de façon mensuelle ou bimensuelle, avec une rotation de sondes à chaque visite terrain.



Figure 9: Sondes d'enregistrement de type STPS positionnées dans les poches ostréicoles

Les données ainsi générées sont désormais traitées par des scripts en routine réalisant les moyennes journalières des mesures respectivement réalisées par les sondes SMATCH et STPS (figure 10).

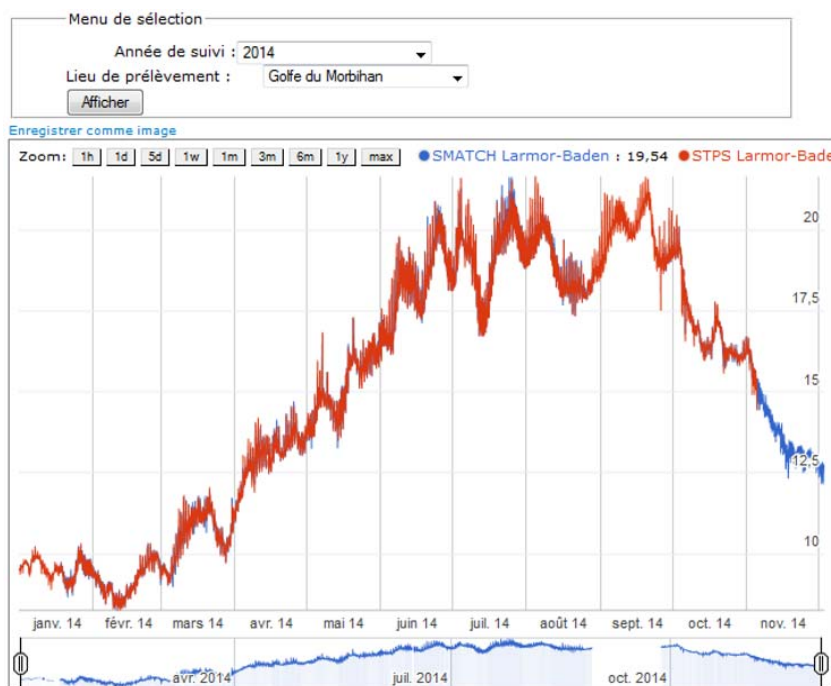


Figure 10 : Affichage des courbes de température et de salinité acquises par les sondes SMATCH (bleu) et STPS (rouge).

En parallèle de l'acquisition de ces données de température et salinité, la biomasse en phytoplancton (via le proxy chlorophylle a), l'abondance et la composition du phytoplancton sont également recensés tout au long de la campagne de suivi (*i.e.* tous les 15 jours, en période de production primaire active, et tous les mois hors période productive). Ces données sont issues des points de suivis « flore totale » du réseau national REPHY, lorsque ces points

se situent suffisamment à proximité des sites ECOSCOPA. Lorsqu'il n'y a pas de point suffisamment proche, des points de suivi sont ajoutés et donc financés par le réseau : c'est le cas de prélèvements réalisés sur les sites de Pointe du Château (rade de Brest) ou d'Agnas (Marennes Oléron), qui sont assurées par le bureau d'étude AEL plancton. Les méthodes de prélèvement et d'analyse sont détaillées dans Grossel (2006) et Daniel (2009).

## 2.6 Saisie et centralisation des résultats

L'ensemble des données acquises lors de chaque sortie (poids, taille, taux de mortalité ...) est saisi, dans la semaine du passage, par les différents laboratoires préleveurs dans la base de données Quadrigé<sup>2</sup>, et est ainsi mis à disposition des différents utilisateurs (figure 11). Les résultats sont centralisés de façon bi-mensuelle de Mai à Septembre (et de façon mensuelle d'Avril à Décembre), à partir des résultats extraits de la base de données. Afin de faciliter la gestion de ces données, des scripts développés sous le logiciel libre « R » sont utilisés afin de générer automatiquement les tableaux et les différentes courbes (de croissance, de mortalité cumulée, de mortalité instantanée, de température et de salinité). Cela permet, entre autres, d'effectuer un contrôle quotidien de la cohérence des différentes données saisies avant diffusion.

Paramètre	LONGUEUR	LABEUR	EPASSEUR	INDIVPOID	INDIVPOID	POLYDORA	GÉLATINE	INDIVPOID	MALURITE	INDIVPOID
Support	Bivalve	Bivalve	Bivalve	Bivalve	Bivalve	Bivalve	Bivalve	Bivalve	Bivalve	Bivalve
Fraction	Sans objet	Sans objet	Sans objet	Sans objet	Coquille	Coquille	Coquille	Chair totale d...	Sans objet	Chair totale
Méthode	Mesure au pied...	Mesure au pied...	Mesure au pied...	Pesée simple s...	Pesée simple s...	Classement Pol...	Classement gel...	Pesée simple s...	Classement Ma...	Pesée après
Somme de la série	63.13			590.685						
Moyenne de la série	7.26625			7.26625						
Ecart type de la sér	2.813304828119...			6.075931780393...				1.824		0.42
Intervalle de confi...								0.852116776034...		0.21743734
Individu 1	67.09			25.836	15.507			1.212	0	0.204
Individu 2	77.06			22.731	13.203			3.028	1	0.697
Individu 3	55.43			14.103	8.734			1.314	0	0.272
Individu 4	63.75			21.669	13.032			1.278	0	0.196
Individu 5	57.43			13.254	8.112			1.146	0	0.215
Individu 6	71.46			18.883	11.187			1.593	0	0.337
Individu 7	71.51			28.783	16.753			1.704	0	0.279
Individu 8	56.31			12.165	7.267			0.970	0	0.207
Individu 9	56.65			14.223	8.534			1.514	0	0.375
Individu 10	61.48			14.024	8.846			1.282	0	0.243
Individu 11	58.11			24.403	15.081			0.863	0	0.158
Individu 12	58.80			21.493	13.806			1.833	1	0.466
Individu 13	57.56			20.786	12.128			0.713	0	0.120
Individu 14	77.55			38.398	25.515			3.083	1	0.749
Individu 15	62.32			28.376	17.150			2.885	0	0.665
Individu 16	62.71			19.433	11.718			1.983	0	0.458
Individu 17	71.66			24.571	14.200			3.088	0	0.735
Individu 18	55.01			15.406	9.028			1.726	1	0.377
Individu 19	53.24			19.110	11.490			2.439	0	0.511
Individu 20	57.02			21.528	12.981			1.335	0	0.268
Individu 21	58.18			15.802	9.499			1.623	0	0.314
Individu 22	75.09			31.869	19.499			3.941	1	0.887
Individu 23	59.16			24.835	15.097			3.108	1	0.715
Individu 24	63.02			17.895	10.431			1.559	0	0.385
Individu 25	59.97			15.237	9.304			1.450	0	0.309
Individu 26	75.98			23.130	15.237			2.721	1	0.646
Individu 27	61.02			26.451	17.253			3.331	1	0.771
Individu 28	60.24			17.851	10.710			1.249	0	0.230
Unité de mesure	mm	mm	mm	g	g	sans unité	sans unité	g		g

Figure 11 : Saisie des données ECOSCOPA dans la base de données Quadrigé 2.

L'ensemble des suivis sont réalisés par les Laboratoires côtiers Environnement Ressources (LER) d'Ifremer (LER-Morbihan-Pays de Loire, LER-Pertuis Charentais, LER-Arcachon, LER-Languedoc Roussillon) ainsi que par le Laboratoire de Physiologie des Invertébrés de Brest (site expérimental d'Argenton).



### 3. Résultats 2015

#### 3.1 Mortalités

##### 3.1.1 Analyse des cinétiques de mortalités en 2015

La figure 12 représente les courbes des taux de mortalité instantanée moyennées sur les 6 sites, pour chacun des lots sentinelles suivis. Cette figure met en évidence que, globalement, les principaux pics de mortalité ont été observés sur le lot de naissain alors que les cinétiques de mortalités moyennées pour les lots «18 mois» et «30 mois» ne présentent pas de pic majeur de mortalité sur la totalité de la durée du suivi.

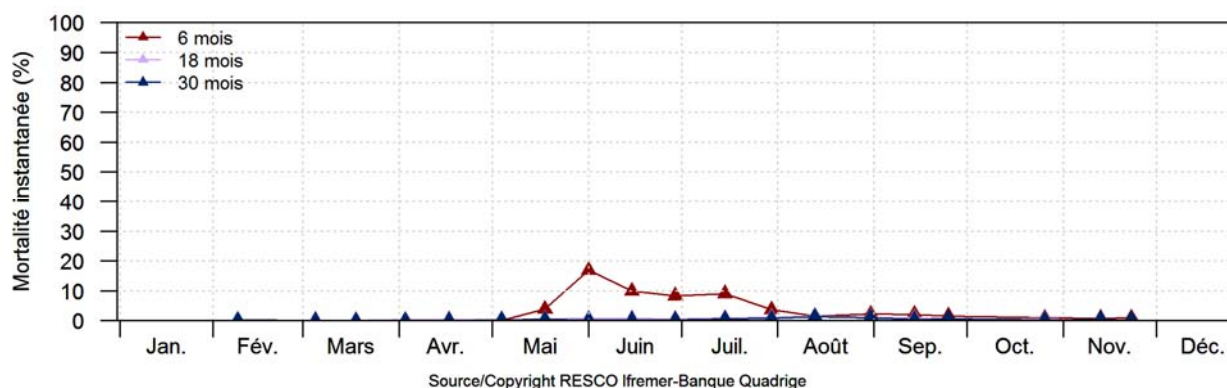


Figure 12 : Courbes de mortalité instantanée moyennées sur les 6 sites ECOSOPA, pour chaque lot sentinelle (NSI « 6 mois », «18 mois» et «30 mois»).

Cependant, des différences de cinétiques de mortalité sont mises en évidence selon les sites, lorsque les cinétiques sont étudiées séparément pour un lot donné. En effet, la figure 13, représentant les taux de mortalité instantanée observés pour le lot NSI pour chaque site ECOSOPA (en colonne) à chaque date de passage (en ligne), met en évidence que les premiers taux de mortalité instantanée supérieurs à 15% (bleu foncé) sont d'abord observés sur le site de Marseillan, dès le début du mois de Mai. Les lots NSI sont ensuite affectés selon un gradient Sud-Nord sur les autres sites de mi-mai jusqu'à début juillet.

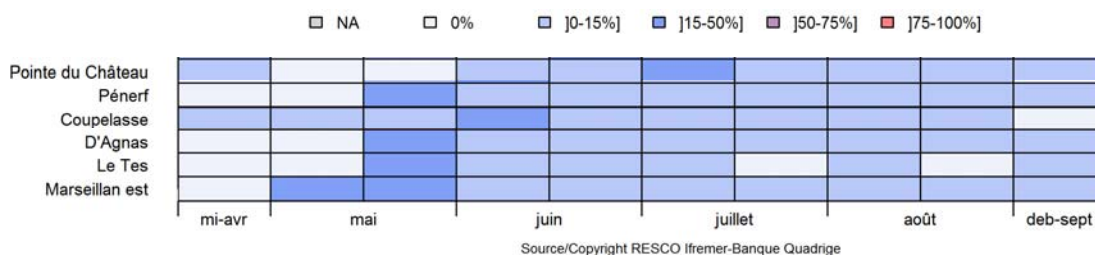


Figure 13 : Evolution des taux de mortalité instantanée du lot naissain Ifremer (NSI) pour l'ensemble des sites ECOSOPA du nord au sud (en colonne), à chaque temps de passage (en ligne).

L'intensité du bleu augmente en fonction du taux de mortalité instantanée.

En ce qui concerne le lot «18 mois», il n'y a pas eu de véritable pic de mortalité observé. En effet, la figure 14 met en évidence que la plupart des sites sont touchées par une mortalité instantanée comprise entre 0 et 15% durant toute la durée des suivis, de mi-avril à début septembre.



Figure 14 : Evolution des taux de mortalité instantanée du lot « 18 mois » pour l'ensemble des sites du nord au sud (en colonne), à chaque temps de passage (en ligne).

L'intensité du bleu augmente en fonction du taux de mortalité instantanée.

La mortalité observée sur ce lot « 18 mois » s'est donc faite, par opposition à celle observée sur le naissain, de façon faible et continue, comme l'illustre la figure 15 représentant l'évolution des taux de mortalité instantanée au cours des suivis 2015 sur le site de « Pointe de Château » (rade de Brest).

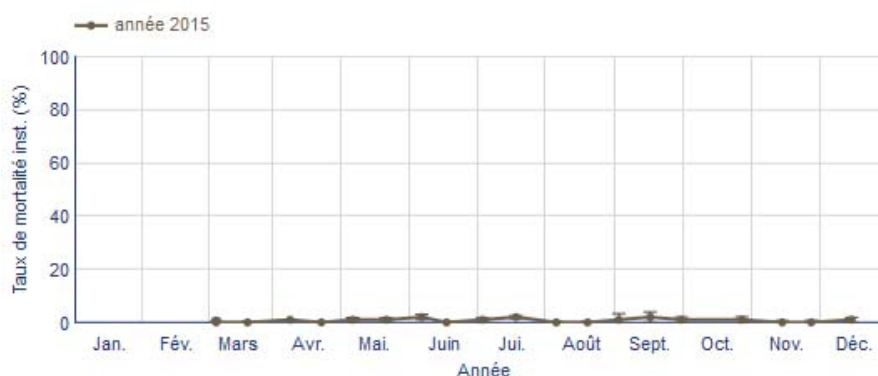


Figure 15 : Evolution « continue » de la mortalité pour le lot « 18 mois » sur le site de la Pointe du Château

Enfin, en ce qui concerne le lot « 30 mois » la représentation des taux de mortalité instantanée sur l'ensemble des sites pour l'ensemble des dates mets en évidence que ce lot n'a quasiment pas été affecté par la mortalité (figure 16).

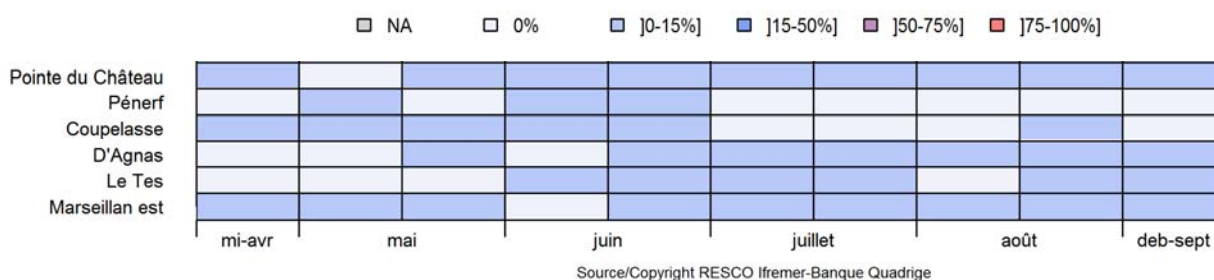


Figure 16 : Evolution des taux de mortalité instantanée du lot « 30 mois » pour l'ensemble des sites du nord au sud (en colonne), à chaque temps de passage (en ligne).

L'intensité du bleu augmente en fonction du taux de mortalité instantanée.

### 3.1.2 Taux de mortalité cumulée en 2015

Les taux moyens de mortalité cumulée pour les 6 sites ECOSCOPA sont respectivement de et  $53,2\% \pm 9$  pour le lot « NSI », de  $11,0\% \pm 6$  pour le lot « 18 mois » et de  $9,3\% \pm 7$  pour le lot « 30 mois » (figure 17 et tableau 2). Les résultats de mortalité cumulée soulignent ainsi une mortalité inférieure à 12% pour les lots 'adultes' (« 18 mois » et «30 mois»), qui sont donc significativement plus faibles que les taux de mortalité de l'ordre de 50% obtenus pour les lots de naissains NSI. Cependant, il est important de noter une plus forte variabilité parmi les taux de mortalité cumulée du lot « 30 mois ».

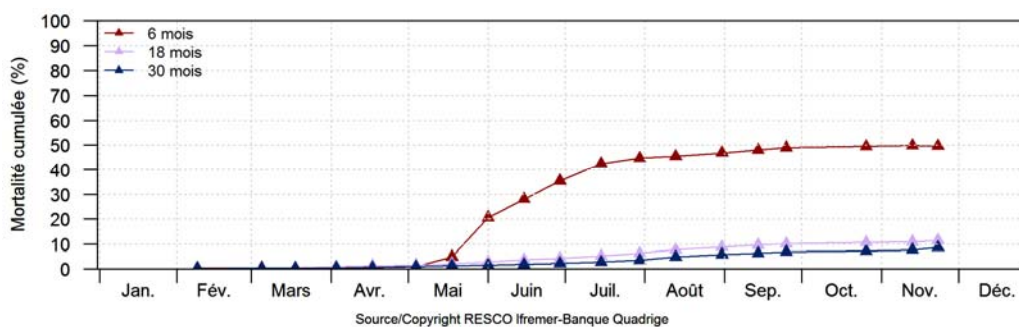


Figure 17 : Taux de mortalité cumulée moyens des lots sentinelles suivis par RESCO en 2015

Lieu	Naissain Standardisé Ifremer			18 Mois (ex-NSI)			30 Mois (ex-18 mois)		
	Moyenne	Ecart-type	Tendance	Moyenne	Ecart-type	Tendance	Moyenne	Ecart-type	Tendance
Pointe du Château	46.8	6.8	▶	15.2	3.7	▶	16.3	8.4	▶
Pénerf - Rouvran	49.6	6.4	▶	4.4	1.7	▶	1.9	1.3	▶
Coupelasse	47.9	0.4	▶	6.4	1.1	▶	4.8	0.6	▶
D'Agnas	62.9	9.3	▶	12.5	4.8	▶	13.1	3.7	▶
Le Tes	44.4	4.3	▶	6.8	3.6	▶	2.5	1.9	▶
Marseillan est	67.8	1.4	▶	20.5	1.4	▶	17.2	9.5	▶
Moyenne nationale	53.2			11.0			9.3		
Ecart-type	9.6			6.2			7.0		

Tableau 2 : Taux de mortalité cumulée (MC) des différents lots sur les sites ECOCSOPA à la fin des suivis 2015. Les flèches noires indiquent que ces taux étaient stables depuis plus d'un mois.

Des différences sont à noter pour certains sites, tels que Coupelasse ou le Tes, qui présentent des taux de mortalité cumulée finaux moins élevés que d'autres sites tels que D'Agnas ou Marseillan est, et ce quelle que soit la classe d'âge considérée (figure 18).

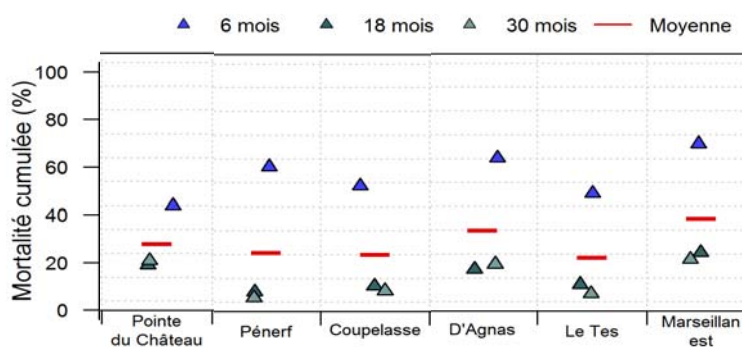


Figure 18 : Comparaison des taux de mortalité cumulée finaux des différents lots sentinelles (« 6 mois » NSI, « 18 mois » et «30 mois») sur l'ensemble des sites ECOSCOPA.

### 3.1.3 Comparaison inter-annuelle des taux de mortalité

Les comparaisons inter-annuelles des taux de mortalité donnent une indication des tendances observées sur des lots de même classe d'âge au cours du temps, mais sont à interpréter avec précaution. En effet, les lots de naissain type NSI n'ont été introduits sur les sites de suivi que depuis 2014, et diffèrent ainsi des types de lots de naissain suivis jusqu'alors (lot de captage naturel issu d'Arcachon suivi de 1993 à 2014). Ainsi, même si le lot de type NSI a pour but de fiabiliser les comparaisons inter-annuelles à terme, les années de transition entre ce type de lot et ceux suivis précédemment dans le cadre du réseau RECSO sont à interpréter en ayant ce changement à l'esprit.

La figure 19 représente l'évolution des taux de mortalité sur l'ensemble des sites étudiés depuis 2006 observé pour le lot « 6 mois » (naissain issu de Captage naturel d'Arcachon jusqu'en 2014, puis NSI en 2015). La moyenne (représentée par la barre noire sur le graphe) indique donc une tendance à la diminution de la moyenne du taux de mortalité observée sur cette classe d'âge, depuis 2012.

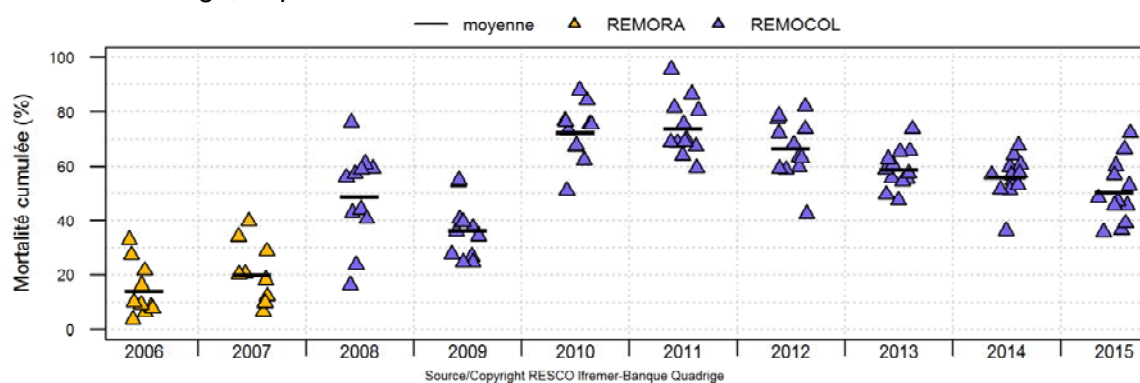


Figure 19: Taux de mortalité moyens des lots de naissain « 6 mois » CN\_Arc (2006-2014) puis NSI (2015) obtenus sur les différents sites suivis par les réseaux REMORA et RESCO, puis par ECOSCOPA.

Les résultats indiquent donc une tendance à la diminution des taux de mortalités moyens sur les différents sites étudiés, depuis 2012. En effet, les valeurs moyennes des mortalités cumulées sur l'ensemble des sites sont respectivement de 66,5% en 2012, 58,8% en 2013, 55,7% en 2014 et 53,2% en 2015. Notons que cette diminution, observée cette année sur les lots NSI, confirme les déclarations faites par les professionnels sur d'autres sites et d'autres lots, même si des exceptions existent.

En ce qui concerne les 6 sites étudiés par ECOSCOPA, la figure 20 illustre les différences de taux de mortalité moyens (barre rouge) obtenus sur ces sites ateliers lors des 9 dernières années sur les lots « 6 mois » (issus de Captage Naturel d'Arcachon). Le triangle vert représente l'année en cours (2015, sur les lots NSI) et permet ainsi de situer les tendances observées pour 2015 par rapport à celles obtenues de 2006 à 2014. Les résultats indiquent qu'il y a peu de différences de moyenne de mortalité sur les 9 dernières années sur les 6 sites étudiés, même si la variabilité des taux obtenus est plus élevée sur les sites tels que Pénerf, Coupelasse ou d'Agnas. Le site de Marseillan est, situé dans l'étang de Thau, présentait quant à lui des valeurs généralement plus élevées que ces autres sites.

De façon générale, le graphique indique que les taux de mortalité observés sur la classe d'âge « 6 mois » en 2015 se situe au niveau de la moyenne obtenue sur des lots de même cette classe d'âge au cours des 9 dernières années. Seul le site de Pointe du Château (rade de Brest) a présenté en 2015 des taux de mortalité significativement inférieurs sur le lot « 6 mois », par rapport aux 10 années précédentes, avec une moyenne de 46,8% en 2015 contre 56,9% sur les 10 dernières années.

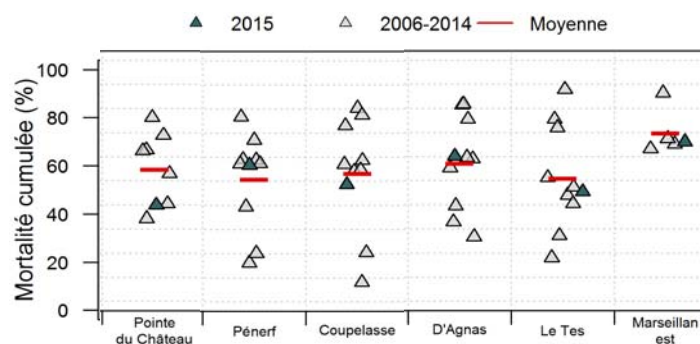


Figure 20 : Taux de mortalité moyens obtenus sur le lot « Captage Naturel Arcachon » sur la période 2006 - 2014 (barre rouge, données REMORA et RESCO), et la mortalité moyenne obtenue sur le lot NSI en 2015 (triangle vert) sur l'ensemble des sites atelier ECOSCOPA

En ce qui concerne le lot «18 mois», les mêmes précautions sont à prendre dans l'interprétation des comparaisons, puisque 2015 constitue la 1<sup>ère</sup> année de suivi du lot «18 mois» issu de la conservation sur site des lots NSI de la campagne 2014. Pour les années précédentes, les lots « 18 mois » provenaient d'un professionnel réalisant un captage naturel d'huîtres en Charente Maritime (île d'Aix).

La figure 21 indique que les taux moyens de mortalité (barre noire) obtenus sur le lot «18 mois» suivi en 2015 (11,0%) sont légèrement inférieurs à ceux obtenus lors des 3 dernières années (12,6% en 2012, 14,1% en 2013 et 19,6% en 2014). On note cependant encore une forte variabilité dans les taux observés en fin de suivi sur les différents sites.

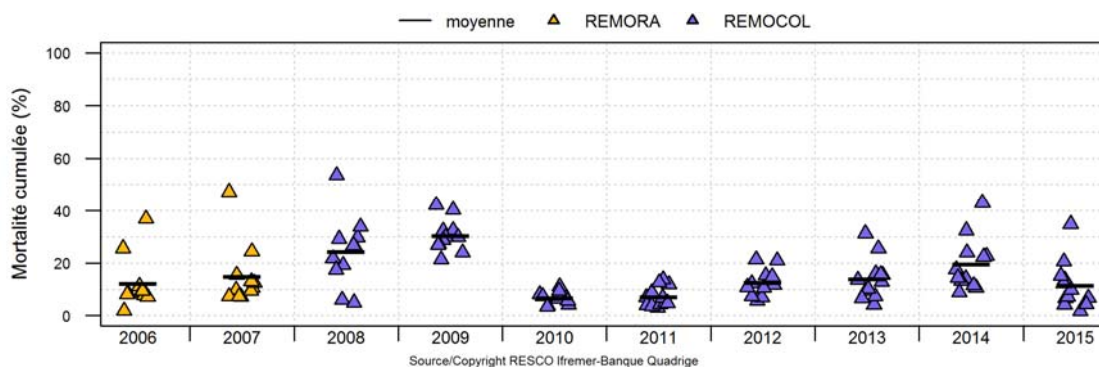


Figure 21: Taux de mortalité moyens des lots de naissain « »6 mois » CN\_Arc (2006-2014) puis NSI (2015) obtenus sur les différents sites suivis par les réseaux REMORA et RESCO, puis par ECOSCOPA.

En ce qui concerne les 6 sites suivis par ECOSCOPA, la figure 22 met en évidence que le site de la Pointe du Château (rade de Brest) a présenté au cours de ces dernières années de taux de mortalité moyens sur le lot «18 mois» plus élevés et surtout plus variables que sur les autres sites. Cependant, le taux de mortalité observé en 2015 sur ce site est inférieur à la

moyenne de ces 9 dernières années. C'est également le cas pour les sites de Pénerf, Coupelasse, D'Agnas et le Tes. Seul le site de Marseillan est à présent en 2015 un taux de mortalité moyen sur le lot «18 mois» supérieur aux taux observés les années précédentes.

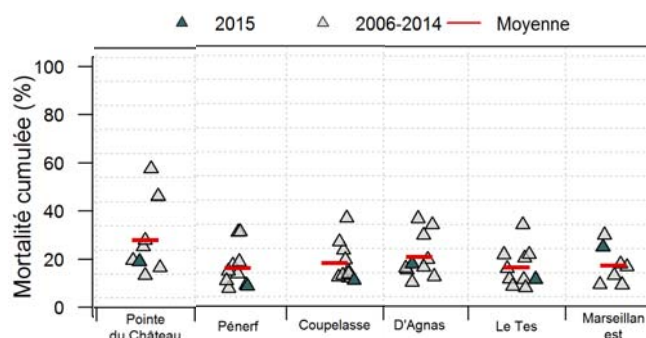


Figure 22: Taux de mortalité moyens obtenus sur le lot «18 mois» sur la période 2006 - 2014 (barre rouge, données REMORA et RESCO), et la mortalité moyenne obtenue sur cette classe d'âge en 2015 (triangle vert) sur l'ensemble des sites atelier ECOSCOPA

A terme, les lots étant conservés sur les sites ECOSCOPA en année N+1 et N+2, il sera intéressant d'étudier si les sites les plus affectés sur les lots de «6 mois» en année N, le sont également pour les lots de «18 mois» et de «30 mois» pour les années N+1 et N+2. Ce type de suivi n'ayant été mis en place que depuis 1 an, nous ne disposons évidemment pas encore du recul nécessaire pour ces analyses. Il en est de même pour les graphiques représentant les comparaisons inter-annuelles des taux de mortalité lot «30 mois»: cette classe d'âge n'étant suivi sur les différents sites que depuis 2 ans, il n'est pas pertinent pour le moment de générer des graphes de comparaison.

## 3.2 Croissance

### 3.2.1 Poids moyen des différents lots suivis en 2015

Les taux de croissance obtenus à la fin des suivis 2015 pour les différentes classes d'âge des lots sentinelles sont présentés dans le tableau 3 et la figure 23.

Lieu	Naissain Standardisé Ifremer			18 Mois (ex-NSI)			30 Mois (ex-18 mois)		
	Moyenne	Ecart-type	Tendance	Moyenne	Ecart-type	Tendance	Moyenne	Ecart-type	Tendance
Pointe du Château	24.6	0.1	►	75.4	1.7	►	89.3	0.7	►
Pénerf - Rouvran	17.8	0.6	►	45.4	0.4	►	59.8	2.1	►
Coupelasse	23.6	0.1	►	68.0	0.6	►	99.6	1.2	►
D'Agnas	24.4	1.6	►	62.7	1.2	►	80.4	0.9	►
Le Tes	15.1	1.1	►	54.7	3.7	►	75.4	5.8	►
Marseillan est	14.4	2.8	►	55.9	7.2	►	38.4	2.2	►
Moyenne nationale	20.0			60.4			73.8		
Ecart-type	4.8			10.6			21.9		

Tableau 3: Poids moyen des différents lots sentinelles à la fin des suivis 2015.

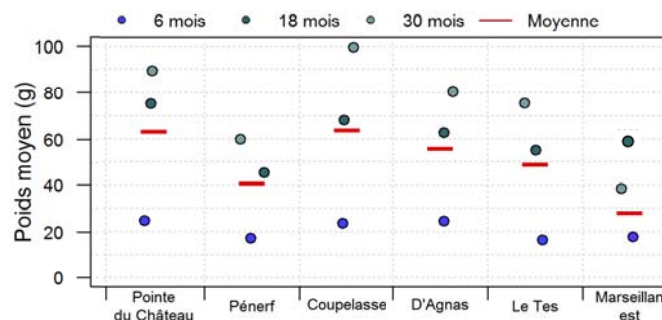


Figure 23 : Comparaison des poids moyen finaux des différents lots sentinelles (« 6 mois » NSI, « 18 mois » et « 30 mois ») sur l'ensemble des sites ECOSCOPA.

Les résultats indiquent que des différences significatives de poids moyens apparaissent en fin de suivi pour le lot sentinelle « 6 mois » NSI suivi sur les 6 sites ECOSCOPA. Plus précisément, les sites de Pénerf, Le Tes ou Marseillan présentent des poids moyens finaux pour le lot sentinelle « 6 mois » NSI légèrement inférieurs aux autres sites étudiés (figure 23). De plus, la figure 24 représentant les courbes de croissance du NSI obtenues sur ces différents sites durant les suivis, met en évidence que, malgré des débuts de croissance tardifs, les sites d'Agnas (bassin Marennes Oléron), de Coupelasse (Baie de Bourgneuf) et de la rade de Brest ont ensuite comblé ce retard au printemps pour aboutir à des poids moyens respectifs de 24,4, 23,6 et 24,6g à la fin des suivis.

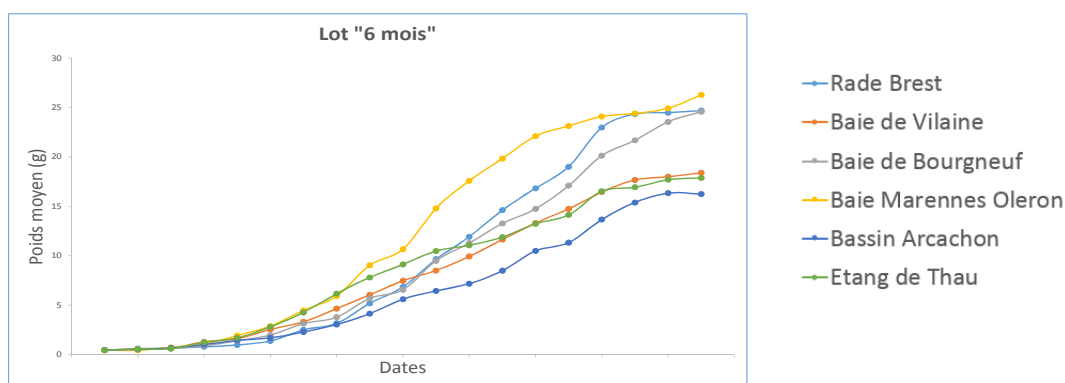


Figure 24 : Courbes de croissance observées pour le lot sentinelle « 6 mois » NSI sur les différents sites ECOSCOPA au cours des suivis 2015.

En ce qui concerne le lot « 18 mois », issu du lot NSI de 2014 et conservé sur l'ensemble des sites, la figure 25 met en évidence de grandes variabilités des poids finaux obtenus à la fin de suivi. Les différences observées en 2014 ont donc été exacerbées en 2015, en lien avec les conditions environnementales propres à chacun des sites. Cependant, il est intéressant de noter que certains sites, tels que Pénerf en baie de Vilaine, présentant déjà de faibles taux de croissance sur le NSI en 2014 (se traduisant par des poids initiaux faibles au début des suivis 2015), présentent encore de faibles taux de croissance à la fin des suivis 2015. En effet, les gains de poids estimés pour ce site (correspondant à la différence entre le poids initial et le poids final obtenu à la fin de la campagne 2015) est de 27,3g. A l'inverse, la croissance observée sur le site de Marseillan est (étang de Thau), relativement faible en 2014 sur le lot NSI, devient plus importante en 2015 sur les lots devenus « 18 mois » (gain de poids estimé à

40,1g). Cette tendance doit être liée au fait que pour les suivis de cette année, les individus du lot sentinelle «18 mois» ont été positionnés sur corde (et non plus en poche), en accord avec les pratiques culturelles locales, favorisant ainsi la physiologie des animaux et leur capacité à croître. Enfin, nous noterons que le site de D'Agnas à Marennes Oléron a présenté une faible augmentation du poids sur le lot «18 mois» contrairement à l'année précédente sur le naissain, probablement en lien avec des conditions hydro-climatiques défavorables rencontrés sur ce secteur (gain de poids estimé à 19,3g).

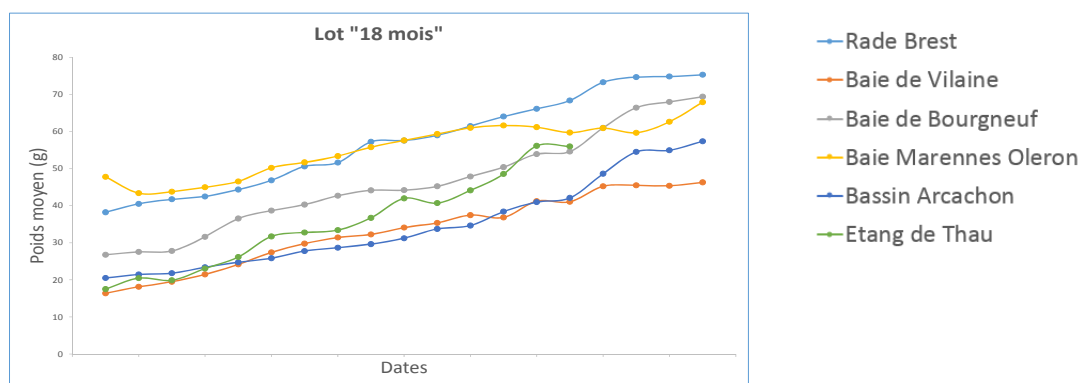


Figure 25 : Courbes de croissance observées pour le lot sentinelle « 18 mois » sur les différents sites ECOCSOPA au cours des suivis 2015.

Enfin, pour le lot sentinelle «30 mois», des observations similaires peuvent être faites. Les faibles croissances observées pour cette classe d'âge dans l'étang de Thau sont liées au fait que les huîtres suivies n'ont pas pu être positionnées sur cordes, et ont été suivies dans des poches, ce qui ne représente pas les pratiques culturelles optimales à appliquer dans ce site de production. Ainsi, le gain de poids du lot « 30 mois » pour ce site n'est que de 6,9g. Les sites de Pénerf (baie de Vilaine) et de d'Agnas (Marennes Oléron) présentent, comme pour le lot «18 mois», des courbes de croissance assez médiocres (gains de poids respectifs de 2,5 et 17,4g), alors que le site du Tes (bassin d'Arcachon) atteint un poids moyen final sur ce lot plus élevé (gain de poids 37,1g). Ces disparités seront donc très intéressantes à approfondir, notamment d'un point de vue modélisation, pour comprendre quels sont les facteurs influençant le plus les variations de taux de croissance d'une année sur l'autre.

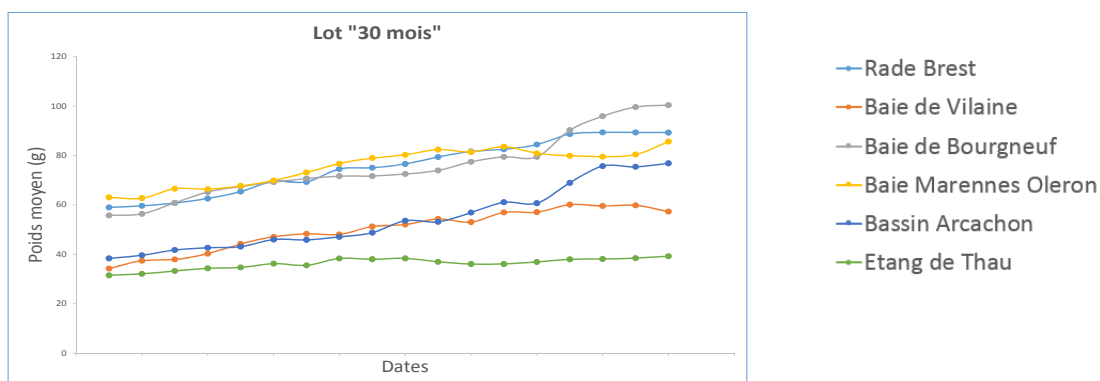


Figure 26 : Courbes de croissance observées pour le lot sentinelle «30 mois» sur les différents sites ECOCSOPA au cours des suivis 2015.



### 3.2.2 Comparaison inter-annuelle des taux de croissance

De la même manière que pour les comparaisons inter-annuelles des taux de mortalité, des précautions sont à prendre dans les interprétations des comparaisons des taux de croissance, compte-tenu de l'introduction de nouveaux lots dans les suivis depuis 2014.

En gardant ce biais potentiel à l'esprit, la figure 27 indique que les poids moyen finaux du lot « 6 mois » NSI obtenus sur les sites ECOSCOPA en fin de suivi sont inférieurs à la moyenne de poids moyens obtenus sur des lots de même classe d'âge sur les 9 dernières années. Ceci est particulièrement le cas pour les sites de Pointe du Château et Pénerf.

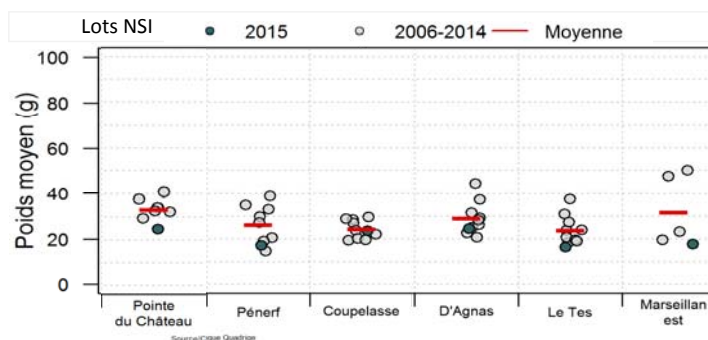


Figure 27 : Poids moyens obtenus sur le lot « Captage Naturel Arcachon » sur la période 2006 - 2014 (barre rouge, données REMORA et RESCO), et la mortalité moyenne obtenue sur le lot NSI en 2015 (rond vert) sur l'ensemble des sites atelier ECOSCOPA

De façon intéressante, la comparaison des poids moyens obtenus sur le lot « 18 mois » en 2015 par rapport aux valeurs obtenues sur des lots de même classe d'âge les 9 dernières années (figure 28) indique que certains sites comme la pointe du Château, Coupelasse ou encore d'Agnas sont largement au-dessus de cette valeur moyenne.

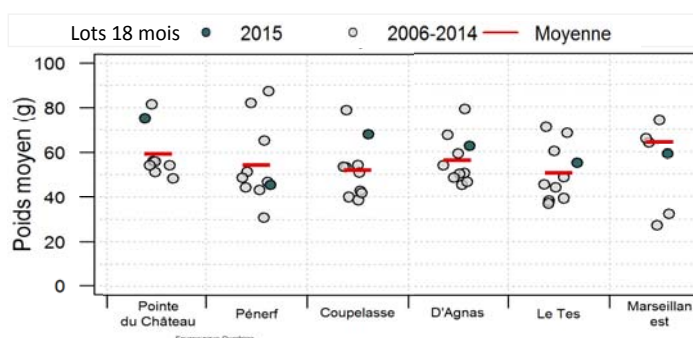


Figure 28 : Poids moyens obtenus sur le lot 18 mois sur la période 2006 - 2014 (barre rouge, données REMORA et RESCO), et la mortalité moyenne obtenue sur le lot 18 mois en 2015 (rond vert) sur l'ensemble des sites atelier ECOSCOPA

Les figures 29 et 30 présentent, respectivement pour les lots « 6 mois » NSI et «18 mois», la typologie des années traduite en termes de gain de poids et de taux de mortalités annuels. En ce qui concerne le lot de naissain, la figure 29 montre que les taux de mortalité observés en 2015 restent relativement élevés depuis 2008, même la tendance est à la baisse par rapport aux 5 dernières années. En opposition avec cette tendance à l'amélioration, le graphique met en évidence que l'année 2015 constitue une année médiocre en terme de gain de poids pour ce lot de naissain, les valeurs moyennes obtenues étant parmi les plus faibles sur ces dix dernières années.

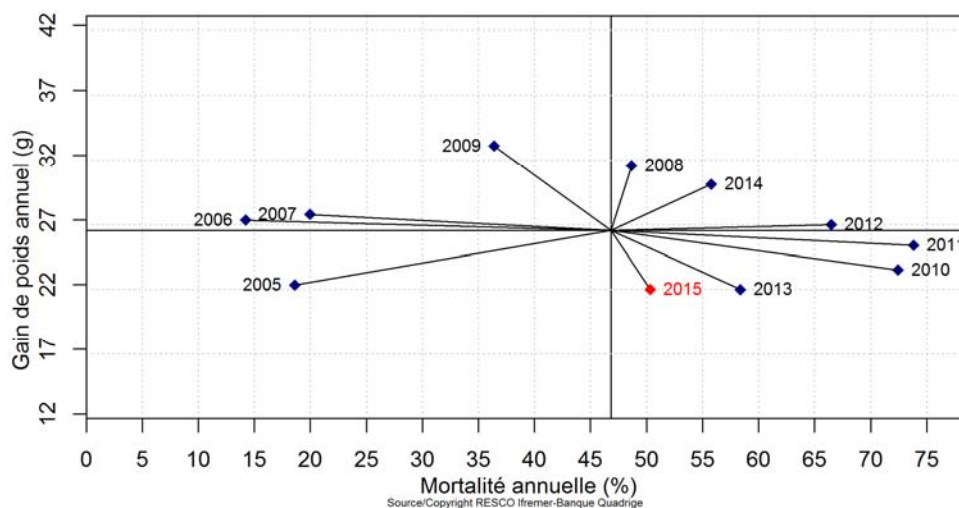


Figure 29: Typologie des années pour les performances annuelles de croissance et de mortalité du lot « 6 mois » NSI. Les axes sont centrés sur la moyenne décennale.

Pour le lot «18 mois», l'année 2015 se révèle faible en terme de taux de mortalité, se rapprochant des valeurs obtenues en 2012-2013. En ce qui concerne le gain de poids, l'année 2015 apparaît, tout pour le lot de naissain, relativement faible en comparaison des gains de poids observés depuis 2005.

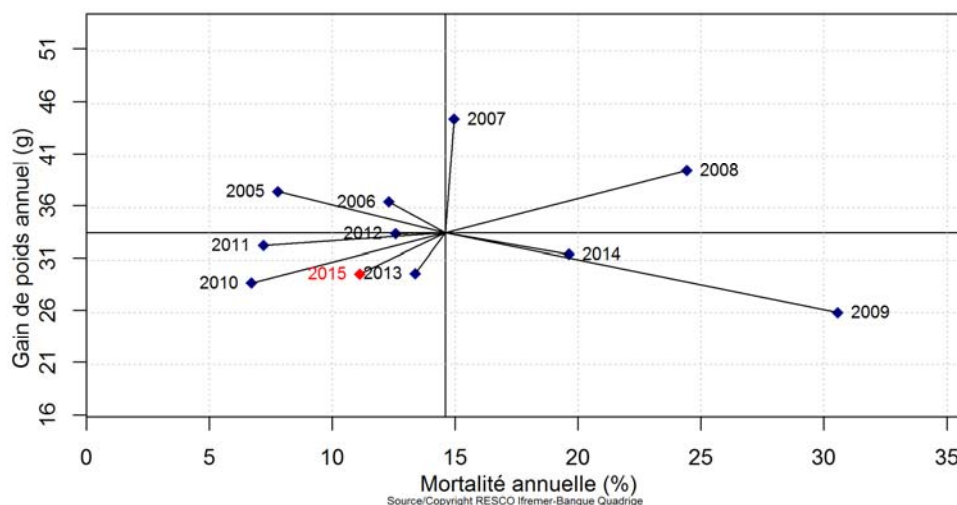


Figure 30: Typologie des années pour les performances annuelles de croissance et de mortalité pour le lot « 18 mois ». Les axes sont centrés sur la moyenne décennale.

Tout comme pour la mortalité, les lots sentinelles étant conservés sur les sites ECOSCOPIA en année N+1 et N+2, il sera intéressant de comparer si les sites propices à des forts taux de croissance sur les lots de «6 mois», le sont aussi pour les classes d'âge supérieures. Cependant, nous ne disposons pas encore du recul nécessaire pour réaliser ces comparaisons. Il en est de même pour les graphiques représentant les comparaisons inter-annuelles des taux de croissance du lot «30 mois», les données n'étant bancarisées que depuis 2 ans.

### 3.3 Indice de condition

Les valeurs maximales des indices de condition avant ponte (i.e. représentant un proxy de la fécondité des huîtres) obtenus sur le lot «18 mois» des sites ECOSCOPIA en 2015 sont représentés dans la figure 31 par les points rouges, en comparaison des années précédentes.

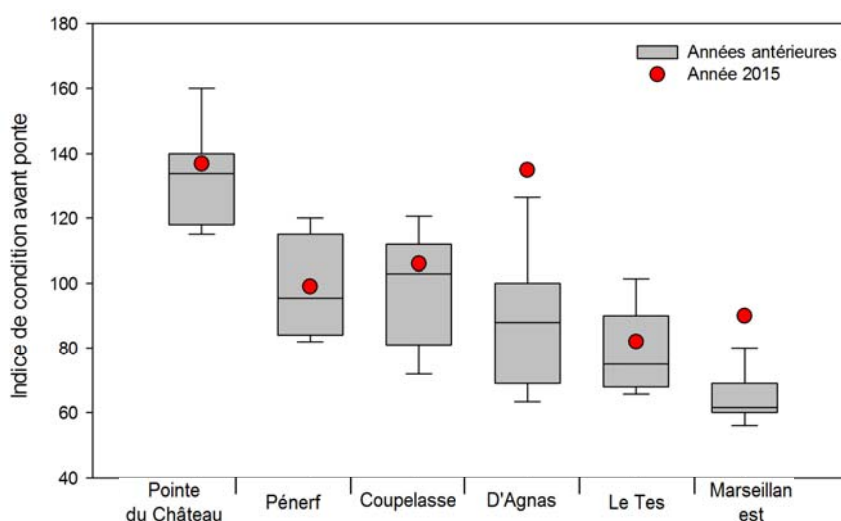


Figure 31 : Valeurs maximales de l'indice de condition sur l'année 2015 et comparaison avec les valeurs antérieures pour site ECOSCOPIA

Pour chacun des sites d'études, on relève, en 2015, les valeurs maximales suivantes :

- Rade de Brest : IC = 137 (contre 144 en 2013 et 159 en 2014)
- Rivière de Pénerf : IC = 99 (contre 92 en 2013 et 84 en 2014)
- Baie de Bourgneuf : IC = 106 (contre 129 en 2013 et 103 en 2014)
- Bassin de Marennes Oléron : IC = 135 (contre 123 en 2013 et 130 en 2014)
- Bassin d'Arcachon : IC = 82 (contre 86 en 2013 et 67 en 2014)
- Lagune de Thau : IC = 90 (contre 69 en 2013 et 63 en 2014)

Ces valeurs sont un peu en retrait en 2015 par rapport aux années précédentes, à l'exception des sites de D'Agnas (Marennes Oléron) et de Marseillan est (Etang de Thau). En terme de variabilité inter-sites, cette année se caractérise, à nouveau, par des valeurs d'indice de condition plutôt élevées pour les « sites nord » (rade de Brest, Pénerf, baie de Bourgneuf et pertuis charentais) et plutôt faibles pour les « sites sud » (bassin d'Arcachon et lagune de Thau). Ce constat est souvent le même chaque année (e.g. Pouvreau et al., 2011) avec, tout

de même, une gamme de valeurs plus restreinte que pour les années précédentes allant de 137 en rade de Brest à 82 dans le bassin d'Arcachon. Notons que l'ensemble de ces résultats est intégré dans les suivis du réseau VELYGER et fait l'objet d'analyses plus détaillées dans le rapport associé (Pouvreau et al., 2015, rapport annuel VELYGER).

### **3.4 Paramètres environnementaux**

#### 3.4.1 Température

Les enregistrements haute fréquence de température effectués via les sondes SMATCH et les sondes STPS positionnées sur les différents sites ECOCSOPA ont permis d'obtenir, en continu, les données de température sur l'ensemble des sites-ateliers. La figure 32 représente la température de l'eau de mer (moyenne journalière calculée à partir de données hautes fréquences) et son degré d'anomalie par comparaison à la normale. Les résultats observés indiquent que l'année 2015 se caractérise, de façon plus ou moins marquée selon les sites, par les faits suivants :

- l'hiver est marqué par une température de l'eau supérieure aux normales avec, en février sur certains secteurs, des anomalies de l'ordre de +2°C ;
- le printemps présente des valeurs très proches des normales avec juste quelques anomalies sur de courte période ;
- l'été se caractérise par des températures de l'eau élevées, avec des anomalies de +3°C en rade de Brest ou dans la lagune de Thau en plein cœur de l'été. A noter que ces anomalies positives se maintiennent jusqu'en fin d'été. Seul le mois d'août présente des valeurs dans les normales ;
- l'automne se positionne, dans son intégralité, au-dessus des normales.

Enfin, d'une façon plus générale, on retiendra, pour l'année 2015, une température de l'eau plus élevée que la normale tout au long de l'année.

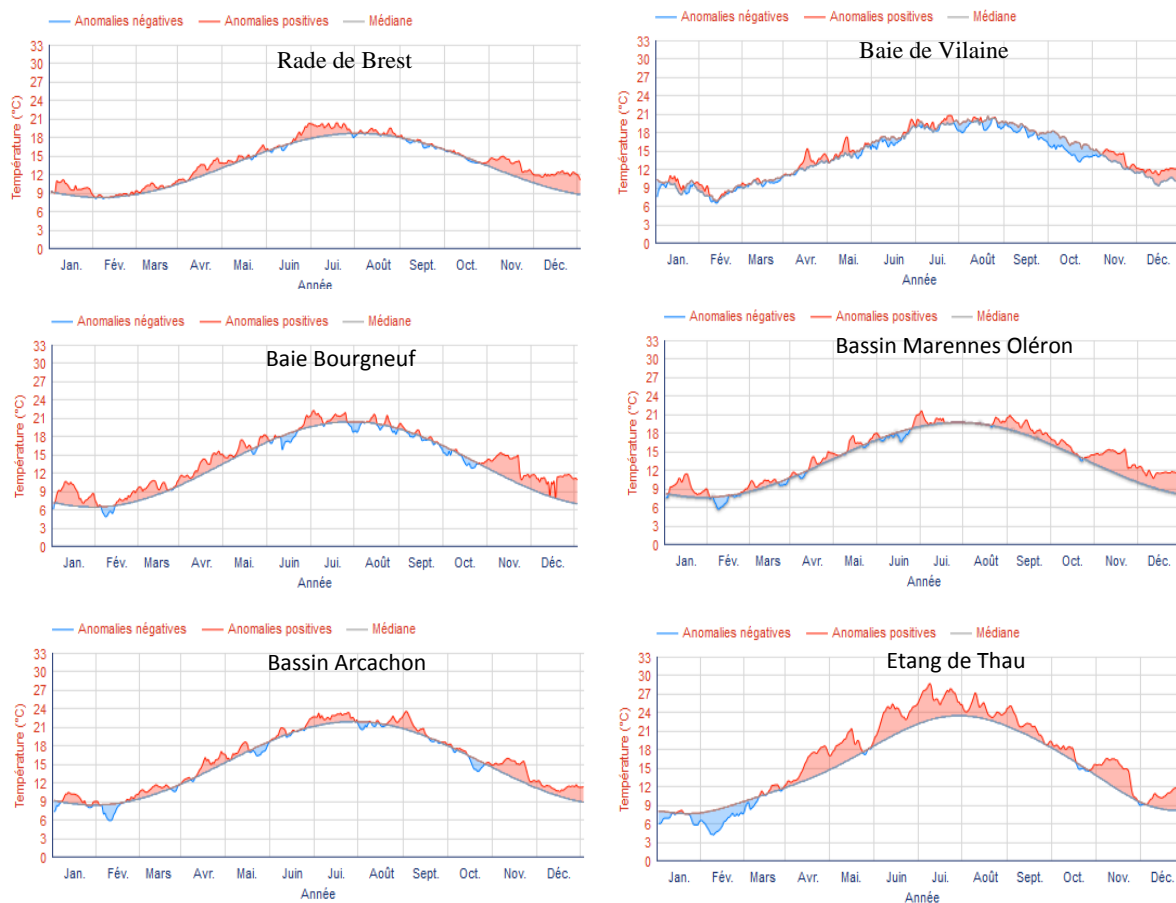


Figure 32 : Température moyenne journalière de l'eau de mer en 2015 et anomalies par rapport à la normale des 30 dernières années pour les 6 sites ECOSCOPA. Les périodes à anomalie thermique positive apparaissent en rouge, celles à anomalie thermique négative en bleu.

### 3.4.2 Salinité

En ce qui concerne les suivis de salinité, il est important de noter que la proximité des sites ECOSCOPA d'estuaires implique la forte corrélation entre la salinité et le débit des rivières adjacentes ; ce même débit étant dû à la combinaison des précipitations des jours précédents et de la sécheresse des sols.

L'hiver 2014-2015 a été marqué par une pluviométrie légèrement excédentaire sur les sites d'intérêts (source Météo-France) : cela a entraîné des valeurs de salinité journalière faibles avec plusieurs crues visibles, représentées sur la figure 33. Ensuite, malgré un printemps caractérisé par un temps doux et sec, on retrouve l'influence des crues locales sur les sites de la Rade de Brest, de la Baie de Vilaine et de la baie de Bourgneuf au cours de deux épisodes début Avril et mi-Mai. Notons que l'été chaud de 2015, associé à des pluies peu abondantes a permis d'atteindre 35 PSU sur la côte Atlantique et 39,8 PSU dans la lagune de Thau. Enfin, sur l'ensemble des sites, l'automne se manifeste par une transition vers des eaux plus douces au cours de mi-Novembre.

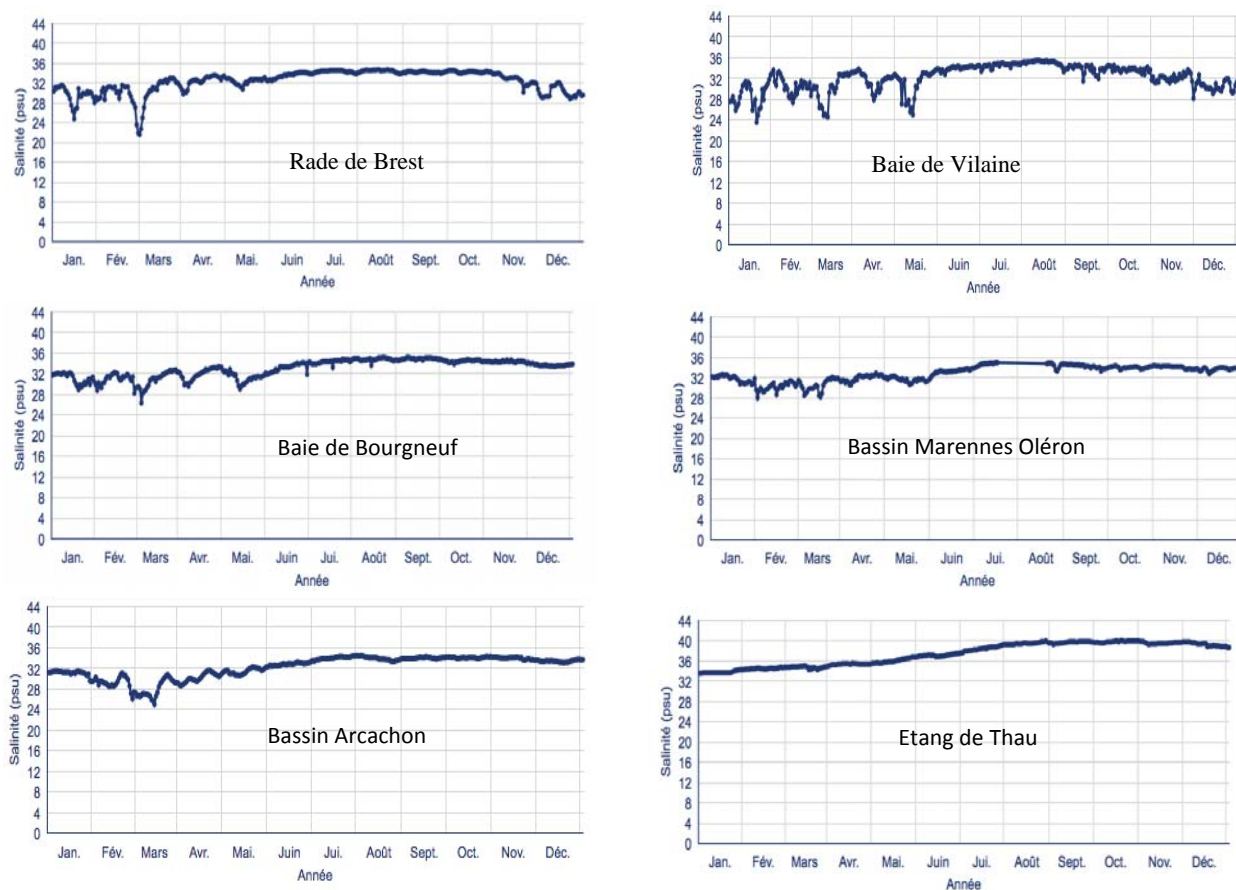


Figure 33 : Salinité moyenne journalière de l'eau de mer en 2015 pour les 6 sites ECOSCOPA.

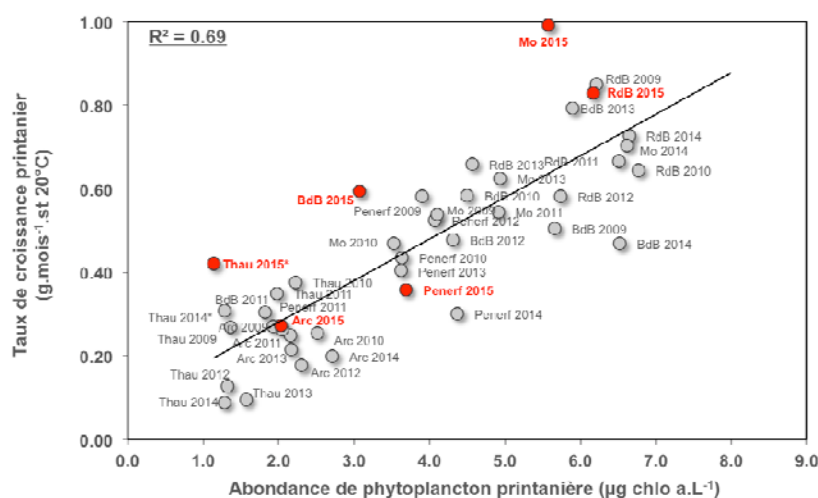
### 3.4.3 Concentrations phytoplanctoniques

Parmi les différents forçages environnementaux, le phytoplancton (en quantité et qualité) constitue l'un des facteurs permettant d'expliquer la variabilité spatio-temporelle de l'indice de condition et de la fécondité observés (Pouvreau et al., 2011). Ainsi, la Figure 34 illustre les relations actualisées pour 2015, pour chacun des sites, entre la concentration en phytoplancton (ici l'abondance phytoplanctonique en  $\mu\text{g chloa.L}^{-1}$ , enregistrée tout au long de la maturation et à proximité des populations sentinelles) et les paramètres physiologiques liés à la maturation (indice de condition maximal des huîtres mesuré en juillet juste avant la ponte et taux de croissance printanier standardisé). Ces relations présentent systématiquement de forts coefficients de corrélation.

D'une façon générale, les couples sites-années, caractérisés par de faibles valeurs de d'abondance phytoplanctonique associés à de faibles valeurs de maturation, concernent plus particulièrement les sites sud (bassin d'Arcachon et lagune de Thau). A l'opposé, la rade de Brest présente systématiquement les valeurs les plus élevées d'abondance phytoplanctonique associées à de très fortes valeurs d'indice de condition ou de taux de croissance. Ce schéma conforte clairement l'existence du gradient Nord-Sud déjà mis en évidence dans le cadre du réseau VELYGER et le relie à la concentration en phytoplancton.

Plus particulièrement, pour l'année 2015, l'analyse du nuage de points montre que :

- La rade de Brest se caractérise toujours par de très fortes valeurs d'indice de condition ou de taux de croissance associées à de fortes valeurs de concentration phytoplanctonique, mais c'est aussi le cas pour le bassin de Marennes-Oléron cette année.
  - La baie de Bourgneuf ainsi que le secteur Baie de Vilaine (rivière de Pénerf) ajoutée ici se positionnent aussi dans la partie centrale du nuage de points, à noter tout de même des valeurs un peu en retrait par rapport aux années antérieures.
  - Le bassin d'Arcachon présente, de façon analogue aux autres années, des valeurs plutôt faibles, du même niveau que celles enregistrées dans la lagune de Thau.
- Enfin, d'une façon générale, les données de 2015 confirment le très fort gradient entre la lagune de Thau et la rade de Brest qui s'explique au moins en partie grâce à la biomasse phytoplanctonique de ces secteurs.



RdB : Rade de Brest  
 Pénerf : rivière de Pénerf  
 BdB : Baie de Bourgneuf  
 Mo : Bassin de Marennes Oléron  
 Arc : Bassin d'Arcachon  
 Thau : Etang de Thau

Figure 34 : Relation entre la concentration en phytoplancton (µg chloa.L-1) et le taux de croissance printanier standardisé des huîtres sentinelles 18 mois placées dans chaque bassin depuis 2008.

## 4. Descripteurs physiologiques : validation de marqueurs précoces de la réponse de l'huître aux mortalités

### 4.1 Contexte de l'étude

Les résultats acquis au cours de précédentes études ont permis de montrer que la sensibilité de l'huître face aux agents infectieux pouvait être liée à son statut physiologique, mais aussi à son patrimoine génétique (Fleury et al., 2010 ; Pernet et al., 2014 ; Degremont et al., 2015). En effet, afin de s'adapter aux conditions environnementales et de lutter contre les agents infectieux, les huîtres ont la capacité de modifier leur réponse physiologique. De plus, plusieurs expérimentations réalisées en laboratoire ont mis en évidence que le métabolisme de l'huître peut être altéré dès les premiers moments de l'infection, bien avant que les agents pathogènes ne conduisent à la mort de l'individu (De Lorgeril et al., 2011 ; Rosa et al., 2012). A l'échelle de la cellule, cela se traduit par la réplication du virus, modifiant le bon fonctionnement de la machinerie cellulaire et induisant l'apoptose des cellules. A l'échelle de l'individu, cela se traduit par l'activation de certaines fonctions du métabolisme, et à la modification de l'expression de gènes impliqués dans la réponse de l'huître face aux infections. Autrement dit, avant l'apparition de mortalité, il est possible d'observer chez certaines huîtres de fortes modifications métaboliques se traduisant par des variations significatives de l'expression de certains gènes « cibles » impliqués dans les fonctions de défense de l'huître. La mortalité de l'individu constituant un indicateur trop tardif et irréversible de l'exposition de l'huître aux agents infectieux présents dans le milieu marin, l'objectif global de l'étude proposée ici est d'identifier des gènes dont les variations d'expression pourraient servir d'indicateurs précoces de la réaction positive de l'huître face aux agents infectieux, et ainsi faciliter la mise en place d'un seuil d'état d'alerte vis-à-vis des mortalités. Pour ce faire, une première étude nommée PHYSITU (statut PHYsiologique de l'huître in SITU) a été réalisée en 2014 dans le but d'étudier des gènes candidats préalablement identifiés expérimentalement comme impliqués dans la réponse de l'huître aux infections et aux modifications environnementales (Fleury et al., 2015). Ces gènes candidats ont ensuite été hiérarchisés selon la pertinence de leur annotation (*i.e.* fonction potentiellement impactée lors des mortalités) et leur fréquence d'identification dans les différentes publications, pour aboutir à une liste de 14 gènes dont l'expression a été mesurée sur des lots de naissain au cours d'un phénomène de mortalité *in situ*. Au final, les analyses statistiques ont mis en évidence que les expressions de 4 gènes variaient significativement en fonction des périodes de pré-mortalités et de post-mortalités. La présente étude se situe donc dans la poursuite et la validation de ces résultats prometteurs.

### 4.2 Objectifs

Compte-tenu du contexte décrit ci-dessus, l'étude a pour objectif de valider la pertinence des 4 gènes candidats pré-sélectionnés par l'étude PHYSITU. Plus précisément, le but est de tester la robustesse des 4 gènes candidats sélectionnés dans d'autres conditions et ainsi de confirmer leur intérêt en tant qu'indicateur précoce des mortalités. En d'autres termes, l'étude



consiste à vérifier statistiquement parlant, si les variations d'expression de ces 4 gènes peuvent être prédictives de l'intensité des mortalités finales.

Pour ce faire, 30 lots de naissains d'huîtres issus de captage naturel de provenance différentes ont été constitués, marqués individuellement, puis sont déployés *in situ* en « jardin commun » (c'est-à-dire regroupés au sein d'une même poche pour ne pas créer de biais inter-poches) sur un site régulièrement impacté par les mortalités estivales. Des prélèvements d'une dizaine d'individus de chaque lot ont été réalisés peu avant l'apparition des premières mortalités, et ont été utilisés pour réaliser les mesures d'expression des 4 gènes candidats, ainsi que les mesures de charge virale en OsHV-1 sur ces mêmes individus par PCR quantitative. Le reste des lots a été conservé sur site jusqu'à la fin du phénomène pour estimer un taux final de mortalité cumulée pour chacun des lots. *In fine*, l'exploitation des résultats a été orientée :

- au niveau individuel, sur la relation entre les variations d'expression des gènes et les variations de charges virales.
- au niveau des lots, sur la relation entre les variations moyennes d'expression des gènes et les variations de taux moyens de mortalité cumulée observées pour ces mêmes lots.

### 4.3 Mise en œuvre

#### 4.3.1 Matériel biologique

Pour la réalisation du plan expérimental de cette étude, 30 lots d'environ 500 huîtres au stade naissain issus de captages naturels de provenance différentes (Figure 35) ont été récupérés puis déployés sur le site d'étude de Larmor Baden (site suivi dans le cadre du RESCO et régulièrement impacté par les mortalités). Chacun des lots a été mis en poche de mailles de 4mm, puis disposé sur des tables ostréicoles du site d'étude. L'ensemble des lots a ensuite été laissé sur site durant un mois, ce qui leur a permis de s'acclimater aux conditions hydrobiologiques du site avant que les huîtres ne soient marquées puis rassemblées en jardin commun.

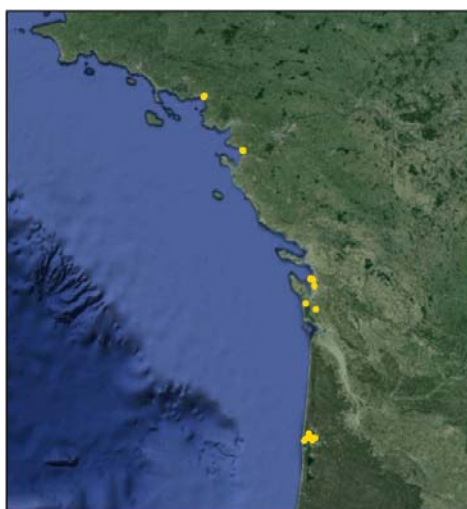


Figure 35 : Cartographie des différents lieux de captages des lots de naissain utilisés pour l'étude des marqueurs physiologiques

Pour chaque lot, 100 huîtres ont été prélevées indépendamment et aléatoirement puis marquées à l'aide d'étiquettes de couleur rouge marquées d'un code identifiant chacun des lots et fixées sur la valve supérieure grâce à une résine époxy translucide (Figure 36). Celle-ci a été déposée de manière à ne pas gêner l'ouverture des deux valves. Cette étape (réalisée au LER de Port en Bessin) a donc permis l'identification de chacun des 30 lots avant qu'ils ne soient rassemblés en poche commune.



Figure 36 : (a) Étiquette trempée dans la résine, (b) Huîtres à marquer, (c) Huître marquée

Un « jardin commun » a donc ensuite été constitué afin d'obtenir 3000 huîtres (100 huîtres marquées x 30 lots) en mélange équiproportionnel dans une seule poche. Pour laisser aux huîtres la place de se développer dans un même environnement, il a été décidé de constituer 3 poches « jardin commun » identiques afin d'obtenir des répliquats biologiques indépendants des uns des autres. Pour ce faire, 33 huîtres marquées de chacun des 30 lots ont été regroupées dans une même poche de culture (maille 6 mm), soit 990 huîtres (33 huîtres x 30 lots). Au final, 3 poches contenant respectivement 990 huîtres en mélange homogène sont obtenues et dénommées par la suite « Poche 1 », « Poche 2 », et « Poche 3 ». Les 3 poches étude « common garden » ont été déployées le 22 avril 2015 sur le site d'étude.

#### 4.3.2 Suivis de mortalité et échantillonnages

Un premier prélèvement (T0) a été réalisé le 7 Avril 2015 de manière à avoir une caractérisation de chacun des 30 lots avant leur déploiement sur le site d'étude. Pour cela, 10 huîtres de chaque lot ont été prélevées et les paramètres suivants ont fait l'objet de mesures : longueur de l'individu, masse totale (de l'huître fermée), masse de chair, et masse de coquille (de l'huître décoquillée).

Le marquage individuel de 100 huîtres de chaque lot a été réalisé le 21 Avril 2015 (T1) avant de redéployer les huîtres en « jardin commun » tel que décrit précédemment. Des suivis réguliers des mortalités des poches associées à l'étude ont été effectués selon la même fréquence que celle prévue dans le cadre d'ECOSCOPA. Des prélèvements en vue des mesures d'expression et d'analyses pathologiques étaient également réalisés lors de chaque passage, car la cinétique d'apparition des mortalités sur ces poches n'était pas connue a priori. Une fois le pic de mortalité observé (3 juin 2015, avec une mortalité estimée à 30% sur l'ensemble des poches), il a donc été décidé d'analyser les animaux prélevés lors de marée précédant l'apparition de ce pic (T2, 18 mai 2015). Le reste des lots non prélevés ont ensuite été laissés sur site, puis ramenés au laboratoire au mois de Juillet (T3) pour une estimation des taux de mortalité cumulé finaux de chacun des 30 lots marqués (figure 37).

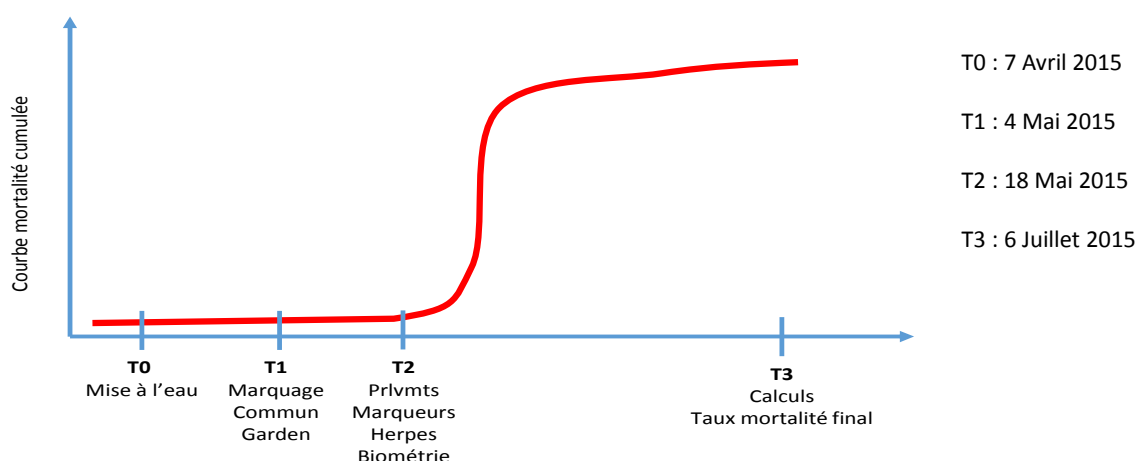


Figure 37 : Principaux temps de prélèvements et d'analyses réalisés au cours de l'étude et des suivis de mortalité associés

#### 4.3.3 Paramètres mesurés

##### ➤ Mesures d'expression de gènes

D'après les résultats obtenus dans le cadre de l'action PHYSITU 2014, il a été décidé pour cette action 2015 de réaliser les mesures d'expression de gènes sur 4 candidats ayant présenté des variations d'expression significatives entre les périodes de pré-mortalités et de post-mortalités (Fleury et al., 2015). Il s'agit des gènes Catalase (Cat), Transcription factor Rel1 (CgRel), Dopamine (Dop), et NF-Kappa-B inhibitor 2 (Ikb2) présentés dans le tableau 4, dont les variations d'expression ont été mesurées par qPCR sur les individus prélevés dans chacun des 30 lots, au temps T2. Ces mesures d'expression de gènes ont été réalisées au PFOM/LPI sur le Centre Ifremer Bretagne à Plouzané (UMR LEMAR), selon les protocoles courants du laboratoire.

Nom du gène	Abréviation	Primer Foward	Primer Reverse	Genbank	Provenance des amorces	Fonction
Catalase	CAT	CACCGGACGGTTA TAGGAGA	TGCAGAAGACTGGT TTGTCG	AM853618	Fleury <i>et al.</i> , 2012, J. Normand <i>et al.</i> , 2014	Système anti- oxydant
Dopamine receptor	DOP	CGGTGTTTGTAAT GTGCTG	ATCACGAGTAAGGC GACGAG	FP091069	Fleury <i>et al.</i> , 2012, J. Normand <i>et al.</i> , 2014	Développement, reproduction, allocation de l'énergie, système immunitaire
NF-Kappa-B inhibitor 2	Ikb2	CAACGACAAACTG AGGCAGA	CGTTATTTCGCCTT GTGGT	AM856743	Fleury <i>et al.</i> , 2012, J. Normand <i>et al.</i> , 2014	Système immunitaire
Transcription factor Rel 1	Cg Rel	GCTGAACCGAAGC CTCATGA	CGAAGGACATGTTCT GATCC	AAK72690	TJ Grenn, <i>et al.</i> , 2014	Système immunitaire

Tableau 4 : Liste des gènes candidats sélectionnés pour l'étude.

### ➤ Charge en OsHV-1

La mesure de la charge virale en OsHV-1 a été réalisée en parallèle par le laboratoire agréé LDA 50 (Laboratoire Départemental d'Analyses de la Manche) sur le manteau prélevé sur les mêmes individus que ceux utilisés pour les mesures d'expression de gènes au temps T2 (18 Mai 2015). Pour ce faire, un protocole standardisé suivant la méthode Taqman fourni par le LNR de la Tremblade est employé. Les résultats nous ont été fournis en Unité Génomique d'herpès virus OsHV-1 pour 50mg de manteau (figure 38).

RAPPORT D'ANALYSES			
Dossier n° : 7IFR-TRINI-20150612-27356		IFREMER - Station de la TRINITE	
Echantillons : de 20150612-156362 à 20150612-156632		12, rue des Résistants	
Origine : IFREMER LA TRINITE		CS 13102	
N° de Rapport :		56470 LA TRINITE SUR MER	
Date de réception	21/05/2015	échantillons	271 chairs congelées de naissains d'huîtres
Heure d'enregistrement			
Date de prélèvement		Code échantillon	Manip. ECOSCOPA
Heure de prélèvement		Observations	Méthode Taqman
Prélevé par	IFREMER		

Echantillon	RESULTAT	identification	remarques
	HERPES VIRUS OsHV-1 (UG/50mg)	interne	pois insuffisant
1.1	Absence	1	
1.2	6,00E+02	2	
1.3	1,90E+04	3	
1.4	1,90E+08	4	38mg
1.5	1,10E+07	5	41mg
1.6	2,10E+04	6	
1.7	7,20E+03	7	

Figure 38 : Rapport d'analyses du LDA 50 pour les mesures du taux de l'Herpès virus dans les échantillons prélevés au T2.

#### 4.3.4 Traitement des données

Les variables explicatives ont donc été échantillonnées au tout début du processus infectieux, et sélectionnées sur la base de leur implication probable dans la modulation de celui-ci. Deux variables à expliquer ont été considérées :

- **à l'échelle de l'individu**, où l'observation (individu statistique) est constituée par un individu « huître » pris séparément. Dans ce cas, l'objectif est d'analyser les corrélations entre la variation des caractères physiologiques mesurés à l'échelle de l'individu (longueur de l'huître, masse de l'huître, mesure d'expression pour un gène donné, etc.), avec celle d'une variable d'intérêt décrivant l'intensité du processus infectieux (caractérisé par la charge de l'huître en OsHV-1). Dans ce cas, toutes les variables ont été échantillonnées au cours de premiers stades du processus d'infection.

- **à l'échelle du lot**, où l'observation (individu statistique) est constituée par un groupe d'huîtres formant le lot. Dans ce cas, la variable d'intérêt est approchée par le taux de

mortalité du groupe mesuré à la fin du pic de mortalité. Les données utilisées pour calculer les variables explicatives sont les mêmes que précédemment (longueur de l'huître, masse de l'huître, mesure d'expression pour un gène donné, etc.) : la moyenne arithmétique des résultats individuelles a simplement été calculée pour obtenir une valeur caractéristique du lot d'huîtres.

Pour réaliser ces analyses, deux stratégies d'analyses ont été privilégiées :

- le Modèle Linéaire (LM)

A l'échelle de l'individu, la variable d'intérêt est constituée par la quantité de copies d'ADN d'OsHV-1 pour 50 mg de tissu. Après transformation, cette variable présentait les qualités requises (distribution des résidus proche d'une Loi Normale et homoscedasticité) pour être analysée à l'aide de modèles linéaires. Un modèle de la forme  $y_i = x_{1,i} a_1 + \dots + x_{n,i} a_n + c + e$  a donc été ajusté aux données. Après ajustement, une analyse de la variance (anova et test de Fisher) a été réalisée afin de tester la significativité des effets considérés par le modèle au regard de la variance totale du jeu de données. Une représentation graphique des relations entre variables à expliquer et variables explicatives a également été produite.

- le Modèle Linéaire Généralisé (GLM)

L'utilisation du modèle linéaire généralisé (GLM) s'est imposée pour le traitement des résultats à l'échelle du lot. Il est en effet approprié car la variable à expliquer (taux final de mortalité cumulé) n'est pas une variable continue, mais est en réalité sous-tendue par un caractère ne pouvant prendre que deux valeurs 0 [vivant] ou 1 [mort]. Par construction, une telle variable ne suit pas une Loi Normale mais une loi de distribution de type Loi de Poisson ou encore de type Loi Binomiale et ne peut se conformer aux contraintes imposées par l'utilisation des modèles linéaires (notamment, l'homoscedasticité de la variance). Un modèle de la forme :

$\text{logit}(y_i) = x_{1,i} a_1 + \dots + x_{n,i} a_n + c + e$  a donc été ajusté aux données. Après ajustement, la significativité des effets considérés par le modèle a été testée grâce à un test de  $\text{Khi}^2$  (le plus adapté à ce type de données de comptage). Une représentation graphique des relations entre variables à expliquer et variables explicatives a également été produite, comme cela avait été réalisé pour les modèles linéaires.

Toutes les analyses statistiques de cette étude ont été réalisées avec le logiciel R version 3.1.0.

### 4.3.5 Résultats

#### ➤ Cinétique de mortalité et variations inter-lots

Comme précisé dans le paragraphe 4.3.2, une hausse significative de mortalité a été observée sur les différents lots suivis en jardin commun le 3 juin 2015, avec une mortalité instantanée estimée à plus de 30% sur les 3 poches. Ce pic de mortalité a également été observé sur les lots de naissain suivis dans le cadre du réseau RESCO sur le même site d'étude. ([https://wwz.ifremer.fr/observatoire\\_conchylicole/](https://wwz.ifremer.fr/observatoire_conchylicole/)).

Comme attendu, les taux de mortalités finaux mesurés au T3 dans les poches jardin commun, après le phénomène de mortalité, ont présenté une forte variabilité entre les lots testés (figure 39). Les proportions de mortalité estimées étaient ainsi comprises entre 14 et 47% de l'effectif initial (respectivement pour les lots 11 et 1).

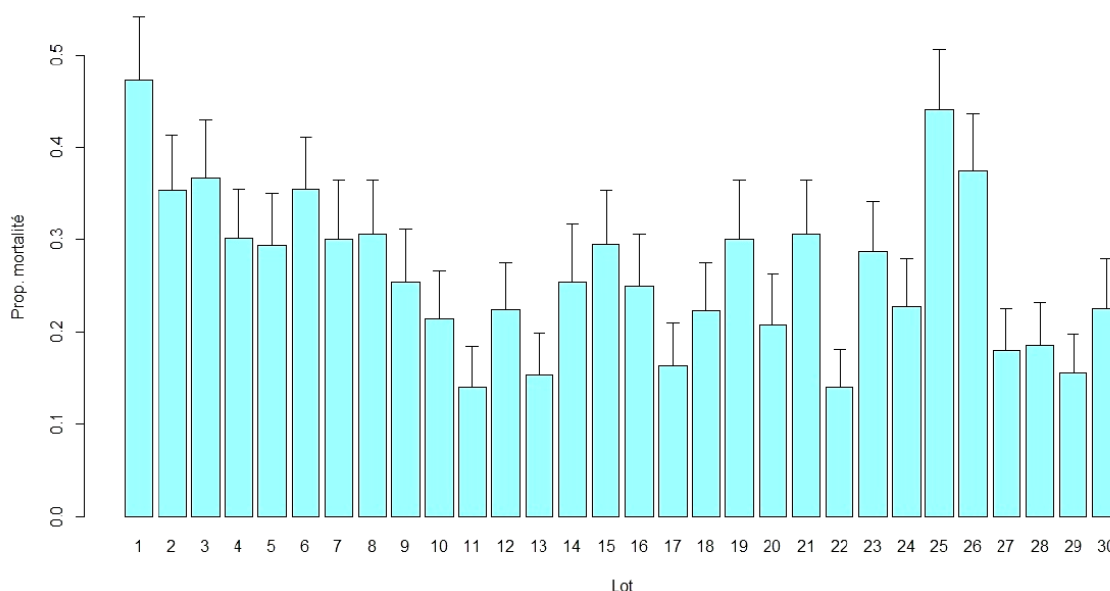


Figure 39 : Variation inter-lots des mortalités dans les poches en jardin commun, proportions et intervalles de confiance à 95%.

#### ➤ Variation inter-lots de la charge en OsHV-1

Les analyses ont montré également une forte variabilité entre les lots pour les mesures de charges virales à T2 (figure 40). Les valeurs, exprimées en  $\log(\text{OsHV-1}) + 1$  pour 50 mg de manteau, basées sur une moyenne de 10 individus par lot, étaient ainsi comprises entre 7,19 et 13,5  $\log(\text{OsHV-1}) + 1$  UG/50 mg.

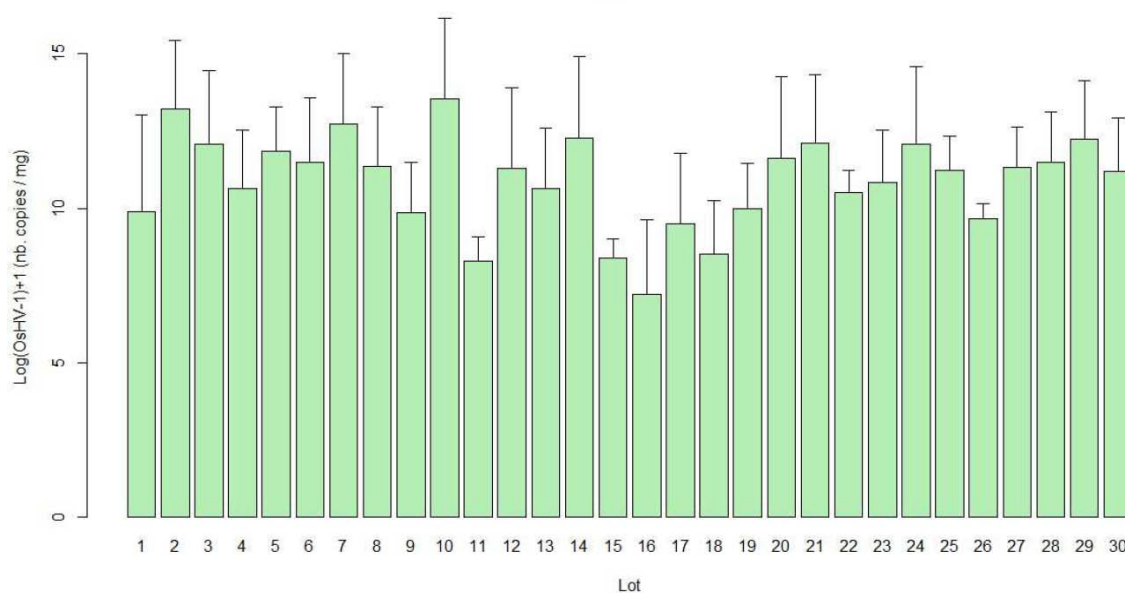


Figure 40 : Variation inter-lots des charges virales Log (OsHV-1 + 1) nb. copies / 50 mg, moyenne des mesures effectuées sur 10 individus et intervalles de confiance à 95%.

#### ➤ Analyse de la variation inter-lots des proportions de mortalité

L'analyse des corrélations multiples entre la variable d'intérêt (taux final de mortalité cumulée observée dans les poches jardin commun, mesuré au temps final T3), et les autres variables potentiellement explicatives (Masse Totale, Indice de Condition, et Expression des gènes mesurés à T2) a permis d'effectuer une sélection des variables d'intérêt les plus pertinentes (Figure 38). En effet, la figure 41 représente l'histogramme des distributions, pour chacune des variables, est donné par la diagonale de la matrice. Les graphiques situés en bas et à gauche de cette diagonale figurent les relations bivariées entre les variables, prises 2 à 2 (les cercles noirs vides figurent les observations  $n = 30$  lots et la ligne rouge correspond au modèle linéaire  $y = ax + b$  ajusté aux observations). Les  $R^2$  de Pearson correspondants sont situés symétriquement en haut et à droite de la diagonale. Les cadres rouges mettent en exergue les relations entre la variable à expliquer et les variables explicatives pour lesquelles le  $R^2$  est  $> 0,30$ . Variation inter-lots des charges virales Log (OsHV-1 + 1) nb. copies / 50 mg, moyenne des mesures effectuées sur 10 individus et intervalles de confiance à 95%.

Ainsi, la proportion de mortalité cumulée mesurée à T3 dans les poches en common garden semble corrélée ( $R^2 > 0,30$ ) avec la Masse Totale (moyenne de 10 individus par lot) et l'expression des gènes Cg Rel et Ikb2 [exprimés par : Log ( Qr Cg Rel + 1 ), et Log ( Qr Ikb2 + 1 ) ; moyennes de 10 individus par lot].

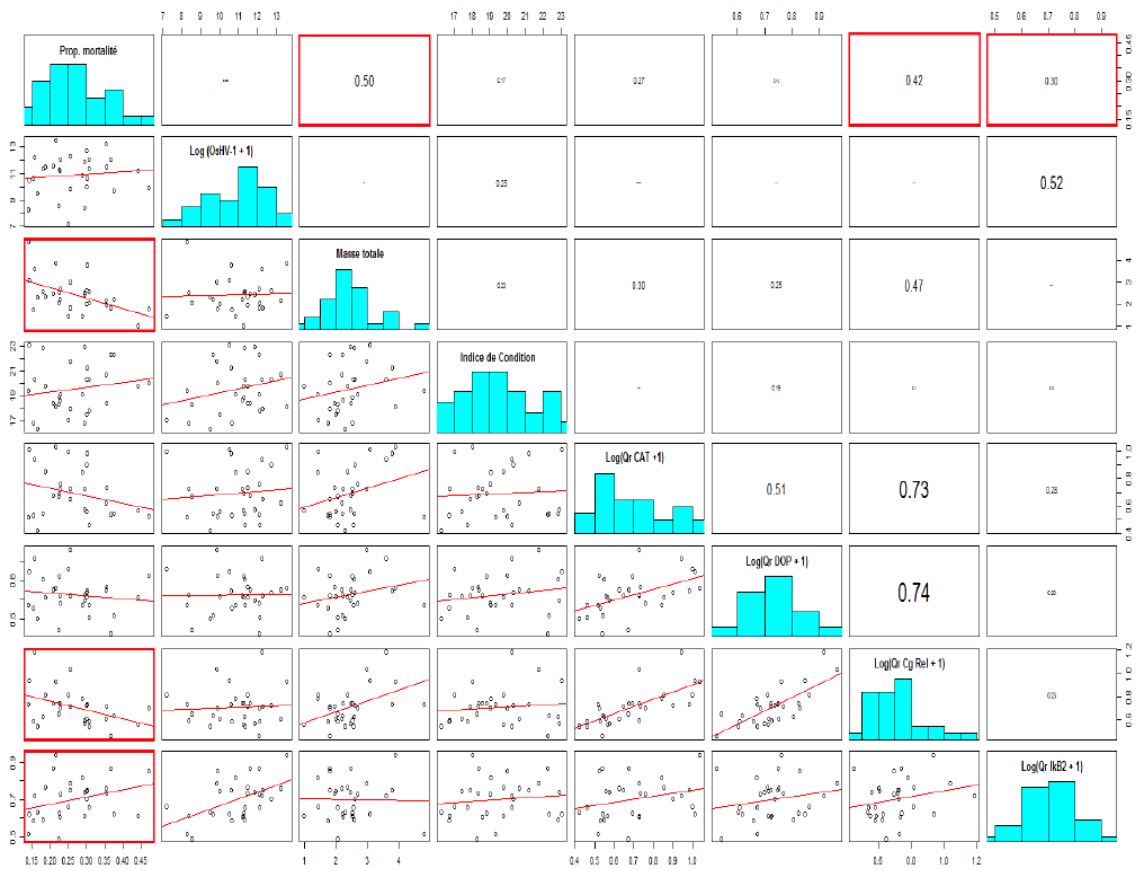


Figure 41 : Diagramme en matrice des corrélations multiples entre les variables, à l'échelle du lot.

Par conséquent, un modèle GLM complet a été ajusté aux observations à l'échelle du lot, incluant la proportion de mortalité cumulée, observée à T3, comme variable à expliquer, et les variables [masse totale,  $\text{Log}(\text{Qr Cg Rel} + 1)$ ,  $\text{Log}(\text{Qr IkB2} + 1)$ ] comme potentiellement explicatives. Après réduction du modèle (suppression des termes non-significatif), un modèle final de la forme :  $\text{logit}(\text{Proportions de mortalité}) = \text{Masse totale} + \text{Log}(\text{Qr IkB2} + 1)$  a été ajusté aux données (Figure 42).

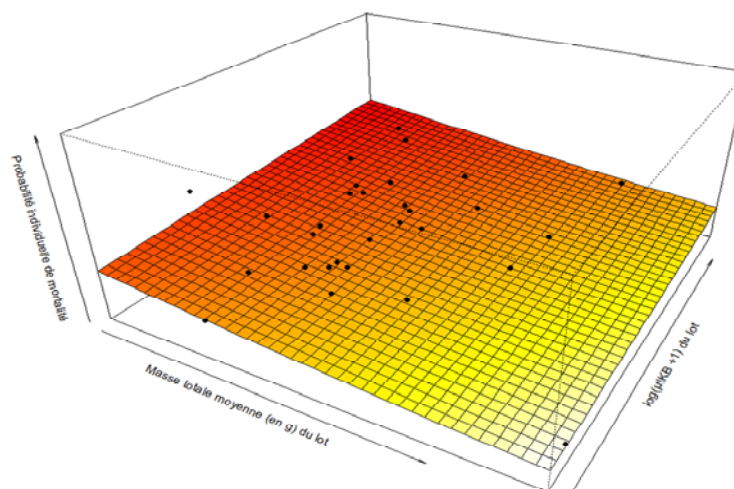


Figure 42 : Graphique 3D des relations entre Proportion de mortalité et Masse totale moyenne (en g) des individus composant le lot et Expression moyenne du gène IkB2 [ $\text{log}(\text{Qr IkB2} + 1)$ ]. Les points noirs figurent les observations ( $n=30$  lots), le plan figure les valeurs estimées par le modèle pour la Proportion de mortalité. Celles-ci sont d'autant plus élevées que la couleur est « chaude ».



Les résultats de cette analyse montrent que la proportion de mortalité cumulée observée à T3 décroît significativement ( $p$ -value  $\text{Chi}^2_{1,29} < .0001$ ) lorsque la masse totale moyenne des individus composant le lot augmente (Tableau 3). A l'inverse, on observe une corrélation positive significative ( $P$ -value  $\text{Chi}^2_{1,29} = 0,009$ ) entre la proportion de mortalité et l'expression du gène IkB2 (Tableau 5). Ces 2 variables expliquent donc conjointement la variation du taux final de mortalité cumulée à l'échelle du lot.

Effets	Estimations $\pm$ E.S.	D.d.l.	P-value ( $\text{Chi}^2$ )
Ordonnée à l'origine	-1,249 $\pm$ 0,390		
Masse totale	-0.296 $\pm$ 0,071	1 / 29	< .0001
Log (Qr IkB2 + 1)	1,323 $\pm$ 0,504	1 / 29	0,009

Tableau 5 : Estimations et erreurs standard des effets du modèle final logit (Prop. mortalité) = Masse totale + Log (Qr IkB2 + 1), et résultats des tests de  $\text{Chi}^2$  associés (degrés de libertés et P-value).

➤ Analyse de la variation inter-individuelle de l'expression du gène IkB2

Comme réalisé précédemment, l'analyse des corrélations multiples entre la variable d'intérêt [Log ( Qr IkB2 + 1 )], et les autres variables potentiellement explicatives du jeu de données a permis d'identifier que seule la variable Log (OsHV-1 + 1) semblait expliquer une part satisfaisante de la variation totale ( $R^2 = 0,57$  pour une régression linéaire simple) (Figure 43). L'expression relative du gène IkB2 semblait donc augmenter avec la charge virale mesurée pour une huître donnée.

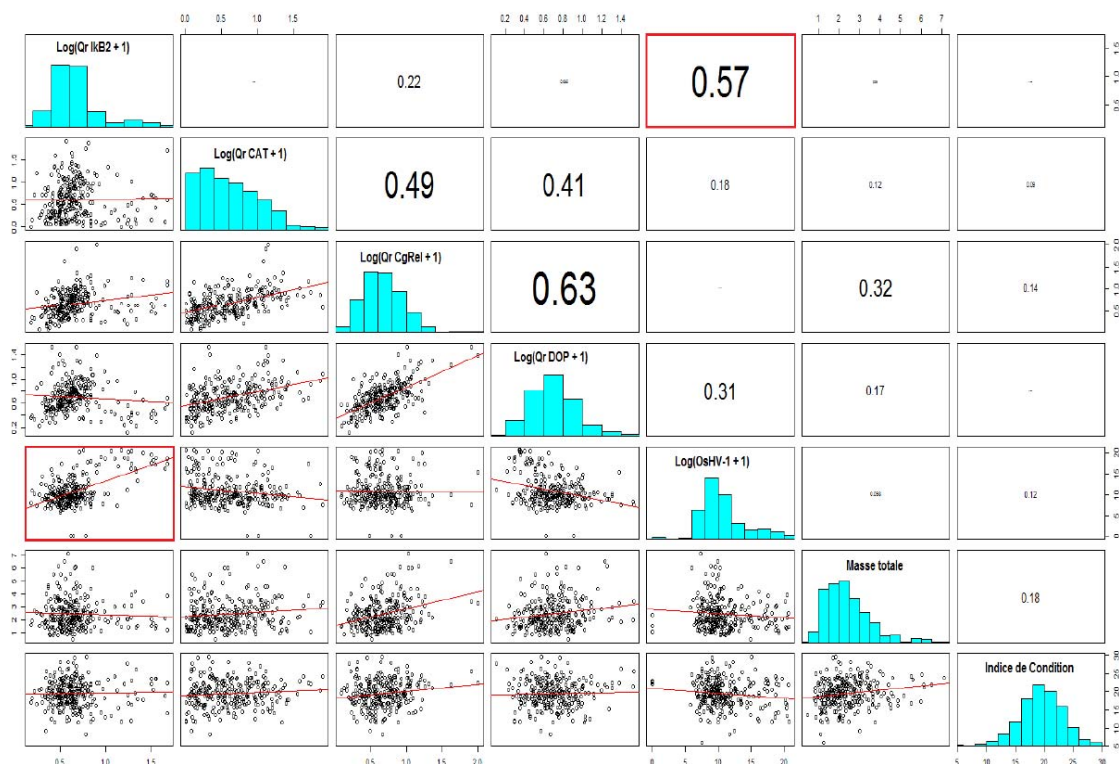


Figure 43 : Diagramme en matrice des corrélations multiples entre les variables, à l'échelle des individus

Par conséquent, un modèle LM bivarié a été ajusté aux observations à l'échelle des individus, tel que :  $\text{Log}(\text{Qr Ikb2} + 1) = a \text{Log}(\text{OsHV-1} + 1)^2 + b$  (Figure 44). Le modèle ajusté décrivant la variation de l'expression relative du gène Ikb2 en fonction du logarithme de la charge virale élevée au carré explique une part très significative de la variance ( $F_{1,260} = 163,79$  ; P-value < .0001) (Tableau 6). Le  $R^2$  ajusté de Pearson correspondant à cette régression a pour valeur 0,38, indiquant que plus d' 1/3 de la variance totale de l'expression du gène Ikb2 est associé à la variation de la charge virale.

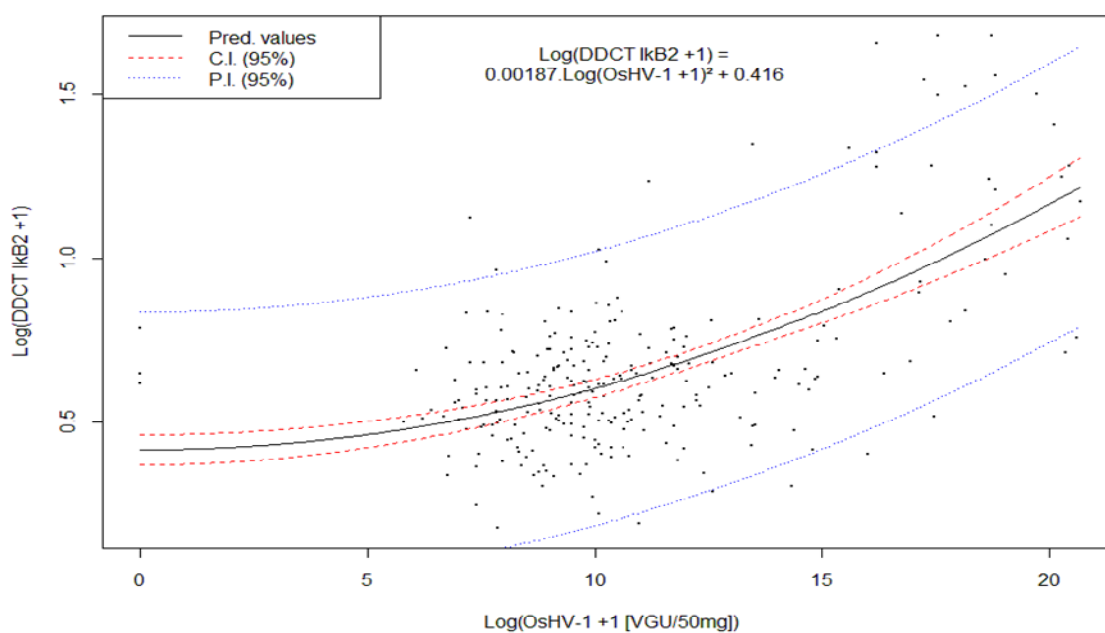


Figure 44 : Corrélation entre l'expression relative du gène Ikb2 [ $\text{Log}(\text{Qr Ikb2} + 1)$ ] et la charge virale [ $\text{Log}(\text{OsHV-1} + 1)^2$ ] mesurée à l'échelle des individus. Les points noirs figurent les observations ( $n = 260$  individus) et la ligne continue, les valeurs prédites par le modèle (avec les intervalles de confiance des valeurs estimées, en rouge, et prédites, en bleu), la ligne continue correspond au modèle linéaire ajusté.

$$\text{Log}(\text{DDCT Ikb2} + 1) = a \cdot \text{Log}(\text{OsHV-1} + 1)^2 + b$$

Parameter		Estimate	S.E.	DF	F-value	Pr(>Fi)
Intercept =	[b]	0.41616	0.02325		163.79	< .0001
$\text{Log}(\text{OsHV-1} + 1)^2 =$	[a]	0.00187	0.00015	1/260		

Tableau 6 : Paramètres estimés et erreurs standard associées au modèle  $\text{Log}(\text{Qr Ikb2} + 1) = a \text{Log}(\text{OsHV-1} + 1)^2 + b$ , et résultats du test F associé (degrés de liberté, valeur de F et P-value).

## 4.4 Conclusion et perspectives

A l'échelle du lot, le modèle linéaire généralisé nous a permis de montrer qu'il existe une corrélation significative entre le taux final de mortalité cumulée observée pour les huîtres d'un lot donné, la variation d'expression du gène Ikb2, et la masse totale moyenne des huîtres. La proportion de mortalité estimée pour un lot donné semble ainsi décroître avec l'augmentation de la masse totale des individus composants le lot, ce qui suggère donc que plus une huître est grosse, moins elle est susceptible de mourir. Ce résultat rejoint des résultats similaires, acquis au cours d'études antérieures qui décrivaient déjà un cette relation (Behra, 2014). La proportion de mortalité semble également croître avec l'augmentation de l'expression relative du gène Ikb2. Ce résultat est original, et constitue, à notre connaissance, la première observation d'une relation entre la variation inter-lots des proportions de mortalité avec l'expression d'un gène candidat, mesurée plusieurs semaines avant le pic infectieux.

Les analyses statistiques réalisées à l'échelle individuelle ont permis de montrer que le gène Ikb2 présentait également une variation d'expression significativement corrélée positivement avec le nombre de copies d'ADN de l'Herpès virus OsHV-1. Une telle observation avait déjà été effectuée dans une étude précédente (Normand et al. 2014). Elle confirme l'intérêt du gène Ikb2 comme marqueur potentiel du processus infectieux, puisque celui-ci se comporte à la fois comme marqueur prédictif de la variation inter-lots des taux de mortalité finaux, et comme indicateur de la variation inter-individuelle de la charge virale. Une telle analyse gagnerait à être affinée en ajoutant les informations liées au lot, et à son origine, au modèle décrivant la variation d'expression d'Ikb2 en fonction de la charge virale, ceci afin de mieux explorer le lien entre les observations effectuées à l'échelle du lot, et de l'individu. Une telle analyse mobiliserait toutefois des moyens analytiques importants, qui n'ont pu être déployés dans le cadre de la présente étude.

Enfin, à l'heure actuelle, il n'est pas possible de déterminer si les corrélations détectées résultent d'un mécanisme de défense immunitaire (si l'augmentation de l'expression du gène Ikb2 permet à l'huître de limiter, de façon active, la réplication du virus) ou d'une conséquence du processus de réplication virale (certains auteurs suggérant que le virus pourrait réguler l'expression de ce gène au cours de sa réplication) (Normand et al., 2014). Des analyses complémentaires seront nécessaires pour répondre à cette question, sans pour autant relever du cadre initialement défini par les objectifs d'ECOSCOPA.

## 5. Conclusion générale et perspectives

Les observations acquises dans le réseau ECOSCOPA 2015 se sont concentrées sur 6 écosystèmes conchylicoles représentés par les sites de Pointe du Château (rade de Brest), Pénerf (rivière de Pénerf), Coupelasse (Baie de Bourgneuf), D'Agnas (Marennes Oléron), Le Tes (Arcachon) et Marseillan (étang de Thau). Le but de cette action 2015, était, dans un premier temps, de renforcer la synergie existante entre les réseaux RESCO et VELYGER afin de disposer d'un suivi proactif du cycle complet de la vie de l'huître (incluant la croissance, la reproduction, le captage puis la mortalité) à partir d'animaux communs sur différents sites ateliers, en lien avec l'acquisition de descripteurs environnementaux susceptibles d'influencer chacune de ces phases de vie. Les résultats acquis dans ce cadre ont ainsi permis d'observer des différences spatio-temporelles au sein des principales fonctions physiologiques de l'huître, et dans les paramètres environnementaux associés à chacun des sites étudiés. Si les résultats présentés dans ce rapport sont essentiellement descriptifs, il sera important à terme de réaliser des analyses statistiques plus approfondies afin de hiérarchiser les paramètres environnementaux susceptibles d'expliquer le plus de variance des fonctions biologiques suivies. Cela permettra également de déterminer des critères permettant d'évaluer la qualité d'un site de production conchylicole, et son évolution dans le temps.

Parallèlement aux suivis biologiques et environnementaux réalisés sur 6 sites, l'étude plus ciblée visant à identifier des marqueurs physiologiques de l'huître, en lien avec leur réponse précoce aux infections, a permis d'identifier un gène candidat particulièrement intéressant. En effet, les résultats obtenus au cours de cette étude ont indiqué que les variations d'expression de l'un des gènes (IkB2) sont fortement corrélées, au niveau individuel, aux variations de du nombre de copies d'ADN d'OsHV-1 et, au niveau des lots, aux probabilités de survie observées. A terme, ce gène candidat pourrait donc être utilisé en tant qu'indicateur précoce des mortalités, et des capacités de certaines huîtres à résister à ce phénomène. De plus, le suivi des variations d'expression de ce gène candidat au sein d'une population d'huître donnée, dans des sites contrastés, pourrait permettre de compléter les indicateurs de l'état physiologique de l'huître. Ces approches permettront à terme de définir un « bon état physiologique de l'huître » et contribueront à mieux comprendre les phénomènes d'émergence de maladies qui pourraient refléter une sensibilité accrue des animaux.

Pour 2016, l'objectif général du projet ECOSCOPA sera donc de poursuivre la consolidation du dispositif d'observation actuel, créé antérieurement par les projets RESCO et VELYGER, et d'y ajouter progressivement une série de nouveaux indicateurs physiologiques et environnementaux pertinents, contribuant à une analyse plus fine des écosystèmes conchylicoles et leur évolution en lien avec les pressions climatiques et anthropiques. Pour ce faire, le projet proposera de poursuivre, dans un souci de mutualisation maximum, les suivis sur l'environnement, la physiologie et la reproduction de l'huître creuse au sein de ces 6 écosystèmes conchylicoles d'intérêt, contrastés, hérités de l'expérience acquises lors des projets antérieurs. De plus, l'action ECOSCOPA se proposera de poursuivre l'acquisition de nouvelles données de référence sur l'état physiologique de l'huître dans ces différents écosystèmes ostréicoles. Ces données permettront de mieux caractériser l'état physiologique de l'huître, son éventuelle sensibilité selon les conditions environnementales et l'émergence

de nouveaux agents pathogènes. Pour ce faire, des analyses biochimiques seront réalisées sur les mêmes huîtres que celles déployées dans le cadre de RESCO II sur 3 à 6 sites selon les variables mesurées. Parallèlement, l'évolution de certains marqueurs trophiques, reflétant l'ingestion de diatomées, dinoflagellés, bactéries ou matière organique d'origine terrigène, et l'activité d'enzymes impliquées dans le métabolisme énergétique seront analysés. Il sera également proposé de doser la porine VDAC dont l'expression reflète un état favorable à OsHV-1, et de réaliser des mesures d'expression du gène IKb2 sur ces mêmes individus. Enfin, les données d'observations environnementales (température et phytoplancton) acquises par cette action serviront à alimenter le modèle de croissance DEB déjà mis en œuvre sur plusieurs sites, et permettront de détecter d'éventuels écarts entre ce modèle et la croissance observée sur le terrain. Ces anomalies pourront être le signe de perturbations physiologiques et/ou environnementales qui ne sont pas encore intégrées dans le modèle (*i.e.* effets de pesticides, algues toxiques, pathogènes) et pourront faire l'objet d'études approfondies.

## Bibliographie

Behra C., Gangnery A., Normand J., (2014). Effet des paramètres environnementaux et des pratiques d'élevage sur la mortalité des huîtres *Crassostrea gigas*, les agents infectieux et les réserves énergétiques dans la baie des Veys. Rapport de stage. 35pp.

Daniel A., (2009) Document de méthode hydrologie : Consignes pour le prélèvement d'échantillons d'eau en vue de mesures hydrologiques. Rapport Dyneco/Pelagos. 19 pp.

Dégremont L., Lamy JB., Pépin J.F., Travers M.A., Renault T., (2015). New Insight for the Genetic Evaluation of Resistance to Ostreid Herpesvirus Infection, a Worldwide Disease, in *Crassostrea gigas*. PLoS One. 2015 Jun 3;10(6).

De Lorgeril J., Zenagui R., Rosa RD., Piquemal D., Bachère E., (2011). Whole transcriptome profiling of successful immune response to *Vibrio* infections in the oyster *Crassostrea gigas* by digital gene expression analysis. PLoS One. 2011;6 (8).

Fleury E., Moal J., Boulo V., Daniel J.Y., Mazurais D., Hénaut A., Corporeau C., Boudry P., Favrel P., Huvet A., (2010). Microarray-based identification of gonad transcripts differentially expressed between lines of Pacific oyster selected to be resistant or susceptible to summer mortality. Mar Biotechnol (NY). 2010 Jun;12(3):326-39.

Fleury E. (2015). RESCO - Réseau d'observations Conchylicoles : Rapport annuel Campagne 2014. 110 pp.

Fleury E., Huvet A., (2012). Microarray analysis highlights immune response of Pacific oyster as a determinant of resistance to summer mortality. Marine Biotechnology, 14, 203-217.

Green T.J., Montagnani C., Benkendorff K., Robinson N., Speck P., (2014). Ontogeny and water temperature influences the antiviral response of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Fish & Shellfish immunology, 36, 151-157.

Grossel H., (2006) Manuel d'observation et de dénombrement du phytoplancton marin. Département Environnement, Microbiologie et Phycotoxines. Document de méthode REPHY. 40 pp

Normand J., Li R., Quillien V., Nicolas J.L., Boudry P., Pernet F., Huvet A., (2014). Contrasted survival under field or controlled conditions displays associations between mRNA levels of candidate genes and response to OsHV-1 infection in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Mar Genomics. 2014 Jun;15:95-102.

Petton B., Pernet F., Robert R., Boudry P., (2013). Temperature influence on pathogen transmission and subsequent mortalities in juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas*. Aquaculture Environment Interactions, 3(3), 257-273.

---

Pernet F., Lagarde F., Jeannée N., Daigle G., Barret J., Le Gall P., Quere C., D'orbcastel ER., (2014). Spatial and temporal dynamics of mass mortalities in oysters is influenced by energetic reserves and food quality. PLoS One. 2014 Feb 14;9.

Pouvreau S., (2011). Projet Velyger (2008-2010) : Observer, Analyser et Gérer la variabilité du recrutement de l'huître creuse en France. Rapport de synthèse. 190 pp.

Rosa RD., de Lorgeril J., Tailliez P., Bruno R., Piquemal D., Bachère E., (2012). A hemocyte gene expression signature correlated with predictive capacity of oysters to survive *Vibrio* infections. BMC Genomics. 2012 Jun 18;13:252.

---

## Résumé :

Le réseau ECOSCOPA, co-financé par la DPMA, a pour objectif de développer un outil permettant de **mesurer, à plusieurs échelles, des paramètres environnementaux et biologiques en lien avec la croissance et la survie d'huîtres creuses en élevage**. Sur l'année 2015 et afin de préparer de façon concertée ce projet, il a été proposé dans un premier temps de renforcer la synergie existante entre les réseaux RESCO et VELYGER afin de disposer d'un **suivi proactif du cycle complet de production de l'huître** (incluant le captage, la croissance, la reproduction, les éventuelles mortalités) à partir d'animaux communs sur différents sites ateliers, **en lien avec l'acquisition de descripteurs environnementaux et physiologiques susceptibles d'influencer chacune de ces traits de vie**. En complément du fonctionnement des réseaux VELYGER et RESCO II, le projet ECOSCOPA a donc pris en charge le dispositif de déploiement et de suivi bimensuel d'huîtres sentinelles sur 6 sites (Arcachon, Marennes Oléron, Baie de Bourgneuf, Rade de Brest, Etang de Thau, Rivière de Pénerf). Plus précisément, ECOSCOPA a suivi les **paramètres biologiques de survie et de croissance**, sur ces six sites ateliers. Les huîtres sentinelles (identiques à celles utilisées par le réseau RESCO II) correspondant à 3 classes d'âge d'huîtres creuses (« 6 mois », « 18 mois » et « 30 mois ») ont été déployées et suivies de manière synchrone sur l'ensemble des sites, selon le même calendrier que celui établie pour RESCO II. Les **descripteurs environnementaux** ont été obtenus grâce à des enregistrements en haute fréquence de la température, de la pression et de la salinité, réalisés sur l'ensemble des 6 sites au moyen de sondes SMATCH permettant la transmission en temps réel de ces paramètres sur un serveur dédié. La totalité des sites ateliers équipés avec ce type de sondes, en complément des sondes de type STPS prévues par le réseau RESCO II, a permis d'assurer une prise de données sans discontinuité pendant les opérations d'entretien. Les données sur les **populations phytoplanctoniques** ont été acquises grâce aux points de suivi du réseau REPHY là où ces points existent. Des prélèvements additionnels ont été réalisés dans le cas contraire via des partenaires extérieurs. Enfin, des **descripteurs physiologiques** ont été acquis dans cette étude afin de **qualifier le statut physiologique de l'huître en lien avec les variations de l'environnement**. Plus précisément, une étude spécifique permettant d'approfondir les résultats acquis dans le cadre de l'expérimentation PHYSITU en 2014, a été réalisée. En effet, dans cette étude, des mesures d'expression de gènes impliqués dans la réponse des naissains aux mortalités ont été réalisées afin de qualifier l'évolution du statut physiologique de l'huître avant, pendant, et après les mortalités. Cette action a permis, entre autre, d'identifier 4 gènes d'intérêt, dont l'expression varie significativement selon les périodes avant et après mortalité. L'action ECOSCOPA a donc pris en charge la poursuite de cette étude afin de tester l'intérêt de ces marqueurs en tant qu'indicateur précoce de la réponse de l'huître face aux agents pathogènes, et de valider si ces marqueurs pourraient être utilisés à plus large échelle pour la surveillance de la qualité des écosystèmes côtiers.

**Mots-Clefs :** *Crassostrea gigas*, huître creuse, mortalité, croissance, température, expression de gènes, marqueurs physiologiques, OsHV-1, agents pathogènes, production conchylicole, environnement.