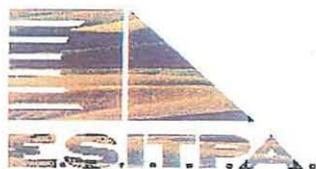
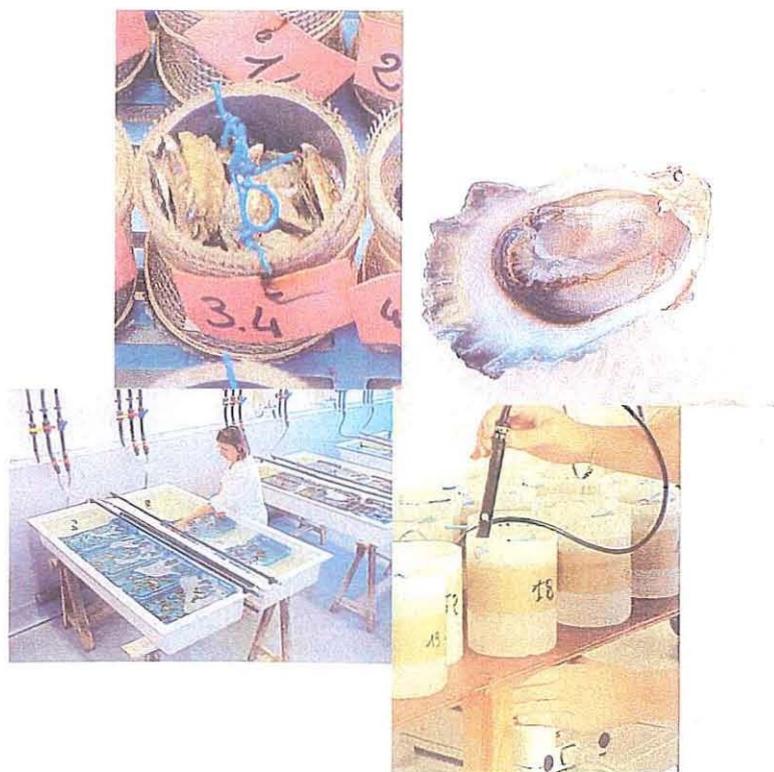


Céline de AMBROGGI
 Stage d'Initiation à la Recherche
 Août 2001



Mise au point d'un outil de caractérisation de l'état physiologique des cheptels d'huîtres

Etude expérimentale sur des familles génétiques
 de l'huître creuse *Crassostrea gigas*



Stage effectué du 14 mai au 31 août 2001
 Sous la direction de :

Patrick SOLETCHNIK
 IFREMER
 Laboratoire Conchylicole du Poitou-Charentes
 B.P. 133
 17 390 La Tremblade

Résumé :

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la compréhension des mortalités estivales qui touchent les naissains d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*. L'objectif est de caractériser des familles génétiques au niveau physiologique, et de comparer les qualités de ces familles avec les mortalités observées.

La démarche employée consiste d'une part à caractériser la qualité des cheptels par des mesures instantanées de respiration et de biométrie. Elles permettent respectivement d'évaluer le métabolisme de base et de calculer des indices de condition. D'autre part, elle consiste à mesurer des degrés de résistance par suivi de respiration et de mortalité après stress thermiques.

Cette étude a permis de montrer que l'environnement et les stress n'agissent que comme révélateurs d'une fragilité pré-existante, héritée des parents. Dans une situation de stress thermique, la demande énergétique de certaines familles augmente significativement quand elle reste stable pour d'autres, mettant ainsi en évidence des différences phénotypiques d'origine parentale.

Cet outil de caractérisation a permis d'identifier les familles génétiques dans des groupes physiologiques, et d'observer le regroupement des descendants d'un même mâle. Ces observations traduisent la transmission génétique des performances physiologiques. En outre, cet outil semble permettre de caractériser physiologiquement les familles à forte mortalité, mais ne permet pas d'identifier les familles à faible mortalité.

Mots-clefs : mortalité, *Crassostrea gigas*, familles génétiques, métabolisme, respiration

Abstract :

This study is in keeping with the comprehension of summer mortalities that affects *Crassostrea gigas* Pacific cupped oysters' spat. The aim is to characterize genetic families in a physiologic way, and to compare these families qualities with the noticed mortalities.

The employed approach consists, on the one hand, in characterising livestock's qualities with instantaneous measurements of respiration and biometry. They respectively allow to estimate basic metabolism and to calculate state index. On the other hand, it consists in measuring differently degrees of resistance by the observation of respiration and mortality after thermal stresses.

This study allowed to show that the environment and the stresses only act as indications of a pre-existent weakness, inherited from the parents. In a thermal stress state, the energetic demand of some families significantly increases, whereas it stays at the same level for others, displaying phenotypic differences of parental origin.

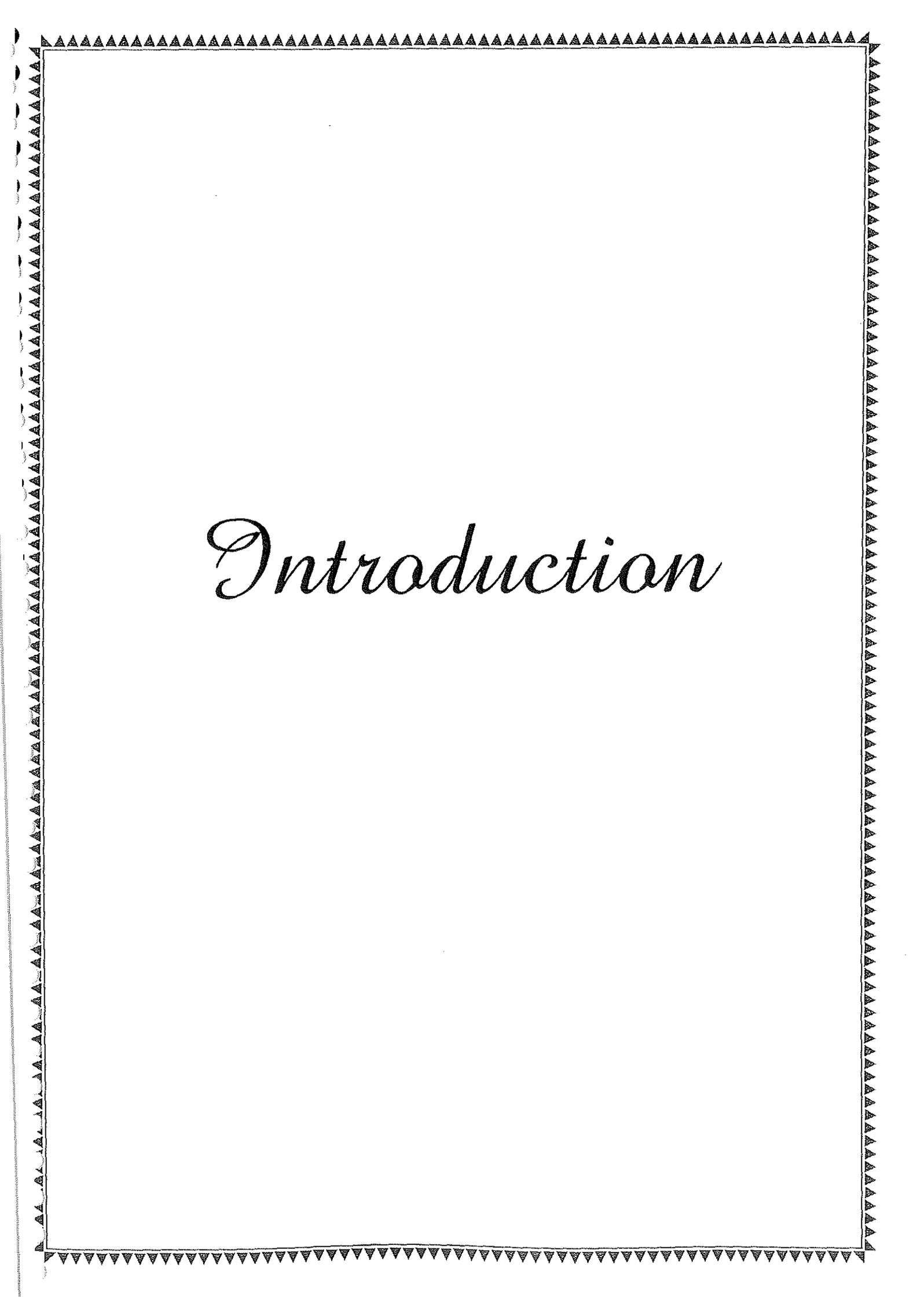
This characterisation tool permitted to identify the genetic families in physiological groups, and to observe the regrouping of a only male's descendants. These observations express the genetic transmission of physiologic performances. Moreover, this tool seems to permit the physiological characterization of the high mortality families, but doesn't allow to identify the low mortality families.

Keywords : mortality, *Crassostrea gigas*, genetic family, metabolism, respiration

Sommaire

I. INTRODUCTION	1
1. PRÉSENTATION DE LA STRUCTURE DE STAGE.....	1
1.1. <i>L'IFREMER</i>	1
1.2. <i>La station de La Tremblade</i>	2
2. PRÉSENTATION DU SUJET.....	3
II. CONTEXTE DE L'ÉTUDE	4
1. L'OSTRÉICULTURE DANS LE BASSIN DE MARENNES-OLÉRON.....	4
1.1. <i>Le bassin de Marennes-Oléron</i>	4
1.2. <i>La succession des espèces</i>	4
1.3. <i>Les ressources trophiques du bassin</i>	5
2. LES PHÉNOMÈNES DE MORTALITÉS ESTIVALES	5
2.1. <i>Apparitions des mortalités</i>	5
2.2. <i>Les études antérieures</i>	5
3. LE PROGRAMME MOREST (MOREST, I ET II, 2001).....	6
3.1. <i>Les acquis</i>	6
3.2. <i>Trois constats pour guider les recherches</i>	6
3.3. <i>Le rôle de la station au sein du programme MOREST</i>	7
4. ÉLÉMENTS DE PHYSIOLOGIE DE L'HUÎTRE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i>	8
4.1. <i>Éléments de biologie</i>	8
4.2. <i>La respiration</i>	8
4.3. <i>Définition d'un stress</i>	8
III. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	9
1. LE MATÉRIEL BIOLOGIQUE ET SON CONDITIONNEMENT	9
2. LES TESTS ET MESURES.....	10
2.1. <i>Chronologie, description et objectifs</i>	10
2.2. <i>Les descripteurs de l'étude</i>	10
3. LES PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX.....	11
3.1. <i>Echantillonnage</i>	11
3.2. <i>Mesure de la respiration</i>	11
3.3. <i>Biométrie et maturité sexuelle</i>	12
3.4. <i>Stress thermique standard</i>	13
3.5. <i>Mortalité</i>	13
4. OBTENTION ET TRAITEMENT DES DONNÉES	13
4.1. <i>Biométrie</i>	13
4.2. <i>Les mesures de respiration</i>	14
4.3. <i>Traitements statistiques et analyses</i>	15

IV. RÉSULTATS - DISCUSSION.....	16
1. OBSERVATION DES MORTALITÉS	16
2. CARACTÉRISATION DE LA QUALITÉ DES CHEPTELS	16
2.1. <i>La maturité sexuelle</i>	16
2.2. <i>Croissance sur estran</i>	17
2.3. <i>Evolution de l'indice de Walne et Mann</i>	18
2.4. <i>La respiration instantanée</i>	19
3. LA RÉSISTANCE AUX STRESS.....	20
3.1. <i>Respiration après stress thermique unique</i>	20
3.2. <i>Réponses à un enchaînement de stress thermiques</i>	21
V. SYNTHÈSE GÉNÉRALE : LA CARACTÉRISATION DES FAMILLES	25
1. LES DIFFÉRENTS NIVEAUX DE MORTALITÉ.....	25
2. LA CARACTÉRISATION PHYSIOLOGIQUE DES FAMILLES	25
VI. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	27
LISTE DES TABLEAUX.....	28
LISTE DES FIGURES.....	29
BIBLIOGRAPHIE.....	30
LISTE DES ANNEXES.....	33



Introduction

I. Introduction

1. Présentation de la structure de stage

1.1. L'IFREMER

Présentation générale de l'institut

Etablissement public à caractère industriel et commercial, l'IFREMER, Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la MER, est le seul organisme français à vocation entièrement maritime. Créé par un décret du 5 juin 1984, il résulte de la fusion du Centre National d'Exploitation pour les Océans (CNEXO) et de l'Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes (ISTPM).

L'IFREMER est placé sous la tutelle conjointe des ministères de la Recherche, de l'Agriculture et de la Pêche, de l'Équipement, des Transports et du Logement. Le siège social se situe à Issy-les-Moulineaux.

L'IFREMER en quelques chiffres, c'est :

- ✓ Un budget annuel de près d'un milliard de francs (150 millions d'Euros),
- ✓ 1700 cadres, chercheurs, ingénieurs, marins, techniciens et administratifs,
- ✓ 27 implantations (centres ou stations) réparties sur tout le littoral métropolitain et dans les DOM-TOM,
- ✓ 72 laboratoires ou services de recherche.

Ses missions

L'institut s'est vu confier, par le gouvernement, une mission très large de recherche et de développement technologique pour la connaissance de l'océan et l'exploitation des ressources marines. Les missions de l'IFREMER sont :

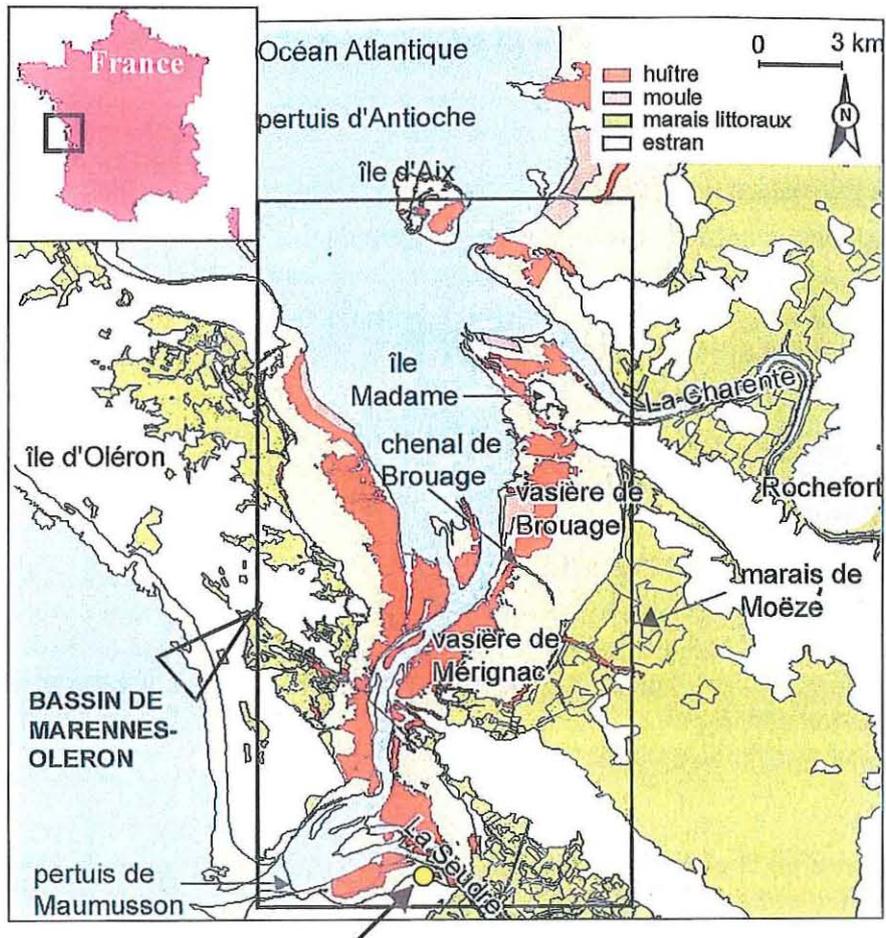
- ✓ Connaître, évaluer, prévoir l'évolution des ressources des océans et permettre leur exploitation durable,
- ✓ Améliorer les méthodes de surveillance, de prévision, d'évolution, de protection et de mise en valeur du milieu marin et côtier,
- ✓ Favoriser le développement socio-économique du monde maritime,
- ✓ Avoir un rôle de service public (aide à la décision), de conseil et d'expertise auprès de l'État, des collectivités territoriales, des milieux professionnels de la mer (marins, pêcheurs, aquaculteurs), et aussi des industriels de la transformation et de la valorisation des ressources marines.

Son organisation

L'IFREMER est structuré en cinq grandes directions opérationnelles, complétées par une direction scientifique et des directions fonctionnelles :

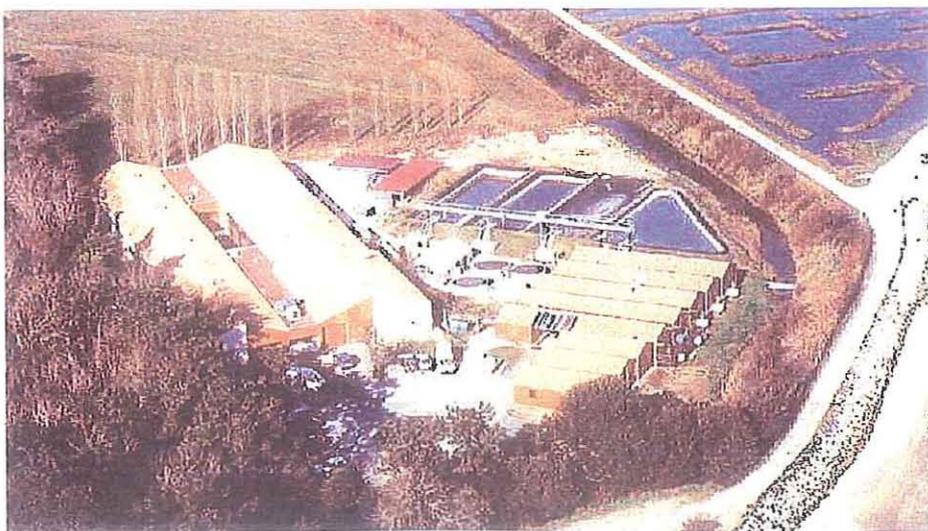
- ✓ **La Direction de l'Environnement et de l'aménagement Littoral (DEL)** : elle contribue à la connaissance des écosystèmes côtiers, au développement d'outils, de méthodes et de concepts utilisables par les acteurs de l'environnement. Elle opère des réseaux d'observation et de surveillance du littoral. Elle conduit des recherches sur le devenir des masses d'eau et sur différents processus biologiques et chimiques.
- ✓ **La Direction des Ressources Vivantes (DRV)** : elle contribue à la gestion durable des ressources halieutiques, l'optimisation et le développement des productions aquacoles, la transformation, la valorisation et la qualité des produits de la mer, la surveillance et l'évaluation des ressources conchylicoles et de l'économie des ressources marines. Cette direction est composée de trois départements : Ressources Halieutiques (DRV/RH),

Figure 1 - Le Bassin de Marennes-Oléron



Station IFREMER de La Tremblade

Figure 2 - Vue aérienne de la station IFREMER de La Tremblade



Ressources Aquacoles (DRV/RA), Valorisation des Produits (DRV/VP) et d'un service d'Economie Maritime (DRV/SEM).

- ✓ **La Direction des Recherches Océaniques (DRO)** : elle contribue par ses programmes de recherche à la compréhension de la circulation océanique, qui joue un rôle majeur dans les relations entre l'océan et le climat, ainsi qu'à la connaissance et à l'exploration des fonds océaniques.
- ✓ **La Direction de la Technologie Marine et des Systèmes d'Information (TMSI)** : elle est chargée, entre autres, de conduire des programmes à caractère technologique ou industriel et de mener des recherches sur les technologies de base.
- ✓ **La Direction des navires océanographiques et de l'intervention sous-marine (DNIS)** : elle est chargée de développer et de gérer la majeure partie de la flotte océanographique française. La DNIS assure la programmation des campagnes à la mer.

1.2. La station de La Tremblade

Présentation de la station

Située au cœur du bassin ostréicole de Marennes-Oléron (figure 1), la station de La Tremblade (figure 2) est spécialisée dans les domaines de la conchyliculture et de la surveillance de l'environnement littoral.

Sa compétence géographique pour l'environnement littoral s'étend de la rive gauche de la Charente à la Gironde. Dans le domaine conchylicole, ses compétences s'étendent sur l'ensemble des pertuis charentais, depuis le sud de la Vendée jusqu'à l'estuaire de la Gironde. En génétique et pathologie, ses compétences sont reconnues au niveau national et international.

Le Laboratoire conchylicole de Poitou-Charente (LCPC) et la recherche aquacole

Mon stage s'est déroulé pendant 3 mois et demi au sein du laboratoire conchylicole de Poitou-Charente (DRV/RA/LCPC) à la station IFREMER de La Tremblade.

Depuis les années 1970, la recherche conchylicole connaît un développement très important qui se traduit par la volonté de développer les productions aquacoles, de préserver la santé des élevages et d'apporter des améliorations génétiques. Ainsi, les recherches dans ce laboratoire côtier ont pour but :

- ✓ D'innover et d'optimiser les techniques existantes pour les rendre plus fiables et baisser les coûts de production,
- ✓ De valoriser les claires en améliorant l'affinage et le verdissement de l'huître,
- ✓ De développer les cultures d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* en eaux profondes,
- ✓ D'améliorer les connaissances sur la biologie des espèces, notamment la physiologie et l'écophysiologie de *Crassostrea gigas* et de *Mytilus edulis*,
- ✓ D'améliorer la qualité des coquillages,
- ✓ D'étudier les causes de mortalité,
- ✓ De favoriser l'aménagement intégré de la zone côtière.

Les programmes du LCPC (Gouletquer, 2000, 2001)

Les principaux programmes du LCPC sont :

- ✓ Réseau national de croissance de *Crassostrea gigas* "REMORA".
- ✓ Réseaux régionaux de croissance de moules "REMOULA".
- ✓ Etude de la mortalité estivale de l'huître creuse *Crassostrea gigas* "MOREST".
- ✓ Ecosystème conchylicole et mortalité : étude des élevages des bancs conchylicoles de Ronce les Bains-Perquis, suivis environnementaux automatisés.

- ✓ Estimation des stocks conchylicoles des Pertuis Breton et d'Antioche (Charente-Maritime et sud Vendée) et ostréicoles sur le bassin de Marennes-Oléron.
- ✓ Développement de culture d'huîtres en eaux profondes.
- ✓ Gestion intégrée de la Bande Côtière – Gestion spatialisée des productions conchylicoles.

2. Présentation du sujet

Le contexte de l'étude

Le sujet de mon stage s'inscrit dans le cadre de la compréhension des mortalités estivales (programme MOREST) qui frappent les cheptels d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* depuis plus de 10 ans sur les bassins conchylicoles français. De nombreuses études ont déjà été réalisées sur le sujet, selon des axes aussi divers que la pathologie, l'environnement, la physiologie. Néanmoins, les causes exactes de ces mortalités restent à ce jour mal comprises.

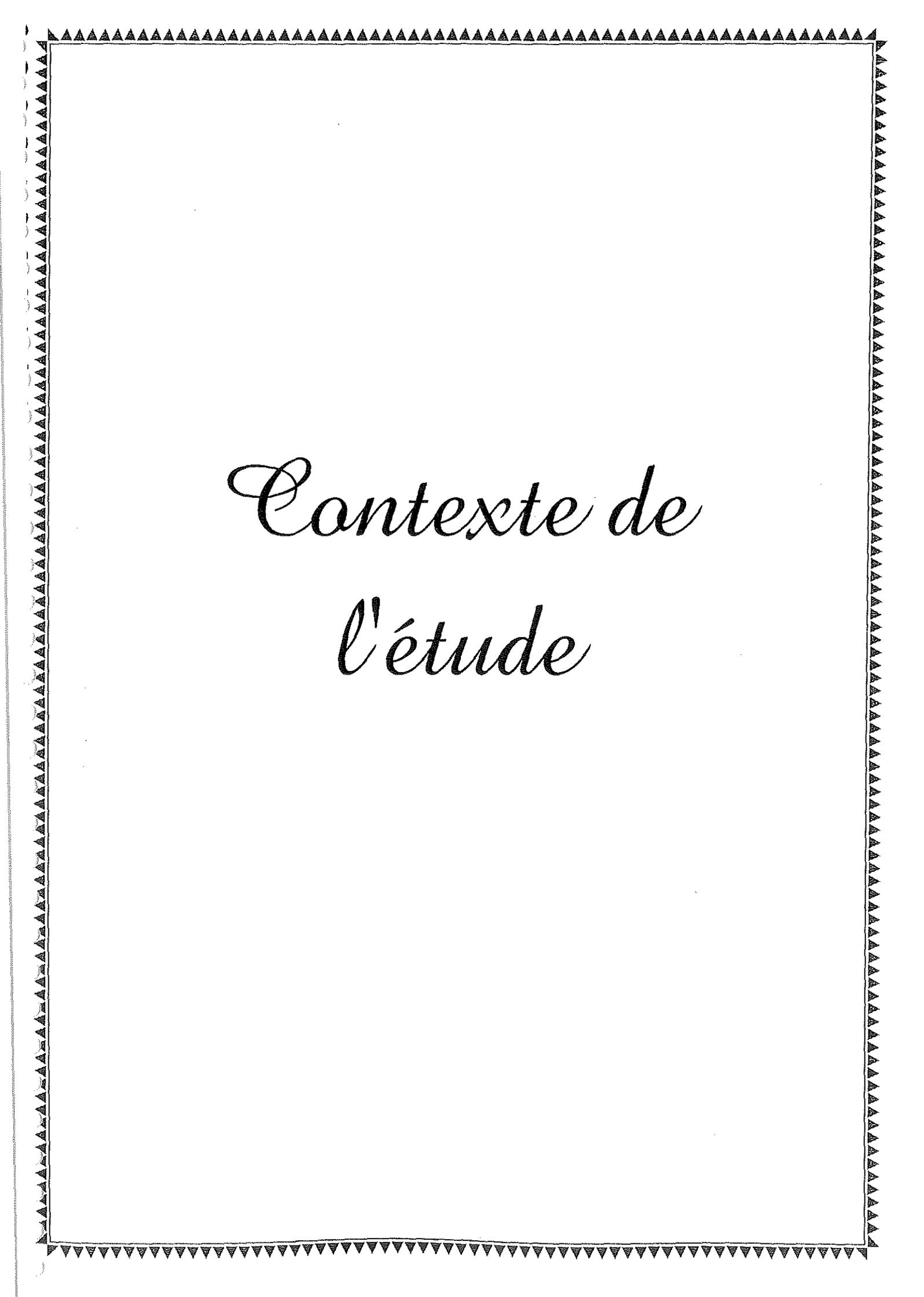
Le programme MOREST (MORTalités ESTivales de l'huître creuse)

Il s'agit d'un programme pluridisciplinaire, lancé au niveau national pour une durée de 4 ans, avec la collaboration d'organismes scientifiques, techniques et professionnels.

Ce projet est majoritairement orienté sur l'étude des mortalités estivales des juvéniles (moins de 1 an) de l'huître *Crassostrea gigas*, même si des mortalités peuvent intervenir parfois en dehors de l'été et sur des huîtres plus âgées. Ceci se justifie par les faits suivants (MOREST, I., 2001) :

- ✓ cette mortalité a des répercussions économiques importantes pour les exploitants (environ 20% de la production chaque année) et constitue une priorité énoncée par les professionnels,
- ✓ la répétition de ce phénomène en été, sur les juvéniles, a été démontrée,

Ce programme et l'approche qui est proposée, doit permettre de caractériser la (ou les) mortalités et de préciser les interactions entre l'huître, son environnement et les agents pathogènes



*Contexte de
l'étude*

II. Contexte de l'étude

1. L'ostréiculture dans le bassin de Marennes-Oléron

1.1. Le bassin de Marennes-Oléron

Le bassin de Marennes-Oléron (figure 1), situé entre l'île d'Oléron et la partie continentale, représente le premier bassin de production ostréicole en Europe avec près de 40 000 tonnes d'huîtres produites annuellement, soit 25% de la production nationale. Ses 150 km² de superficie sont limités au Nord par le Pertuis d'Antioche, et au sud par celui de Maumusson (Le Moine *et al.*, 2000), par lesquels se font les apports d'eau océanique. La circulation générale du bassin est orientée Nord-Sud (Bacher, 1989). Les apports de la Seudre (débit de 0 à 40 m³s⁻¹) et surtout ceux de la Charente (débit de 10 à 400 m³s⁻¹) influencent fortement l'écologie du bassin par l'apport de nutriments (Soletchnik *et al.*, 1998a). Lors des grands coefficients, des masses d'eau en provenance de l'estuaire de la Gironde peuvent entrer dans le bassin par le nord.

1.2. La succession des espèces

L'huître plate *Ostrea edulis*, huître indigène de la France métropolitaine, est consommée depuis des siècles, mais ce n'est qu'à la fin du XIX^{ème} siècle qu'est née l'ostréiculture moderne (maîtrise du captage, pré-grossissement, grossissement) (Héral, 1989b). Depuis cette date, plusieurs espèces d'huîtres ont été successivement exploitées sur les côtes françaises.

Pour faire face à une pénurie d'huîtres plates, c'est à partir de 1860 que le Bassin d'Arcachon importe des huîtres creuses du Portugal, *Crassostrea angulata*. Cette espèce rustique s'implante sur les côtes atlantiques françaises et prolifère très rapidement. Suite à un épisode de mortalité massive de l'huître plate de 1920 à 1922, dont les raisons ne sont pas expliquées mais qui peut être causée soit par une maladie, soit par un régime thermique anormal, l'huître creuse *Crassostrea angulata* supplante *Ostrea edulis*.

L'ostréiculture se développe intensivement jusqu'en 1960 : 85 000 tonnes de *C. angulata* et 28 000 tonnes de *O. edulis*. Mais dans les grands bassins d'élevage, la croissance des huîtres décroît, et les mortalités s'accroissent. De 1960 à 1969, les huîtres portugaises sont atteintes d'une épizootie virale communément appelée « maladie des branchies », puis par une mortalité massive de 1970 à 1973 qui fait disparaître l'espèce *C. angulata* des côtes françaises.

L'importation de l'huître creuse *Crassostrea gigas* originaire du Pacifique, ou encore huître japonaise, permet de démarrer une nouvelle production d'huître creuse à partir de 1967 avec un développement très rapide de la production dès 1972. Ainsi, en 1984, la production d'huîtres françaises (100 000 tonnes) est constituée à 98% par la culture d'huître creuse *Crassostrea gigas*, cultivée sur une superficie de 20 000 ha (Héral, 1989b).

Cette succession de phases de surexploitation, d'épisodes de mortalité et d'importation d'espèces étrangères montre à quel point il est nécessaire d'aménager les bassins conchylicoles en veillant aux équilibres trophiques et physiologiques des espèces, leur permettant ainsi de mieux se défendre contre les agressions pathologiques.

Dans le Bassin de Marennes-Oléron, *Crassostrea gigas* est actuellement la seule espèce d'huître cultivée. Deux méthodes d'élevage sur estran y sont pratiquées. La première, la plus traditionnelle, est l'élevage à plat : les huîtres sont dispersées à même l'estran, dans des parcs. La seconde, pratiquée depuis une trentaine d'années à Marennes-Oléron, est l'élevage en surélevé : les huîtres sont mises dans des poches grillagées, disposées en rang sur des tables métalliques. Cette pratique zootechnique a été adoptée par les ostréiculteurs locaux en même

temps que les premières importations d'huîtres du Pacifique (Grizel et Héral, 1991), son développement a permis d'accroître la production en utilisant plus intensivement les surfaces concédées.

1.3. Les ressources trophiques du bassin

Si la croissance de *Crassostrea gigas* peut-être très rapide dans un environnement adéquat (Héral, 1989a), les performances au niveau du Bassin de Marennes-Oléron sont actuellement limitées en comparaison avec les autres bassins français, comme l'indique le réseau de suivi IFREMER national REMORA (Fleury *et al.*, 1999).

En effet, le Bassin de Marennes-Oléron a connu une forte évolution de sa biomasse en filtreurs depuis 20 ans, toutes espèces confondues. Le modèle global de productivité du Bassin, élaboré dès 1985 (Héral, 1986) limite la production annuelle d'huîtres à 40 000 tonnes. En 1971, la biomasse de filtreurs ne dépasse pas quelques milliers de tonnes. En 1984-1985, elle est estimée à plus de 86 000 tonnes. Enfin, en 1993-1995, l'estimation de la biomasse est supérieure à 124 000 tonnes.

2. Les phénomènes de mortalités estivales

2.1. Apparitions des mortalités

Les mortalités massives anormales de l'huître creuse *Crassostrea gigas* au cours de la période estivale ne sont pas un phénomène nouveau, puisque de tels épisodes sont décrits dans la littérature depuis une soixantaine d'année. En effet, les premières observations datent de 1940 au Japon (Koganezawa, 1974). Ces mortalités estivales ont lieu entre juin et septembre avec des pertes pouvant dépasser 50% de la population. Elles sont souvent associées à des épisodes de températures élevées, dans des baies peu profondes, riches en sels nutritifs et en phytoplancton. Selon les sources de littérature, il peut s'agir d'animaux les plus gros et les plus âgés (Glude, 1975) ou au contraire de juvéniles (Davis et Barber, 1994).

En France, au début des années 1980, on remarque dans le bassin d'Arcachon les premières mortalités estivales importantes (15-30%) d'huîtres creuse *Crassostrea gigas* (Maurer *et al.*, 1986). Celles-ci se produisent en partie pendant la reproduction de l'huître et sont associées à des températures élevées. Dans le bassin de Marennes-Oléron, ce phénomène se manifeste en mai 1988 sur les adultes (Bodoy *et al.*, 1990) et en juin 1993 sur les juvéniles (Goulletquer *et al.*, 1998). En 1988, le taux de mortalité estivale atteignait 50% (90% sur certains sites). Là encore, le phénomène semblait lié aux fortes températures et à une détresse physiologique de l'huître (Bodoy *et al.*, 1990).

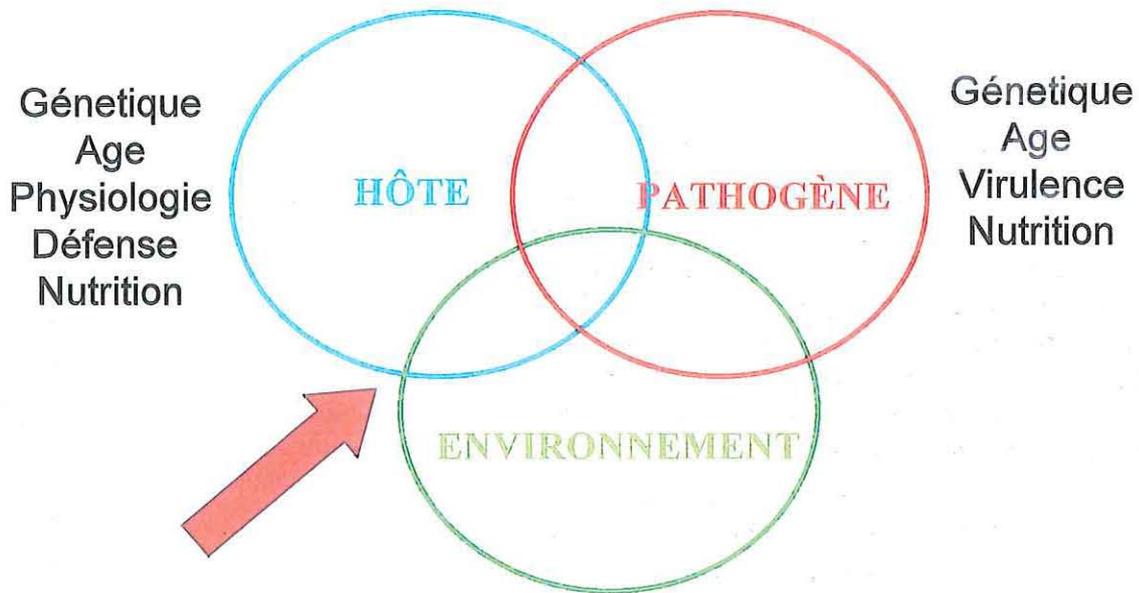
2.2. Les études antérieures

Les phénomènes de mortalité estivale observés dans le Bassin de Marennes-Oléron ont donné cours à diverses hypothèses. L'hypothèse d'une origine toxique a précocement été écartée. En effet, les tests relatifs à la qualité des eaux impliquant une toxicité naturelle phytoplanctonique ou industrielle se sont révélés systématiquement négatifs (Bodoy *et al.*, 1990 ; LABEIM, 1992).

Divers prélèvements ont été effectués dans le but de réaliser des analyses pathologiques. Si des anomalies branchiales ou encore des inclusions intracytoplasmiques ont été ponctuellement observées, l'hypothèse d'une cause infectieuse n'a jamais été validée, et parfois même écartée (LABEIM, 1992 ; Lodato, 1997 ; Soletchnik *et al.*, 1998b).

L'insuffisance des réserves trophiques du Bassin a également été soupçonnée. Mais si les modèles élaborés (Héral, 1986) permettent d'expliquer partiellement l'augmentation des

Figure 3 - Dimension multifactorielle des phénomènes de mortalité



Température, Salinité, O₂ dissous, disponibilité trophique, Pollution

Source : MOREST [Synthèse des propositions de l'ensemble des partenaires impliqués], 2001

mortalités chroniques, ils ne permettent pas d'expliquer l'apparition de mortalités ponctuelles au printemps et en été.

Finalement, la plupart des conclusions retenues au cours des années antérieures font état d'un processus de stress thermique. Celui-ci, en période estivale, est le plus souvent précédé d'une période où l'huître *Crassostrea gigas* présente un potentiel de croissance faible, voire négatif, en période de maturité sexuelle avancée (Soletchnik *et al.*, 1997a, 1997b). En effet, les huîtres présentent une demande métabolique accrue en période de gamétogenèse, qui peut provoquer une certaine « détresse physiologique » durant cette période.

3. Le programme MOREST (MOREST, I et II, 2001)

3.1. Les acquis

Les études antérieures ont permis de montrer que les mortalités surviennent quand il y a conjonction entre un état de fragilité physiologique (maturité sexuelle avancée, faiblesse des réserves en glycogène ...) et des conditions limites du milieu (chaleur, hypoxies, dystrophies...).

Ces données confirment le caractère multifactoriel des mortalités. C'est pourquoi le programme MOREST propose un schéma qui prend en compte l'animal (génétique et stade physiologique) et l'interaction entre l'environnement, la physiologie-immunologie et la pathologie.

3.2. Trois constats pour guider les recherches

Premier constat

Il n'a pas été possible d'expliquer effectivement les mortalités estivales par un seul facteur. Le projet propose donc de conduire une approche tenant compte de la dimension multifactorielle de ce phénomène, dans laquelle l'hypothèse de travail est que la mortalité résulte des interactions entre trois compartiments : l'environnement, l'hôte et les pathogènes (figure 3).

Deuxième constat

Il existe une très forte implication de la période reproductive et de son intensité chez l'hôte. L'hypothèse d'un effort de reproduction trop "coûteux" est souvent avancée : toute l'énergie acquise est allouée au compartiment germinal, les réserves sont épuisées, la demande métabolique est à son maximum, et par conséquent l'animal n'a plus les moyens énergétiques pour lutter contre une agression quelconque provenant du milieu (excès de température, nourriture déficiente, zootechnie contraignante, attaque parasitaire...).

Prenant en compte cette hypothèse qu'une étape physiologique puisse se faire au détriment du système de défense, ce projet va s'attacher à établir un lien entre la physiologie et l'immunologie. Ce schéma permettrait d'expliquer qu'il n'existe pas un seul pathogène responsable des mortalités, mais plus vraisemblablement des pathogènes opportunistes.

Troisième constat

Il pourrait exister une base génétique aux mortalités observées chez le naissain de *Crassostrea gigas*. Ce constat implique que l'effet génétique soit validé, et l'héritabilité du caractère estimée. C'est dans ce but que le programme MOREST prévoit un plan de croisement important, à partir duquel, il sera possible d'étudier des phénomènes complexes comme des interactions en milieu naturel, ou de réaliser des expérimentations en physiologie, immunologie ou pathologie sur du naissain de familles connues pour en démontrer le déterminisme. Il permettra, par ailleurs, de voir s'il est possible de sélectionner le caractère conférant aux huîtres une meilleure survie en cas de stress (thermique ou autre).

Figure 4 – La méthodologie

➤ **T₀ : sortie de nurserie**

Mesures instantanées :

- Respiration (métabolisme de base)
- Biométrie (indice de condition)

Qualité des cheptels

Caractérisation des familles ?

Stress :

- Stress thermique standard :
mesure de la respiration
suivie de la mortalité

Résistance aux stress, Vitalité

Meilleure caractérisation ?
Nouvelle caractérisation ?
Pas de caractérisation supplémentaire ?
⇒ Autres tests ?

➤ **T₁₅ : après 15 jours sur estran**

- Dénombrement des mortes et des vivantes
- Nouvelle série de tests

Confirmation des résultats et caractérisation à T₀ ?
Caractérisation différente due à l'influence du milieu ?

3.3. Le rôle de la station au sein du programme MOREST

Le projet physiologique : description et objectifs

Le LGP (Laboratoire de Génétique et Pathologie) de La Tremblade a été chargé de réaliser ce plan de croisement, il s'agit de croisements de type hiérarchiques : chaque mâle est croisé par plusieurs femelles, générant des familles de demi-frères (annexe 1a). Il a été ainsi réalisé 3 séries de 24 croisements afin de permettre la production d'environ 45 (3*15) familles génétiques.

Le LCPC, en collaboration avec d'autres laboratoires, est en charge du projet physiologique. L'objectif en physiologie est de caractériser l'état physiologique de l'huître en conditions normales et de détecter sa réponse aux conditions limites. Cette étude impliquera un suivi dans le milieu naturel (sites de culture) et une approche expérimentale où l'effet des paramètres de l'environnement les plus pertinents seront étudiés. Cette approche sera systématiquement couplée à la caractérisation du système immunitaire, aux études de pathologie, et permettra la comparaison des familles génétiques et du naissain naturel.

L'état physiologique de l'huître peut être caractérisé par de nombreuses méthodes permettant une approche globale des paramètres du métabolisme (estimation de la demande métabolique par la consommation d'oxygène, composition et indices biochimiques, estimation de l'état des réserves par mesure du glycogène et des triglycérides, équilibre acido-basique, indices de stress...).

Les objectifs pour les quatre années à venir du projet physiologique dans le programme MOREST sont donc (MOREST, II., 2001) :

- ✓ Valider et mettre au point des outils adaptés au problème des mortalités estivales.
- ✓ Caractériser l'état physiologique des huîtres en conditions normales ou pendant des épisodes de mortalités (études « *in situ* »).
- ✓ Déterminer l'influence des paramètres de l'environnement agissant comme facteurs de perturbations physiologiques (études expérimentales).
- ✓ Contribuer aux propositions de prévention des mortalités (études expérimentales et validation « *in situ* »).

Définition et objectifs du sujet

Mon travail au sein de ce projet concerne l'étude de la première série de familles. L'objectif de cette étude est (1) de caractériser les familles génétiques au niveau physiologique, et (2) de mettre en évidence les éventuelles différences significatives.

Pour cela, j'ai réalisé deux grands types de mesures (figure 4) en sortie de nurserie (voir calendrier d'élevage en annexe 1b) : d'une part, des mesures instantanées (respiration et biométrie) afin de définir la qualité des cheptels et par conséquent, de caractériser les familles ; d'autre part, des mesures et suivi de respiration après différents stress afin de définir la vitalité et la résistance aux stress des différentes familles. Ces mesures sont réalisées sur les familles de la série 1 à la sortie de nurserie, c'est à dire, juste avant la mise sur site.

Enfin, une nouvelle série de mesures, adaptées suivant les premiers résultats, est effectuée sur ces mêmes familles 15 jours après la mise sur site, afin de caractériser l'éventuelle influence du milieu et de confirmer ou d'infirmer le classement des familles entre elles.

4. Eléments de physiologie de l'huître *Crassostrea gigas*

4.1. Eléments de biologie

Les huîtres appartiennent à l'embranchement des mollusques, classe des bivalves ou lamellibranches. Chez le genre *Crassostrea*, la valve gauche ou inférieure est creuse, permettant à la masse viscérale de s'y développer.

Les huîtres présentent une reproduction sexuée. Chez *Crassostrea gigas*, la sexualité est alternative : l'huître fonctionne comme mâle ou femelle au cours d'une saison donnée avant de changer de sexe l'année suivante. Lorsque les produits sexuels sont mûrs, les géniteurs expulsent leurs gamètes, la fécondation se produit alors dans la mer, au gré des courants (Héral, 1989a).

4.2. La respiration

Dans les cellules animales, la source d'énergie par réaction exergonique est obtenue, soit par respiration en présence d'oxygène (respiration aérobie), soit par fermentation en absence d'oxygène (respiration anaérobie) (Lucas, 1993). La fonction de respiration représente la part des apports utilisés pour produire l'énergie nécessaire au métabolisme. La mesure de la consommation d'oxygène permet donc d'estimer l'activité métabolique de base.

Effet de la température sur la respiration

La température est un des facteurs environnementaux majeurs agissant sur l'activité métabolique de l'huître. Comme beaucoup d'invertébrés du littoral, elle ne peut assurer sa régulation thermique seule, et fait varier sa respiration et filtration afin de rester relativement indépendante de la température. La respiration se trouve donc modifiée par le facteur température, et ce, selon l'histoire thermique, la taille, le stade de maturité et le niveau de métabolisme de l'animal (Bayne *et al.*, 1976).

Effet de la maturité sexuelle sur la respiration

L'étude du bilan énergétique de *Crassostrea gigas* en cours de maturation sexuelle a déjà été abordée dans ce laboratoire (Soletchnik *et al.*, 1997a, 1997b). D'après ces études, à poids égal, une huître à un stade de maturation sexuelle avancée présente une consommation d'oxygène inférieure à celle d'une huître immature. Néanmoins, les besoins énergétiques de respiration augmentent significativement au cours du printemps avec la prise de poids liée à la maturation de l'huître.

4.3. Définition d'un stress

Bayne (1975) a proposé la définition suivante pour un stress chez les mollusques bivalves marins : « Un stress est une altération mesurable d'un état physiologique stable (comportemental, biochimique ou cytologique) qui est induite par une modification environnementale et qui rend les individus (ou la population) plus vulnérables à des variations ultérieures du milieu ». Ces stress peuvent être physiques (manipulations, envasement, agitation, exondation, hypothermie, hyperthermie...), chimiques (salinité, oxygène, métaux, polluants organiques...) ou biologiques (parasites, algues toxiques, compétiteurs, pathogènes, prédateurs...).

Notons que les individus à forte demande métabolique sont généralement moins résistants en conditions stressantes (Tremblay *et al.*, 1998).

Matériels
&
Méthodes

Figure 5 - Stockage en demi-poche dans des race-way de 800L.

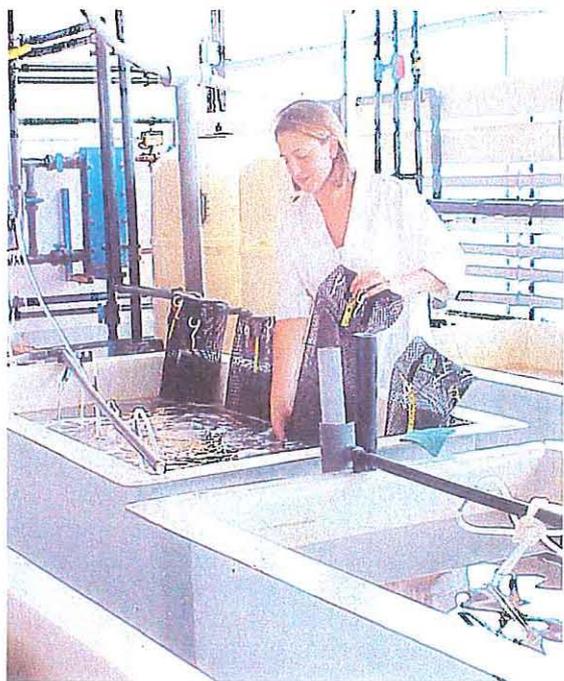


Figure 6 - Echantillonnage : conditionnement en nacelles



Figure 7 - Stockage en salle de maturation dans des race-way de 120 L.



III. Matériels et méthodes

1. Le matériel biologique et son conditionnement

L'étude présente porte sur 11 des 15 familles de la série 1, auxquelles s'ajoute un témoin de captage naturel (témoin de Fouras), et un pool génétique réalisé par mélange des 15 familles de cette série, afin de comparer naissain d'écloserie et naissain naturel. Ces familles sont issues de croisements hiérarchiques effectués au mois de février 2001. Après leur élevage en nurserie, les huîtres ont été mises sur sites expérimentaux le 20 juin 2001, conditionnées en plusieurs demi-poches de 150 individus. Cette date correspond aussi au premier prélèvement sur lequel a été réalisée la première série de mesure (mesures à T_0). Au niveau du programme MOREST, trois sites expérimentaux sont retenus : le site de Ronce Perquis (Bassin de Marennes-Oléron), le site de Fort Espagnol (Bretagne Sud) et le site de Baie des Veys (Normandie). Ici, l'étude porte sur le premier site. Les résultats seront à comparer ultérieurement avec ceux des deux autres sites.

Un second prélèvement est réalisé 15 jours après la mise sur site, le 05 juillet 2001, afin de réaliser la deuxième série de mesures (mesures à T_{15}). Les références et notations des familles, ainsi que le calendrier d'élevage et de prélèvements de la série 1 sont présentés en annexe 1b et 1c.

Après le prélèvement, les individus de chaque famille sont conditionnés dans des demi-poches et placés, au laboratoire, dans un race-way de 800 L (figure 5). Ce race-way est alimenté en eau de mer, phytoplancton et oxygène. Les familles y restent jusqu'au jour de l'échantillonnage, elles sont alors conditionnées en nacelle de 20 à 30 individus (figure 6), et stockées dans un race-way de 120 L en salle de maturation (figure 7).

Figure 8 - Chronologie des expérimentations

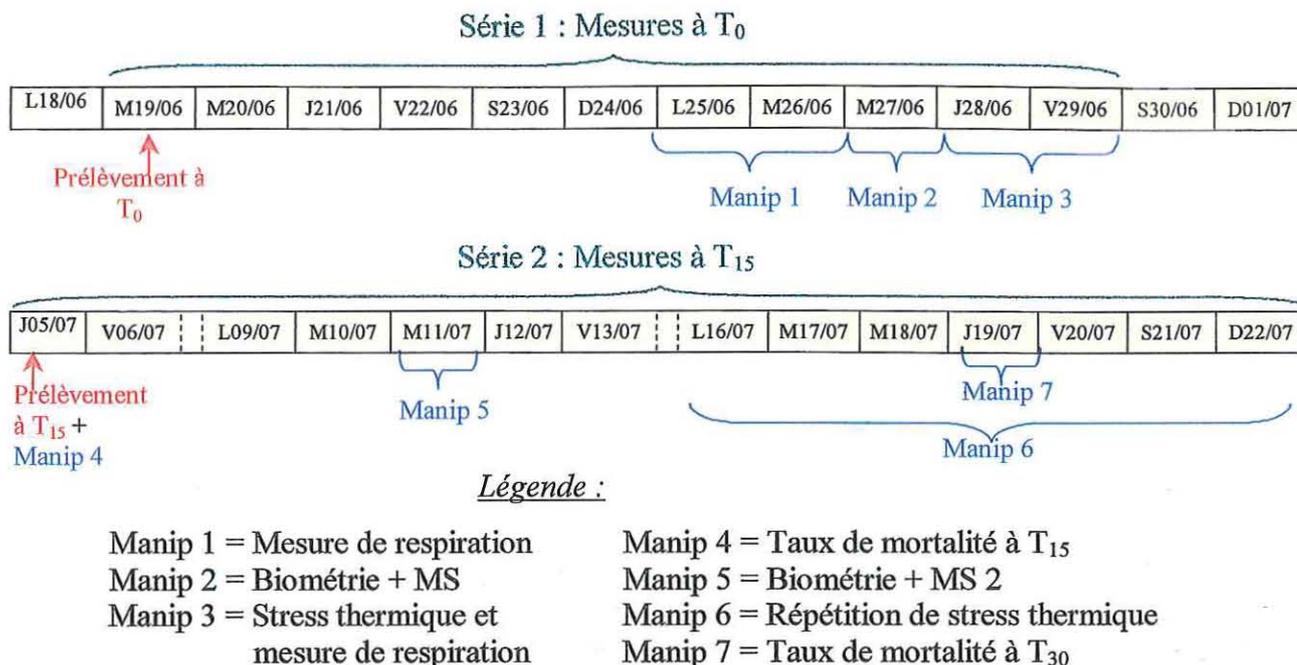


Tableau 1 - Les descripteurs de l'étude

	<i>Symbole</i>	<i>Définition</i>	<i>Unité</i>
Mortalité	TM ₁₅	Taux de mortalité cumulée entre T ₀ et T ₁₅	%
	TM ₃₀	Taux de mortalité cumulée entre T ₀ et T ₃₀	%
Respiration	Cons _{gl}	Consommation globale d'oxygène	mg.h ⁻¹ .g ⁻¹ P _{sec}
	[O ₂] _i	Concentration initiale en oxygène dissous dans la cellule de mesure	mg.l ⁻¹
	[O ₂] _f	Concentration finale en oxygène dissous dans la cellule de mesure	mg.l ⁻¹
	V _c	Volume d'eau dans la cellule de mesure	l
	T	Temps pour obtenir une chute de 30% en oxygène dissous	min
Biométrie	P _{tot}	Poids total	g
	P _f	Poids frais de chair égouttée	g
	P _{sec}	Poids sec de chair lyophilisée	g
	P _{coq}	Poids sec de coquille	g
	I _{WM}	Indice de Walne et Mann	%
	Pr _t	Production en poids total	g
	Pr _{coq}	Production en poids de coquille	g
Maturité sexuelle	pcM	Pourcentage de "maigre"	%
	pcG	Pourcentage de "grasse"	%
	PcTG	Pourcentage de "très grasse"	%

2. Les tests et mesures

2.1. Chronologie, description et objectifs

Deux séries de mesures ont été réalisées : l'une à la mise sur site (T_0), et l'autre après 15 jours passés sur estran (T_{15}). Le calendrier de la figure 8 présente succinctement le déroulement chronologique des mesures, un calendrier plus précis est présenté en annexe 2.

Manip 1 : mesure de la respiration instantanée, afin d'estimer la demande métabolique de base des différentes familles. L'objectif est d'une part de mettre en évidence les différences significatives entre les 13 familles étudiées, d'autre part, de comparer cette respiration avec celle obtenue en condition stressante lors de la manip 3, et par conséquent de caractériser différents degrés de résistance.

Manip 2 : biométrie précise des échantillons et évaluation du niveau de maturité sexuelle des individus. Ces mesures ont deux objectifs, d'une part de calculer des indices de qualité, et d'autre part d'introduire des covariables telles que le niveau de maturation ou le poids des échantillons dans les analyses de variance.

Manip 3 : mesure de la respiration après stress thermique standard. Cette mesure a été effectuée sur 8 familles : CN, XX, F, I, A, E, G et H. Le but de ces mesures est de mettre en évidence des différences phénotypiques de réponse à un stress.

Manip 4 : comptage des individus morts et vivants sur trois demi-poches de 150 individus par famille, après 15 jours passés sur estran.

Manip 5 : équivalent de la manip 2 pour la 2^{ème} série de mesures.

Manip 6 : effet de répétition de stress thermiques journaliers standards sur la respiration. Ces mesures ont été effectuées sur 4 familles choisies d'après un critère de mortalité : 2 familles à faible mortalité (G et I), et 2 familles à forte mortalité (L et H).

Manip 7 : comptage des individus morts et vivants sur trois demi-poches de 150 individus par famille, après 30 jours passés sur estran.

2.2. Les descripteurs de l'étude

Le tableau 1 présente la liste des descripteurs de l'étude, ainsi que leur définition, abréviation correspondante et unités. La justification du choix de certains descripteurs sera faite au fur et à mesure de la description des protocoles expérimentaux.

Tableau 2 - Méthode d'échantillonnage

Manipulation	Taille des échantillons	Nombre de réplicats par famille	Familles étudiées
Manip 1	30 individus	5	Les 13 familles : A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, L, CN et XX
Manip 2	Manipulation faite sur les échantillons de la manip 1		
Manip 3	25 individus	5	8 familles : A, E, F, G, H, I, CN et XX
Manip 5	20 individus	5	Les 13 familles : A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, L, CN et XX
Manip 6	20 individus	12	4 familles : G, H, I et L

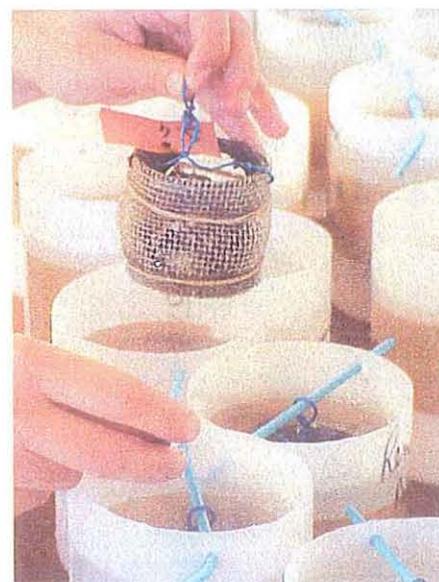
Tableau 3 - Manip 6 : application de stress thermiques selon 4 traitements

Date	Jour	Mesure	Réplicat n°											
			Traitement 1			Traitement 2			Traitement 3			Traitement 4		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
16/07	J ₁	M ₁	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NS	NS	NS
17/07	J ₂	M ₂	S	S	S	S	S	S	NS	NS	NS	NS	NS	NS
18/07	J ₃	M ₃	S	S	S	S	S	S	NS	NS	NS	NS	NS	NS
19/07	J ₄	M ₄	S	S	S	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
20/07	J ₅	M ₅	S	S	S	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
21/07	J ₆	M ₆	NS	NS	NS									
22/07	J ₇	M ₇	NS	NS	NS									

Légende : S = échantillon stressé, NS = échantillon non stressé

Figure 10 - Mise en place des échantillons dans les cellules de mesure

Figure 9 - Infrastructure de mesure de la respiration



3. Les protocoles expérimentaux

Des tests préliminaires, m'ont permis de mettre au point les protocoles expérimentaux de cette étude.

3.1. Echantillonnage

La respiration permet de mesurer le métabolisme de base de chaque famille dans des conditions différentes (avec ou sans stress, en sortie de nurserie ou après un séjour sur estran). Dans ce contexte d'étude, les mesures sont effectuées sur des « pools » de 20 à 30 individus.

Ainsi, avant toute expérimentation, les individus de chaque famille sont mis en échantillon dans des nacelles (figure 6, 10), de façon à disposer de 5 réplicats par famille. Ces nacelles ont été conçues pour les mesures de respiration sur du naissain. Un maillage de 8 mm sert de fond et retient les huîtres. Des ouvertures sur les côtés, recouvertes du même maillage, permettent les échanges et la circulation des flux lors des mesures de respiration.

Les échantillons, d'une taille initiale de 30 individus, ont été réduits à 25 pour la manip 3, et à 20 pour la 2^{ème} série de mesures à cause de la croissance du naissain.

Le tableau 2 récapitule la taille des échantillons pour chaque manip, et familles testées. La manip 6 nécessite 12 réplicats par famille car elle met en jeu 4 traitements différents, pour lesquelles a été retenu un minimum de 3 réplicats par traitement (tableau 3).

3.2. Mesure de la respiration

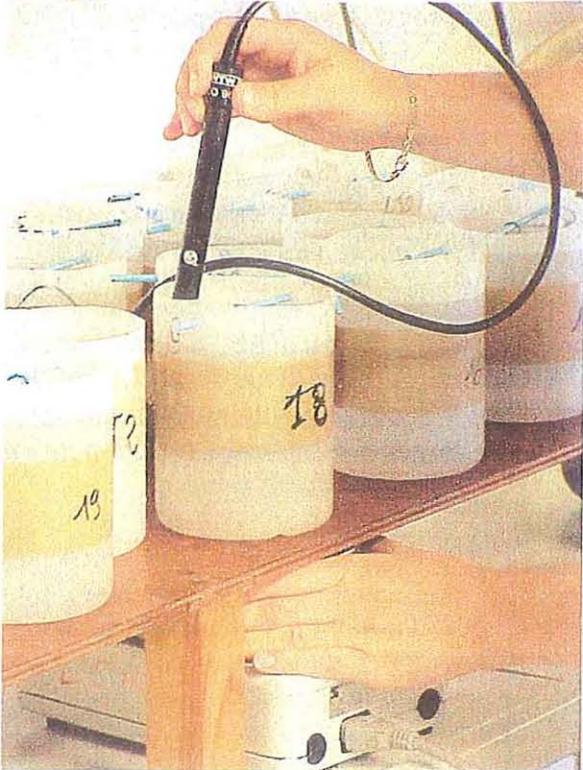
Pour les manip 1, 3, et 6, le protocole suivi pour la mesure de la respiration est le même. Ce protocole standard s'inspire de mesures effectuées sur des huîtres adultes durant des études antérieures (Soletchnik et al., 1997a et b ; Lagarde, 1997).

La respiration est mesurée grâce au suivi de la diminution de la concentration en oxygène dissous dans les cellules de mesure, en espace confiné. Après la mise en cellule de mesure des bivalves, les conditions ne sont plus constantes. En effet, la concentration en oxygène diminue au profit de la concentration en dioxyde de carbone. Les bivalves régulent alors leur respiration. Cependant une mesure s'arrêtant à 30% de chute de la concentration initiale en oxygène dans la cellule de mesure n'induit pas d'effet significatif sur la respiration (Soletchnik, *com. pers.*).

Les cellules de mesure, pouvant contenir 0,6 à 0,75 L d'eau, sont disposées sur une table de mesure surélevée (figure 9). Elles sont remplies d'eau de mer 1 à 2 heures avant le début des mesures, afin de stabiliser la température et la concentration en oxygène dissous. De plus, les mesures s'étalant sur plusieurs semaines, il est nécessaire que la qualité de l'eau soit standard. Des tests préliminaires ont permis de comparer de l'eau de forage et de l'eau de mer filtrée à 3 µm : l'eau de mer filtrée a été retenue pour faire les mesures de respiration.

Les échantillons d'huîtres sont placés dans les cellules (figure 10) équipées d'un système permettant de laisser la nacelle en suspension dans l'eau. Ce système assure la circulation de l'eau et évite de choquer les huîtres lors de l'homogénéisation du milieu avant la mesure. Les mesures d'oxygène dissous sont effectuées toutes les 5 à 10 minutes environ, pendant 1h-1h30, dans une limite de consommation de 30%. Un inducteur magnétique est déplacé sous les cellules de mesure (figure 11). Une sonde oxymétrique WTW, équipée d'un agitateur magnétique, est reliée à un oxymètre et exprime les valeurs en mg.L⁻¹ d'oxygène dissous. Lors de ces mesures, la température n'est pas contrôlée, mais l'oxymètre (figure 12) permet de la suivre. Deux cellules sans échantillon constituent deux témoins qui permettent de faire des rectifications dues à la consommation de la sonde.

Figure 11 - Mesure de la concentration en oxygène dissous.



L'inducteur magnétique est placé sous les cellules de mesure contenant les huîtres. La sonde oxymétrique est équipée d'un agitateur aimanté afin de permettre une bonne homogénéisation du milieu lors de la mesure.

Figure 12 - Oxymètre : mesure la concentration en oxygène dissous et la température.



Figure 13 - Ouverture d'un échantillon et évaluation du stade de maturité sexuelle.



Pour les manips 3 et 6 dont les échantillons ne font pas l'objet de biométrie, le poids total des huîtres de chaque échantillon est mesuré, afin d'estimer le poids sec qui sera utilisé pour le calcul du descripteur. Cette estimation est faite grâce à des régressions linéaires établies avec les résultats de biométrie pour chaque série de mesure.

3.3. Biométrie et maturité sexuelle

Biométrie

Les mesures de biométrie sont effectuées par échantillon, en suivant le même protocole :

- Mesure du **poids total** de l'échantillon P_{tot} ,
- Ouverture des huîtres et évaluation du stade de maturité sexuelle (figure 13),
- Séparation des coquilles et de la chair,
- Mesure du **poids frais** P_f par pesée de la chair après égouttage sur papier absorbant,
- Le **poids sec de chair lyophilisée** P_{sec} est mesuré après congélation et lyophilisation pendant 48 à 72h,
- Enfin, le **poids sec de coquille** P_{coq} est mesuré après 24h de séchage à l'étuve à 50°C.

Evaluation de la maturité sexuelle (d'après REMORA ; Lodato, 1997)

La caractérisation des stades de maturation est basée sur des critères macroscopiques, inspirée du protocole utilisé dans le réseau d'observation REMORA (réseau de suivi de la croissance des huîtres creuses). Elle se fait par observation de la chair et permet de distinguer trois stades :

- **Stade M** : huître maigre, pas de maturation,
Description : la glande digestive est à la fois visible sur la surface supérieure et inférieure de la chair.
- **Stade G** : huître grasse, maturation en cours,
Description : Les canaux de la gonades sont discernables (stries blanchâtres).
- **Stade TG** : huître laiteuse (très grasse), maturation avancée,
Description : une lame de scalpel frottant légèrement la gonade par en dessous fait s'échapper des gamètes.

Choix des descripteurs de biométrie

Bien que le poids total constitue un descripteur de référence rapide à obtenir, son estimation reste peu précise. En effet, la variation de la teneur en eau intervalvaire est une source de variation importante dans les mesures (Le Moine *et al.*, 2000). Le poids frais est également un descripteur dont la mesure est peu précise en raison de la teneur en eau de la chair et dépend du temps et de la méthode d'égouttage. L'indice AFNOR, indice de qualité de référence dans le milieu professionnel, est le rapport de ces deux poids. Il n'a donc pas été retenu dans cette étude.

Les deux descripteurs : poids sec (après lyophilisation) et poids de coquille (après séchage à l'étuve) constituent deux mesures précises et complémentaires qui permettent de calculer l'indice de qualité de Walne et Mann, beaucoup plus fiable que le précédent.

Figure 14 - Stress thermique : mise à l'étuve des échantillons à 37°C pendant 2 heures



3.4. Stress thermique standard

Afin de pouvoir comparer les résultats des différentes manips, il est indispensable de définir un stress thermique standard, qui sera appliqué toujours de la même façon et dans les mêmes conditions. Ainsi, pour les familles concernées, les échantillons sont placés pendant deux heures dans une étuve à 37°C (figure 14). La température du race-way dans lequel sont placés les échantillons est de 20 à 22°C, le stress thermique appliqué provoque donc une variation de température de 15 à 17°C. De telles variations de température sont observables sur estran en période estivale. En effet, à cette saison, il n'est pas rare à marée basse, lorsque les huîtres sont exondées que la température atteigne 35 à 40°C.

3.5. Mortalité

L'évaluation du **taux de mortalité TM** entre T_0 et T_{15} , consiste en un dénombrement des individus morts et vivants dans 3 demi-poches de 150 individus par famille. Les poches sont vidées une par une, les huîtres nettoyées à l'eau afin d'éliminer la vase et les algues, puis comptées. Lorsque les valves des huîtres mortes sont séparées, seules les valves inférieures (valves creuses) sont comptées.

4. Obtention et traitement des données

4.1. Biométrie

Les mesures de biométrie permettent le calcul de deux types d'indice de qualité, qui pourront être mis en relation avec les mortalités, et intégrés comme cofacteurs dans les analyses. Il s'agit d'une part d'indices de condition, et d'autre part d'indice de croissance. Se référer au tableau 1 pour la définition des symboles.

Indice de condition

✓ **Indice de Walne et Mann I_{WM}** :

Cet indice de qualité se calcule comme suit :

$$I_{WM} = \frac{P_{sec}}{P_{coq}} * 1000$$

Indices de croissance

✓ **Production en poids total Pr_t** :

$$Pr_t = \frac{P_{tot}(T_{15}) - P_{tot}(T_0)}{15}$$

✓ **Production en poids de coquille Pr_{coq}** :

$$Pr_{coq} = \frac{P_{coq}(T_{15}) - P_{coq}(T_0)}{15}$$

Tableau 4 - Solubilité de l'oxygène dans l'eau à 32‰ de salinité, en fonction de la température

Température (°C)	Solubilité oxygène	
	ml.l ⁻¹	mg.l ⁻¹
19	5,36	7,7
20	5,26	7,5
21	5,16	7,4
22	5,07	7,2
23	4,98	7,1
24	4,89	7,0

d'après Aminot et Chaussepied, 1983

Tableau 5 - Valeurs mesurées et théoriques en oxygène dissous en fonction de la température lors d'une manip préliminaire

Mesure n°	Conditions		Valeurs observées (mg.l ⁻¹)		Valeurs théoriques		Ecart par rapport à la saturation (mg.l ⁻¹)
	AM/PM	T _{eau} (°C)	Témoin 1	Témoin 2	ml.l ⁻¹	mg.l ⁻¹	
1	AM	20,3	7,2	7,2	5,23	7,5	-0,3
2	PM	21,5	7,2	7,4	5,11	7,3	0
3	AM	21,0	7,0	7,3	5,16	7,4	-0,25
4	PM	22,3	7,2	7,2	5,04	7,2	0
5	AM	21,4	7,1	7,2	5,12	7,3	-0,15
6	PM	22,8	7,1	7,0	5,00	7,1	0

Légende : AM = matin ; PM = après-midi ; T_{eau} = température de l'eau

4.2. Les mesures de respiration

Corrections des mesures

La solubilité de l'oxygène dans l'eau dépend de plusieurs facteurs : la température, la salinité et la pression partielle d'oxygène (Aminot et Chaussepied, 1983). A pression partielle constante, la présence de sels dans l'eau réduit la solubilité de l'oxygène, il est donc indispensable d'apporter une correction. Ici, la standardisation de l'eau utilisée permet de travailler avec une salinité constante de 32‰. L'oxymètre utilisé possède une fonction de correction selon la salinité, il suffit avant la mesure de saisir la salinité de l'eau avec laquelle on travaille.

Cet oxymètre possède aussi une fonction de correction automatique selon la pression atmosphérique (OXI 196, 1988). Ainsi, les corrections selon la salinité et la pression partielle en oxygène sont faites avant la lecture des mesures.

Pour une salinité donnée, Aminot donne la valeur de la solubilité de l'oxygène à la saturation en fonction de la température (annexe 3). Ces valeurs exprimées en ml.l^{-1} sont converties en mg.l^{-1} en les multipliant par un coefficient de 1,429 (Aminot et Chaussepied, 1983) (tableau 4).

L'étude de ce facteur température a été faite lors d'un test préliminaire. Le tableau 5 présente, pour les 6 mesures de cette manip, les conditions de température de l'eau, les valeurs mesurées de la concentration en oxygène dissous dans les deux cellules témoins, ainsi que la valeur théorique de la solubilité de l'oxygène (d'après Aminot et Chaussepied, et le tableau 4). Nous remarquons que le matin l'eau est légèrement hypoxique, alors qu'elle se trouve à saturation lorsque les mesures sont réalisées l'après-midi. Ceci peut s'expliquer par la présence de microphytoplancton échappant à la filtration initiale de l'eau de mer. En effet, ce dernier consomme de l'oxygène durant la nuit, créant une légère hypoxie. Il produit, par photosynthèse, de l'oxygène pendant la journée, permettant de remonter le niveau d'oxygène dissous à la saturation en fin de matinée. Néanmoins, cette variation est peu significative dans l'intervalle de temps nécessaire aux huîtres pour consommer 30% de l'oxygène dissous présent au départ. Ainsi, comme la température de l'eau ne varie pas de plus de 3 à 3,5°C d'une expérience à l'autre, l'influence de ce facteur sera négligé.

Cette première expérience a aussi permis d'étudier la reprise d'oxygène due aux échanges avec l'air (annexe 4). Il apparaît que cette reprise est d'autant plus rapide que la concentration en oxygène dissous est faible. Les mesures de respiration s'arrêtant quand cette concentration atteint 4,9 à 5,3 mg.l^{-1} suivant les manip, la reprise en oxygène par échange air-eau est lente. Il faut en effet plus de 10 à 12 heures pour atteindre à nouveau le niveau de saturation. Ainsi, cette reprise en oxygène pendant la période de mesure (une heure en moyenne) est négligeable et n'est, par conséquent, pas prise en compte.

Calcul du descripteur

La consommation globale d'oxygène Cons_{gl} , est exprimée en $\text{mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$, et calculée par la formule suivante : (tableau 1)

$$\text{Cons}_{\text{gl}} = \frac{([\text{O}_2]_i - [\text{O}_2]_f) * V_c}{(T / 60) * P_{\text{sec}}}$$

Tableau 6 – Légende des abréviations utilisées pour les analyses de variance

<i>Abréviations</i>	<i>Définitions</i>
SCE	Somme des Carrés des Ecarts
CD	Coefficient de Détermination
ddl	degré de liberté
CM	Carré Moyen = variance
F _{obs}	valeur de F
P	Probabilité de rencontrer une valeur supérieure à F _{obs}
S	significativité

4.3. Traitements statistiques et analyses

L'ensemble des traitements statistiques est effectué à l'aide du logiciel « Statgraphics plus version 4 ». Des analyses de variances et tests de rang de Kruskal-Wallis permettent de comparer les descripteurs et les performances physiologiques des huîtres des différentes familles génétiques. L'effet des interactions entre les facteurs est abordé.

Une première étape de l'analyse consiste à étudier les distributions des différents descripteurs. L'ajustement ou non des variables à la loi Normale est ainsi vérifié par l'intermédiaire des tests du Chi², de Skewness et de Kurtosis. Le premier compare les fréquences observées par les mesures avec les fréquences théoriques d'une distribution normale. Les deux autres tests permettent de déterminer respectivement le degré d'asymétrie et d'aplatissement de la distribution (Statgraphics plus, 1997).

Des analyses de variance sont réalisées sur les descripteurs qui suivent une loi Normale (tableau 6). Lorsque l'hypothèse nulle est rejetée, c'est à dire quand il y a, d'une famille à l'autre, une différence significative des moyennes de la variable étudiée ; des tests de rang sont réalisés. Ces tests, permettant de déterminer quelles moyennes sont significativement différentes des autres, sont basés sur la méthode LSD (Least Significant Differences).

Pour l'analyse des descripteurs dont la distribution n'est pas normale, des outils de statistique non paramétrique sont utilisés. Le test de rang de Kruskal-Wallis, dont l'hypothèse nulle est l'égalité des médianes pour chaque niveau du facteur étudié, est utilisé afin d'observer la variabilité de ces descripteurs.

Pour l'étude de la mortalité, la variable est normalisée, afin de pouvoir établir un classement par tests de rangs, avec la méthode LSD. Ces traitements statistiques se font donc sur une variable transformée : $\text{Arcsin}[\sqrt{(\% \text{mortalité})}]$.

Dans l'ensemble des tableaux d'analyse qui seront présentés, les différents seuils de significativité ont été codés de la manière suivante :

- NS = non significatif,
- * = significatif au seuil de 5%,
- ** = significatif au seuil de 1%,
- *** = significatif au seuil de 1%.

Résultats

Discussion

Figure 15 - Bilan des mortalités

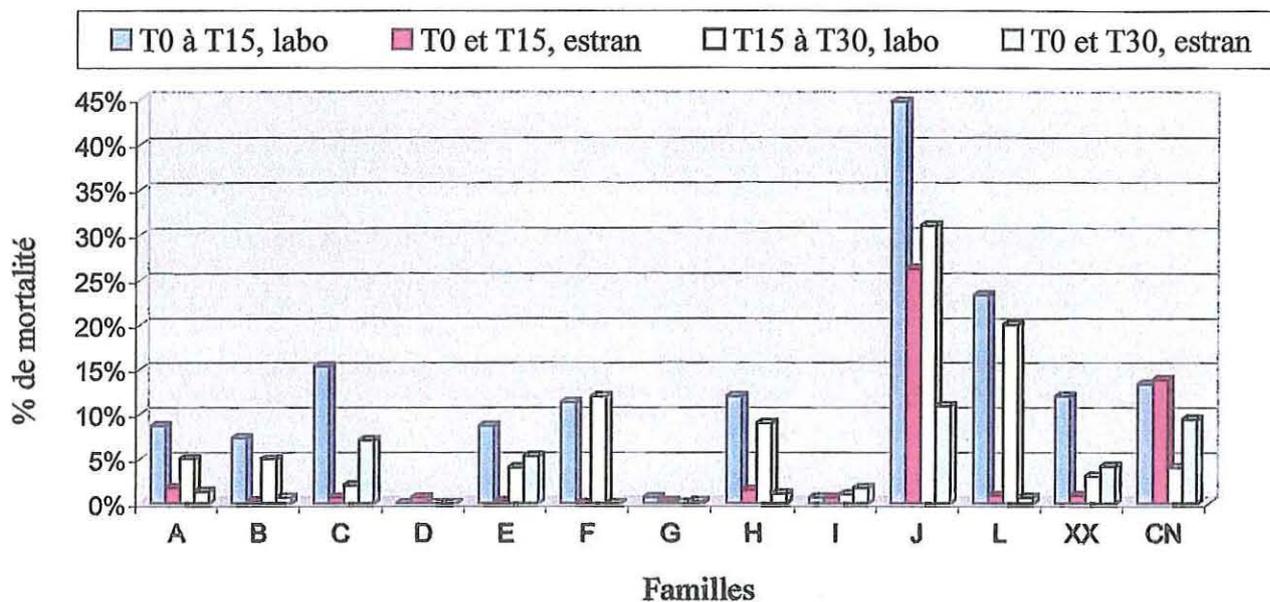


Tableau 7 - Analyses de variance. Résultats du test de Kruskal-Wallis pour les stades de maturité sexuelle selon le facteur famille pour les deux séries de mesures.

	Série 1		Série 2	
	Probabilité	Significativité	Probabilité	Significativité
pcM	0,0070	**	0,0109	*
pcG	0,2240	NS	0,1197	NS
pcTG	0,0087	**	0,0050	**

Tableau 8 - Matrice de corrélation des variables de mortalité (TM) et de stade de maturité sexuelle (pcM, pcG, pcTG) pour l'ensemble des familles. Le premier chiffre indique le coefficient de corrélation, et le second entre parenthèse la valeur P.

Série 1	TM	Série 2	TM
TM		TM	
pcM	0,0881 (0,4994)	pcM	-0,0551 (0,6983)
pcG	0,0682 (0,6014)	pcG	0,1568 (0,2668)
pcTG	-0,1920 (0,1382)	pcTG	-0,0800 (0,5731)

IV. Résultats - Discussion

1. Observation des mortalités

Les manips 4 et 7 ont permis d'obtenir pour chaque famille les taux de mortalité observés sur les 15 et 30 premiers jours suivant la mise sur estran (figure 15). Les mesures de biométrie ont été précédées de comptage des huîtres mortes dans les nacelles depuis leur mise en échantillon, donnant ainsi une estimation de la mortalité au laboratoire.

Après 15 jours passés sur estran, seule la famille J et le captage naturel (CN) présentent des mortalités significatives, qui s'élèvent respectivement à 26 et 14%. On remarque, pour une même famille, des différences de mortalité entre le laboratoire et le site expérimental. En effet, la famille L semble être fragile puisque le taux de mortalité observé au laboratoire est de l'ordre de 20% pour les deux séries de mesures. Sur estran, aucune mortalité n'est détectée après 30 jours. C'est le cas aussi des familles F et H, dont la mortalité au laboratoire est d'environ 10%.

Au laboratoire, les résultats de mortalité permettent de caractériser les familles J et L à forte mortalité, les familles D, G et I à très faible mortalité, et un groupe intermédiaire où les mortalités sont plus ou moins élevées. En effet, le taux de mortalité de la famille J atteint près de 45% au laboratoire, et celui des familles D, G et I ne dépasse pas les 2%, quelque soit la période d'étude.

Ainsi, l'environnement laboratoire influence les mortalités, et met en évidence un état physiologique déjà fragilisé.

Les 13 familles étudiées ici ont la même histoire, elles ont été élevées dans les mêmes conditions et mise sur estran en même temps. Une telle différence au niveau des mortalités apparues au laboratoire ne peut provenir que de leur origine parentale. Ces résultats confirment l'influence des facteurs environnementaux sur l'évolution de la mortalité. En effet, des études antérieures ont montrées que l'aptitude à la survie d'une famille se retrouve dans sa descendance. Il existe donc des individus plus ou moins aptes à la survie. Les conditions environnementales aggraveraient une fragilité pré-existante (Pajot et al., 1998, 1999).

2. Caractérisation de la qualité des cheptels

2.1. La maturité sexuelle

Les manips 2 et 5 ont permis d'évaluer le niveau de maturation des familles étudiées (annexe 5)

Lors de la série 1, toutes les familles ont plus de 50% de leur population en cours de maturation et en maturation avancée (stade « gras » et « très gras »), à l'exception de CN. Cette famille est la moins avancée en terme de maturité sexuelle puisque 51% de sa population est encore immature. La famille J présente le plus fort taux de maturation (70%).

Le stade de maturation a évolué au cours de l'étude, entre J_0 et J_{15} . En effet, le pcG a globalement diminué. Pour la série 2, il est compris entre 44% pour la famille XX, et 61% pour la famille L. Cette diminution s'est faite au profit du pcTG. Ce dernier qui était, toutes familles confondues, de l'ordre de 17% lors de la série 1 est passé à 27% à la série 2.

Les résultats du test de Kruskal-Wallis (tableau 7) montrent que le pourcentage d'huîtres en cours de maturation (stade « gras ») n'est pas significativement différent d'une famille à l'autre. En revanche, le pcM présente une différence significative selon les familles, au seuil

Figure 16 - Croissance des huîtres en 15 jours sur estran

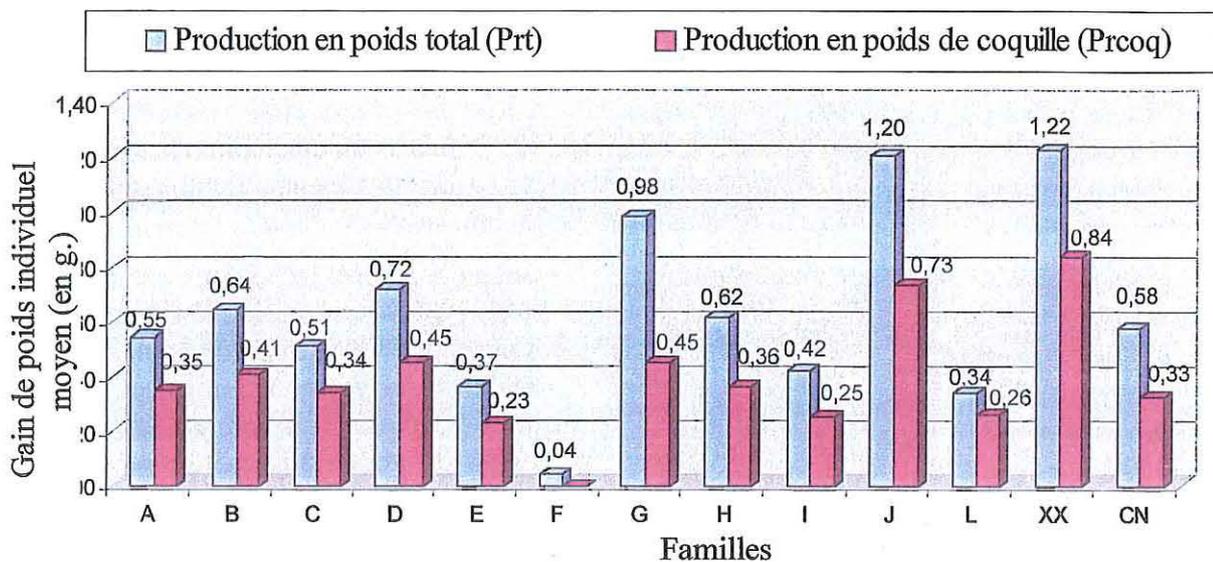


Tableau 9 - Analyse de variance par famille pour le descripteur Pr_t

Source	SCE	CD	ddl	CM	F_{obs}	P
Facteur étudié	6,20257	42,6	12	0,516881	3,10	0,0024
Résiduelle	8,34134	57,3	50	0,166827		
Totale	14,5439		62			

Tableau 10 - Tests de rang par famille pour le descripteur Pr_t , du gain le plus faible au plus important

Familles	Groupes homogènes
F	X
L	XX
E	XX
I	XX
C	XXX
A	XX
CN	XX
H	XXX
B	XXX
D	XXX
G	XX
J	X
XX	X

de significativité de 1% pour la série 1, et de 5% pour la série 2. De même, le pcTG est significativement différent entre les familles pour les deux séries de mesures.

Les familles J et L, à fort taux de maturation, se sont révélées très « fragiles » au laboratoire. Ces mortalités mettent sans doute en évidence une fragilité physiologique induite par un niveau de maturation avancée (Soletchnik et al., 1997b).

Néanmoins, bien que la maturation sexuelle affaiblisse les huîtres, aucune mortalité significative n'a été observée pour la famille G qui présente pourtant 65% de sa population en cours de maturation, et 19% au stade de maturation avancée. De même, la famille D, à faible mortalité, n'a que 7% de sa population à faible niveau de maturation.

Ainsi, il n'apparaît pas ici de relation entre la mortalité et le stade de maturité sexuelle (tableau 8). En effet, la valeur de probabilité associée au test de Student pour la variable TM est toujours supérieure à 0,05. Cette variable n'est donc pas corrélée au stade de maturité sexuelle. Ce dernier ne serait responsable que d'un affaiblissement physiologique qui induirait une mortalité chez les familles les plus sensibles.

2.2. Croissance sur estran

Les mesures de biométrie (manip 2 et 5) ont permis d'obtenir deux indices de croissance : la production en poids total Pr_t et la production en poids de coquille Pr_{coq} (figure 16).

Les familles J et XX ont eu une croissance importante en 15 jours. Leur production individuelle en poids total est respectivement de 1,20 et 1,22 g, pour une moyenne sur les 13 familles de 0,62 g. A l'opposé, la famille F ne présente pas de gain de poids significatif.

Au sein d'une même famille, le poids suit une distribution normale, ce qui permet de réaliser une analyse de variance classique (tableau 9) et les tests de rang selon la méthode LSD (tableau 10).

La valeur de la probabilité est inférieure à 0,01. Ce résultat confirme qu'il existe une différence significative de la croissance au seuil de significativité de 1%. Les résultats des tests de rang laissent apparaître 5 groupes homogènes, à l'intérieur desquels les croissances moyennes ne sont pas significativement différentes. Aux extrêmes rangs du classement, on trouve les familles F, J et XX. Les familles à forte mortalité (J, L et CN) se trouvent réparties dans plusieurs classes et ne permettent pas d'émettre d'hypothèse quant à la relation de ce descripteur avec la mortalité. Concernant les familles à faible mortalité (D, G et I), bien qu'il n'y ait pas de différence significative entre D et G, la famille I se distingue et fait partie des familles dont la croissance est la plus faible.

Néanmoins, les différences de prise de poids entre les deux séries de mesures sont surtout dues aux niveaux de maturité sexuelle des familles lors de la première série de mesures (manip 2). En effet, les familles dont la population était maigre à plus de 25% lors de la série 1, à savoir A, B, C, XX et CN, ont subi une maturation entre la série 1 et 2. Cette maturation s'accompagne du développement des tissus gonadiques, et par conséquent d'une prise de poids de chair relativement importante, ce qui explique qu'elles se retrouvent dans les trois classes où la croissance est la plus importante. A l'inverse, les familles qui étaient à un stade de maturité sexuelle déjà bien avancé à la série 1 (familles F, I et L), ont vu leur pcM augmenter et leur pcTG diminuer, ceci se traduisant par une faible prise de poids en 15 jours.

Figure 17 - Moyennes et intervalles de confiance de l'indice de Walne et Mann de la première série de mesures (17a), et de la seconde (17b)

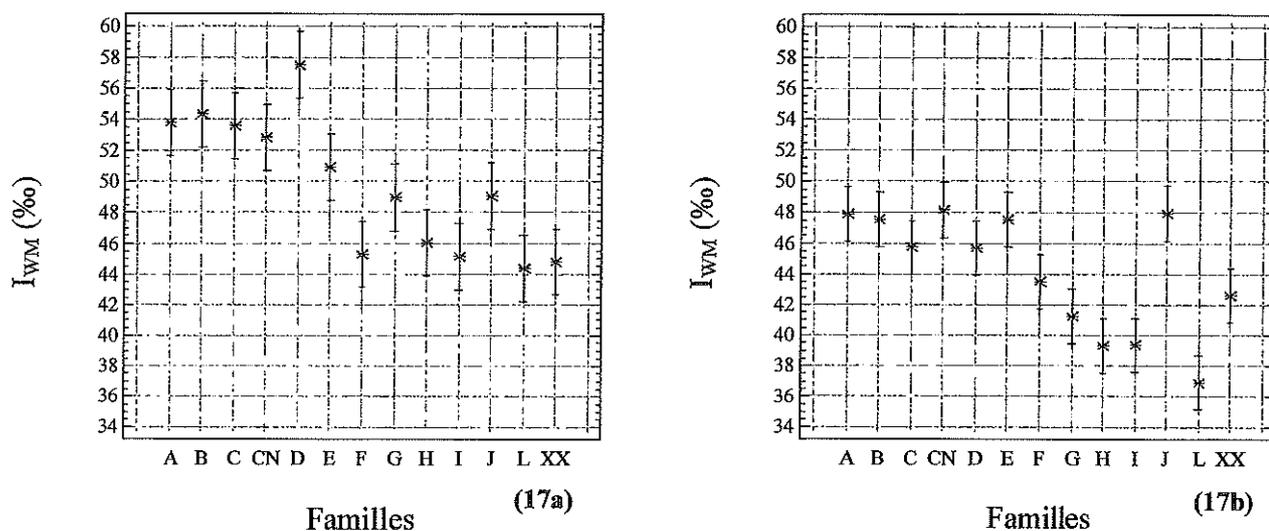


Tableau 11 - Analyses de variance. Résultats du test de Kruskal-Wallis pour l'indice de Walne et Mann selon le facteur famille pour les deux séries de mesures et son évolution en 15 jours.

	Probabilité	Significativité
I_{WM} - Série 1	0,0000	***
I_{WM} - Série 2	0,0000	***
Evolution - I_{WM}	0,0167	*

Tableau 12 - Tests de rang de la baisse d'indice de Walne et Mann entre la 1^{ère} et la 2^{ème} série de mesures pour les familles génétiques

Familles	Groupes homogènes	Chute moyenne
D	X	-21%
L	X X	-17%
G	X X	-16%
C	X X X	-15%
H	X X X X	-15%
B	X X X X X	-12%
I	X X X X X	-12%
A	X X X X X X	-11%
CN	X X X X X	-9%
E	X X X X	-7%
XX	X X X	-5%
F	X X	-4%
J	X	-2%

Les observations de cette étude confirment que la corrélation phénotypique entre croissance et survie totale ne montre aucune tendance globale (Ernande et al., 2001). D'après les études de Pajot et al. (1999), sur des familles de naissains, une forte croissance n'est pas forcément associée à une forte mortalité, ceci dépend avant tout de l'origine parentale. En effet, parmi les familles D, G, J et XX, à forte croissance, D et G ne présente aucune mortalité, alors que J et XX ont une mortalité élevée à très élevée.

Cependant, il existe une corrélation phénotypique fortement négative entre la croissance et la survie avant la reproduction (Ernande et al., 2001). Ainsi, les pratiques ostréicoles visant à augmenter la croissance des individus, pourraient entraîner une augmentation de la mortalité chez certains individus.

2.3. Evolution de l'indice de Walne et Mann

L'évolution de l'indice de Walne et Mann (I_{WM}) est importante pour la majorité des familles, et est négative dans tous les cas (figures 17a et 17b). Les résultats du test de Kruskal-Wallis montrent que cet indice est significativement différent entre les familles pour les deux séries de mesures, au niveau de significativité de 1‰ (tableau 11). Les familles se différencient aussi par l'importance de la chute de I_{WM} depuis la mise sur estran, au seuil de significativité de 5%. Le classement de cette chute par tests de rang permet de distinguer 6 groupes (tableau 12).

Toutes familles confondues, la chute moyenne de l'indice de Walne et Mann est de 12%. L'indice de la famille L subit donc une chute importante (17%) en 15 jours, passant sous la barre des 38‰. La famille D, dont l' I_{WM} est le plus élevé lors de la première série de mesure (figure 17a) avec une moyenne de près de 58‰, présente la baisse la plus importante (- 21%). L' I_{WM} de la famille J reste stable, et devient le plus élevé 15 jours après la mise sur site, avec une moyenne de 48‰ (figure 17b). Cette valeur est identique à celle des familles CN et E, qui n'ont pas eu non plus de chute importante de leur indice. L'indice de la famille G diminue dans les mêmes proportions que celui de la famille L, mais reste néanmoins supérieur avec une valeur proche de 41‰.

La chute globale des indices de condition lors de la mise sur site s'explique principalement par une différence des ressources alimentaires entre l'élevage en nurserie et sur estran. En effet, l'alimentation dont les huîtres disposaient en nurserie est bien supérieure aux ressources trophiques du bassin. Ainsi, les indices de Walne et Mann de ces familles ne réatteindront pas leur valeur de sortie de nurserie. Les baisses observées ne traduisent donc pas forcément une fragilité.

Néanmoins, une valeur faible de cet indice de condition peut traduire un affaiblissement de la population. Ceci pourrait expliquer les mortalités rencontrées au laboratoire pour la famille L. Mais, ces observations ne se confirment pas avec les familles J et I, respectivement à forte et faible mortalité.

Figure 18 - Moyennes et intervalles de confiance de la respiration instantanée

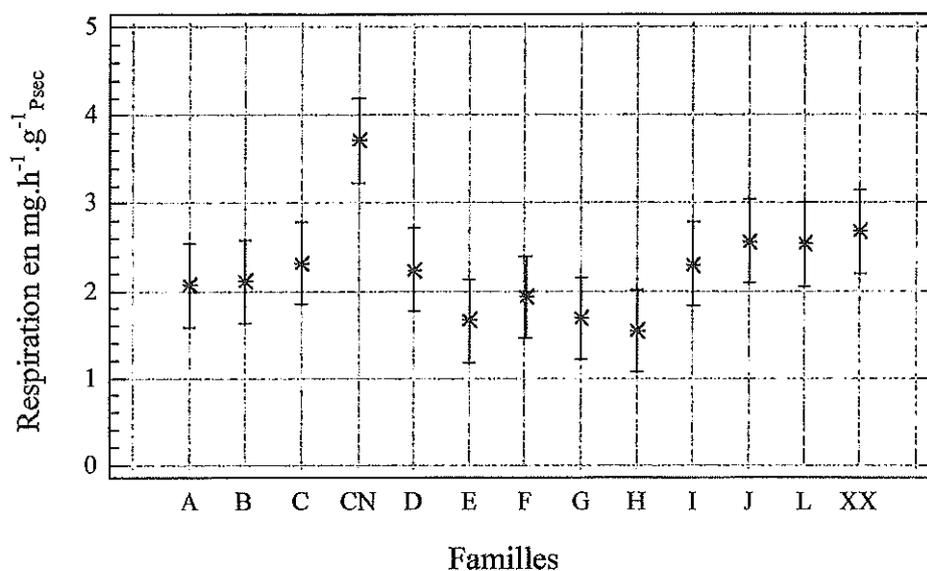


Tableau 13 - Analyse de variance de la respiration instantanée, avec pcM en covariable

Source	SCE	CD	ddl	CM	F _{obs}	P	S
Covariable							
pcM	6,58879	14,5	1	6,58879	15,82	0,0002	***
Facteur principal							
Famille	10,6922	23,4	12	0,891013	2,14	0,0319	*
Residuelle	19,5734	42,9	47	0,416456			
Totale	45,6335		60				

Tableau 14 - Tests de rang pour la respiration instantanée par famille, avec pcM en covariable (dans l'ordre d'un niveau de respiration de plus en plus élevé de haut en bas)

Familles	Groupes homogènes
H	X
A	X
G	XX
F	XXX
E	XXX
B	XXXX
C	XXXXX
XX	XXXXX
I	XXXXX
L	XXXX
J	XXX
D	XX
CN	X

2.4. La respiration instantanée

La respiration instantanée (manip 1) donne une estimation de l'activité métabolique de base (figure 18). La respiration de la famille CN est de l'ordre de $3,7 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène. Elle est significativement différente des autres familles dont la moyenne est de $2,2 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$. Les familles E, G et H semblent avoir une respiration légèrement inférieure à celle des familles J, L et XX, mais ces différences ne sont pas significatives.

L'analyse de variance intégrant le pcM en covariable (tableau 13), montre qu'il existe un facteur famille responsable des différences de l'activité métabolique au seuil de significativité de 5%. Ce facteur explique 23,4% de la variabilité. Ces résultats confirment en outre l'influence du niveau de maturité sexuelle sur la respiration. Ce facteur a un effet significatif au seuil de probabilité de 1% et explique près de 15% de la variabilité. Néanmoins, plus de 40% de la variabilité du système n'est pas expliqué par ce modèle.

Les tests de rang classent les familles en 5 groupes homogènes (tableau 14). Il permet de mettre en évidence d'une part la famille CN à forte activité métabolique, et d'autre part les familles H et A, à faible activité métabolique. Le captage naturel CN, présente une respiration significativement différente des familles H, A, G, F, E et B, mais ne se distingue pas des familles J, L, D et I. Trois familles (C, XX et I) semblent être caractérisées par un métabolisme intermédiaire. En effet, elles sont classées dans les 5 groupes et ne présentent donc aucune différence significative avec les autres familles.

L'activité métabolique importante de CN s'explique essentiellement par deux caractéristiques de cette famille :

- ✓ *CN est le témoin de captage naturel. Les huîtres ont été prélevées juste avant la mise sur site avec les autres familles, et n'ont pas connu d'élevage et de pré-grossissement en nurserie. De ce fait, elles sont beaucoup plus petites : une huître CN pèse en moyenne 0,85 g en poids total, alors que la moyenne des autres familles s'élève à 2,49 g. Bien que le descripteur de la respiration soit exprimé en gramme de poids sec, il existe tout de même des différences au niveau du métabolisme. En effet, il existe une relation d'allométrie : plus une huître est petite, plus sa demande métabolique, et par conséquent sa respiration, sont importantes par gramme de poids sec (Bougrier et al., 1995).*
- ✓ *De plus, du fait de ce retard de croissance, CN présente aussi un retard au niveau de la maturation sexuelle. Or, à poids égal, une huître immature a une consommation d'oxygène supérieure à celle d'une huître à un stade de maturation sexuelle avancée (Soletchnik et al., 1997a, 1997b). L'introduction de la covariable pcM dans l'analyse de variance a permis de s'affranchir de cet effet.*

Ces résultats ont permis de distinguer et de classer trois familles selon le niveau de leur métabolisme de base. Les familles H et A ont une faible demande métabolique, alors que la famille CN présente la demande métabolique la plus élevée.

De plus, on remarque que les familles à forte mortalité, à savoir J, L et CN, se retrouve dans le groupe des familles présentant le métabolisme le plus élevé, et se distinguent significativement des familles H et A. A l'inverse, les familles G et E, à faible mortalité, présentent une demande métabolique plus faible. Ceci tend à confirmer les observations de Tremblay et al. (1998), à savoir que les individus à forte demande métabolique sont généralement moins résistants. Néanmoins, des exceptions comme la famille D à forte demande métabolique et sans mortalité significative, permettent de confirmer l'importance du poids parental dans les mortalités.

Figure 19 - Moyennes et intervalles de confiance de la respiration après stress thermique standard

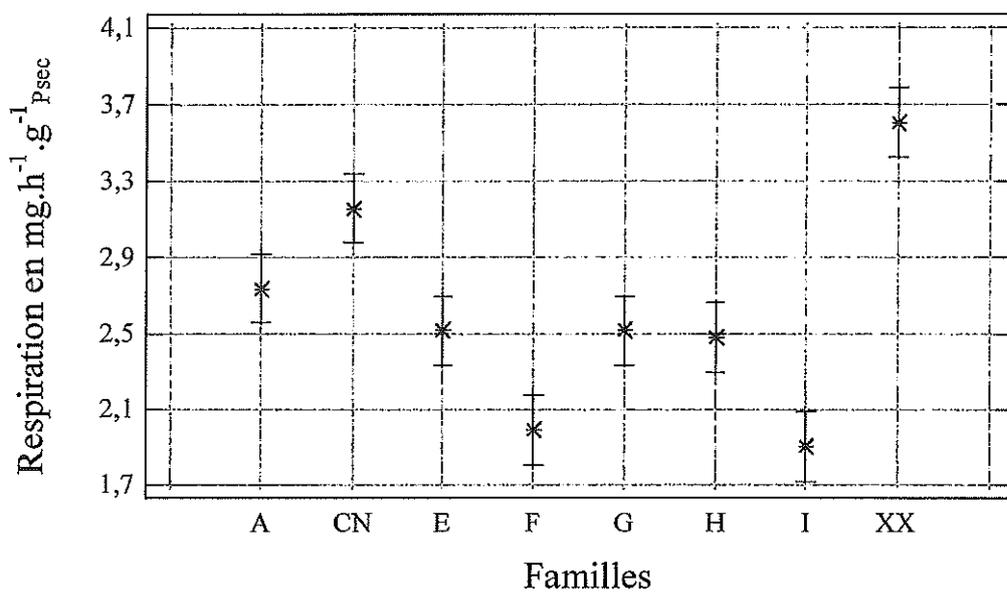


Tableau 15 - Analyse de variance de la respiration après stress thermique standard, selon le facteur famille

Source	SCE	CD	ddl	CM	F _{obs}	P
Facteur étudié	11,1323	81,3	7	1,59032	19,88	0,0000
Résiduelle	2,5603	18,7	32	0,08001		
Totale	13,6926		39			

Tableau 16 - Tests de rang par famille pour la respiration après stress thermique standard (dans l'ordre d'un niveau de respiration de plus en plus élevé de haut en bas)

Familles	Groupes homogènes
I	X
F	X
H	X
E	X
G	X
A	X
CN	X
XX	X

3. La résistance aux stress

3.1. Respiration après stress thermique unique

La respiration après stress thermique (manip 3) permet de mettre en évidence les différences phénotypiques de réponse à un stress (figure 19). Toutes familles confondues, la respiration moyenne après stress thermique se situe autour de $2,6 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène (pour ces mêmes familles, la respiration instantanée est de $2,2 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène). La respiration de la famille XX, de l'ordre de $3,6 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène, est bien supérieure à celle des autres familles étudiées dans cette manip. La famille CN, avec une respiration de $3,2 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène, présente aussi une réponse supérieure à la moyenne. A l'inverse, les familles F et I se distinguent par une respiration faible se situant autour de $1,9 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène.

L'analyse de variance (tableau 15) montre que le facteur famille a un effet significatif sur la réponse métabolique à un stress, au seuil de 1%. Ce facteur explique à lui seul plus de 80% de la variabilité du système.

Le test de rang permet de regrouper ces 8 familles en quatre groupes homogènes (tableau 16). Ces groupes sont significativement différents les uns des autres. Ils permettent de caractériser les familles I et F à faible réponse métabolique à ce stress thermique, significativement différentes des réponses des autres familles. D'autre part, les familles CN et XX se distinguent significativement des autres avec une forte à très forte réponse.

Ces résultats permettent de distinguer et de classer les huit familles, en particulier I, F, CN et XX, selon leur réponse métabolique à un stress. Ici, le facteur famille explique plus de 80% de la variabilité, tandis que pour l'analyse de la respiration instantanée, sans condition stressante, ce facteur n'en explique que 23%. L'origine parentale est ici bien mise en évidence, et semble être prépondérante par rapport aux autres facteurs en conditions stressantes.

Le traitement par ce stress thermique aboutit donc à une meilleure caractérisation des familles. Il permet en outre d'établir différents degrés de résistance, puisqu'une forte demande métabolique traduit généralement une faible résistance en condition stressante (Tremblay et al., 1998). Ainsi, les familles I et F seraient plus résistantes que les familles CN et XX.

Les observations de mortalité sur estran ont d'ailleurs permis de mettre en évidence une faible mortalité pour la famille I, et une forte mortalité pour le captage naturel CN. La famille XX a un taux de mortalité faible sur estran, mais elle supérieur à 10% au laboratoire qui semble être un milieu déclenchant les mortalités chez les individus les moins résistants.

Néanmoins, il est étonnant de constater que les populations issues de « brassage » génétique naturel (CN) ou induit (XX) présentent la demande métabolique la plus importante, supérieure aux familles génétiques étudiées. Cependant, les familles J et L, à forte mortalité et susceptibles de présenter une demande métabolique supérieure à CN et XX, n'étaient pas étudiées dans cette manip.

Tableau 17 - Analyses de variance multifactorielles des 6 mesures de respiration, selon les facteurs famille et traitement (manip 6)

Source	Mesure 1			Mesure 2			Mesure 3		
	CD	P	S	CD	P	S	CD	P	S
Facteurs principaux									
A : Famille	48,5	0,0000	***	53,8	0,0000	***	14,1	0,0851	NS
B : Traitement	28,1	0,0000	***	21,1	0,0000	***	9,4	0,0879	NS
Interaction									
A-B	4,5	0,0331	*	5,4	0,1655	NS	11,7	0,3906	NS

Source	Mesure 4			Mesure 5			Mesure 6		
	CD	P	S	CD	P	S	CD	P	S
Facteurs principaux									
A : Famille	22,5	0,0144	*	33,5	0,0008	***	41,6	0,0001	***
B : Traitement	1,5	0,8435	NS	7,7	0,1939	NS	5,2	0,2974	NS
Interaction									
A-B	15,9	0,4949	NS	9,5	0,7132	NS	10,0	0,6000	NS

Figure 20 - Moyennes et intervalles de confiance de la respiration par famille, tous traitements confondus

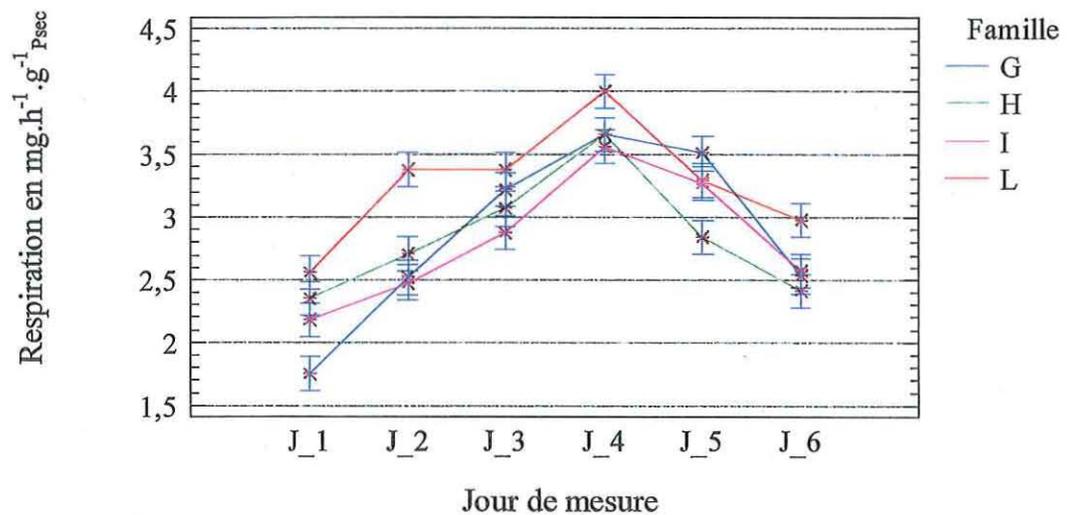
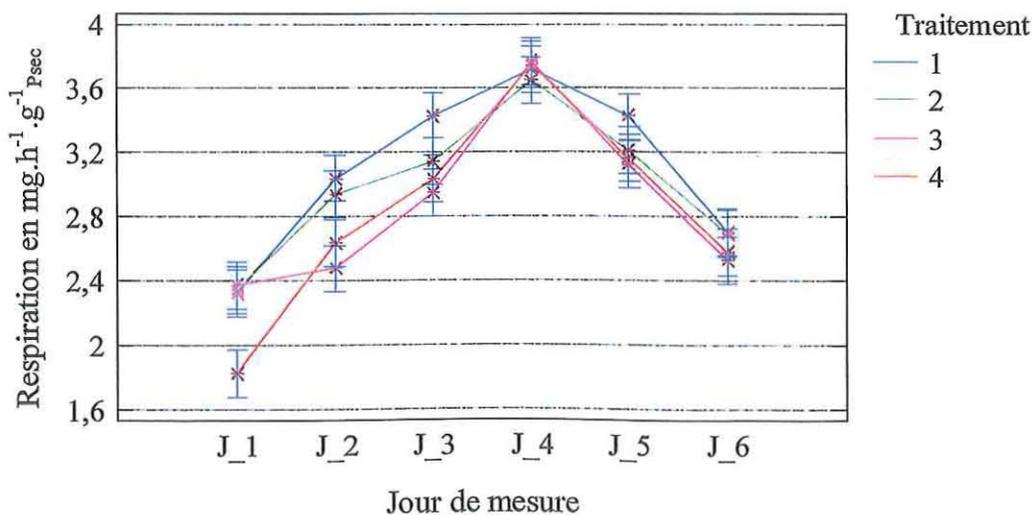


Figure 21 - Moyennes et intervalles de confiance de la respiration par traitement, toutes familles confondues



3.2. Réponses à un enchaînement de stress thermiques

Etude de la respiration

Dans l'ensemble, tous traitements confondus, les différentes modalités de stress (tableau 3) laissent apparaître des différences entre les familles (figure 20). Cette représentation des interactions met en évidence la famille L, qui se caractérise par un niveau de respiration supérieur aux autres. En effet, sa respiration varie de 2,6 à 4,0 $\text{mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène au cours du temps. A l'inverse, la famille G se distingue par une respiration plus faible, de l'ordre de 1,8 $\text{mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène pour la mesure 1. La famille H se distingue lors de la mesure 5, avec une respiration moyenne de 2,8 $\text{mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène.

Globalement, la variabilité inter-famille semble importante pour les mesures 1, 2 et 6, mais elle n'est pas significative pour la mesure 3 (J_3).

La différence entre les traitements semble moins évidente (figure 21). La mesure 1 laisse apparaître des différences entre les traitements. Les huîtres stressées (traitements 1 à 3) présentent, toutes familles confondues, un niveau de respiration de 2,4 $\text{mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène, supérieur à celui des huîtres témoins non stressées (traitement 4) dont la valeur est de 1,8 $\text{mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}_{\text{Psec}}$ d'oxygène. Lors de la mesure 2, les huîtres stressées des traitements 1 et 2 se distinguent de celles des traitements 3 et 4, non stressées. Les mesures 4 et 6 ne laissent pas apparaître de différence des niveaux de respiration selon les traitements.

Globalement, même si les différences ne sont pas significatives, les huîtres du traitement 1, qui correspond à un enchaînement de stress thermiques sur 5 jours, présentent le niveau de respiration le plus élevé. Les huîtres témoins, non stressées, ont une respiration toujours inférieure à celle des autres traitements, même si cette respiration varie au cours du temps.

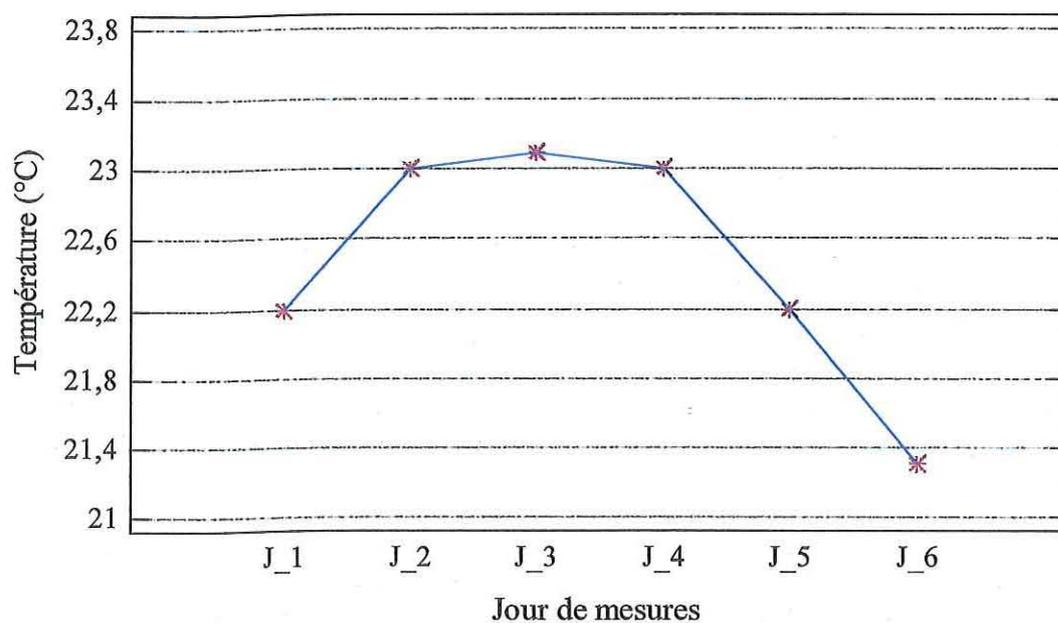
La respiration est étudiée chronologiquement selon les facteurs famille et traitement (tableau 17). Le facteur famille a un effet significatif sur la respiration pour toutes les mesures, sauf pour la mesure 3. Ce facteur explique jusqu'à 54% de la variabilité du système pour la mesure 2. La respiration de la mesure 3 n'est en revanche expliquée que à 14% par le facteur famille. 65% de la variabilité de cette mesure sont expliqués par des facteurs qui ne sont pas pris en compte dans ce modèle.

Les classements des familles selon les tests de rang sont présentés en annexe 6a. Ils confirment les observations faites sur la figure 20.

L'effet du traitement n'est significatif que pour les mesures 1 et 2, et explique respectivement 28 et 21% de la variabilité de la respiration. Le classement des traitements de ces deux mesures est présenté en annexe 6b. Cet effet traitement semble s'atténuer au cours du temps. Il disparaît au profit d'autres facteurs. En effet, à partir de la mesure 2, les résidus sont responsables de plus de 40% de la variabilité. Globalement, l'interaction n'a pas d'effet significatif sur la respiration.

La respiration globale varie de la même façon si l'on s'intéresse au facteur famille ou au facteur traitement (figure 20 et 21). Cette variabilité est due à un effet autre qui semble plus important que les effets des deux facteurs étudiés (tableau 17).

Figure 22 - Evolution de la température de l'eau e mer lors des mesures de respiration de la manip 6



Ces résultats montrent que la variabilité inter-famille est significative à très significative, et mettent en évidence l'effet famille, beaucoup plus important que l'effet traitement. Ils permettent de caractériser, tous traitements confondus, les familles G et L, respectivement à faible et forte demande métabolique, qui sont également deux familles extrêmes au niveau de la mortalité au laboratoire. De plus, ils distinguent les familles G et I, qui ne l'était pas en terme de mortalité, sur estran et au laboratoire.

L'effet des traitements, même s'il n'est pas significatif pour toutes les mesures, met en évidence une augmentation de la demande métabolique suite aux stress thermiques.

Néanmoins, ces deux facteurs n'expliquent que 45 à 80% de la variabilité de la respiration pour les différentes mesures. D'autres facteurs, non pris en compte dans le modèle, semblent masquer l'effet du traitement par stress thermique et agir sur la respiration dont la valeur globale augmente puis diminue. Il peut s'agir de l'évolution de la température lors des mesures ou d'un effet d'acclimatation au cours du temps.

La température et la taille des huîtres sont des facteurs déterminants du niveau de l'activité métabolique (Bayne et al., 1976). Dans ces expériences, le facteur taille a été pris en compte dans le calcul du descripteur de la respiration.

Bougrier et al. (1995), établissent des relations allométriques entre la respiration et le poids sec pour différents niveaux de température. Leur modèle indique que la respiration augmente significativement avec la température. Pour cette expérimentation, la différence de température sur les 6 jours de mesure est inférieure à 2°C (figure 22). Cette température de l'ordre de 22°C le premier jour augmente à 23°C et forme un plateau jusqu'à J4 avant de redescendre. Pendant ce plateau, la respiration des huîtres témoins augmente et est maximale au 4^{ème} jour, puis redescend avec la température (figure 21, traitement 4). Ce facteur température semble donc a priori avoir un effet sur la respiration. Néanmoins, d'après le modèle de Bougrier et al. (1995), une si faible augmentation de la température lors des mesures sur des individus de petite taille, n'a pas une influence significative sur la respiration. En effet, une élévation de température de 21 à 23°C entraîne une augmentation de la respiration inférieure à 0,1 mg.h⁻¹ d'oxygène pour des individus d'un poids sec de l'ordre de 0,5 g.

Ce facteur température ne suffit donc pas à expliquer la variabilité de la respiration non prise en compte par les effets famille et traitement.

L'explication de telles variations des mesures de respiration serait liée à l'acclimation. L'allure de la courbe des huîtres témoins (figure 21, traitement 4) simule bien un effet d'acclimation sur une période hebdomadaire (Bayne et al., 1976). En effet, ce nouvel environnement implique des changements des facteurs régulant la physiologie tels que la température ou l'alimentation.

Bayne et al. (1976), décrivent ce phénomène en deux temps. Il y a tout d'abord une compensation immédiate, en quelques heures, à un changement de milieu (« acute » réponse) qui se distingue d'ajustements compensateurs qui durent plusieurs jours à plusieurs semaines. Ils rappellent la notion « d'acclimatisation » quand ce changement intervient en milieu naturel, et « d'acclimation » en condition de laboratoire, lorsqu'un ou plusieurs facteurs environnementaux sont imposés. Selon les études sur ce phénomène d'acclimation, il faut de quelques jours à quelques semaines pour que les huîtres s'acclimatent à leur nouvelle structure de stockage.

En effet, une étude sur les lamellibranches marins, en particulier *Mytilus edulis*, reportée par Bayne et al. (1976), montre qu'un changement de température de stockage provoque

Tableau 18 - Analyses de variance multifactorielles de la mortalité au 6^{ème} et 17^{ème} jour après le début de la manip 6, selon les facteurs famille et traitement

Source	Mortalité à J6		
	CD	P	S
Facteurs principaux			
A : Famille	63,0	0,0000	***
B : Traitement	1,3	0,7361	NS
Interaction			
A-B	4,3	0,8747	NS

Source	Mortalité à J17		
	CD	P	S
Facteurs principaux			
A : Famille	74,4	0,0000	***
B : Traitement	1,0	0,6867	NS
Interaction			
A-B	4,0	0,7030	NS

Tableau 19 - Tests de rang de la mortalité par famille au 6^{ème} et 17^{ème} jour après le début de la manip 6 (de la mortalité la plus faible à la plus élevée de haut en bas)

Mortalité à J6		Mortalité à J17	
Groupe		Groupe	
G	A	G	A
H	B	H	B
I	B	I	B
L	B	L	C

Figure 23 - Evolution de la mortalité par famille, tous traitements confondus

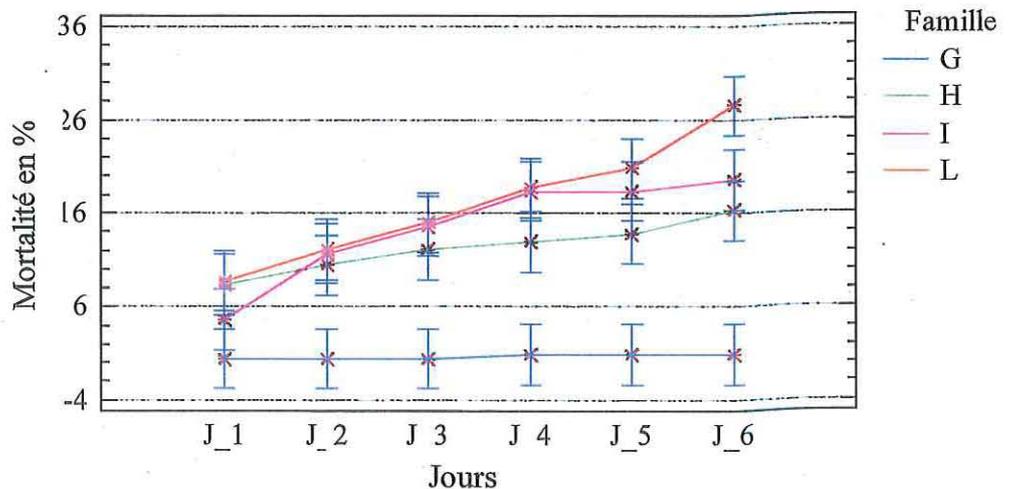
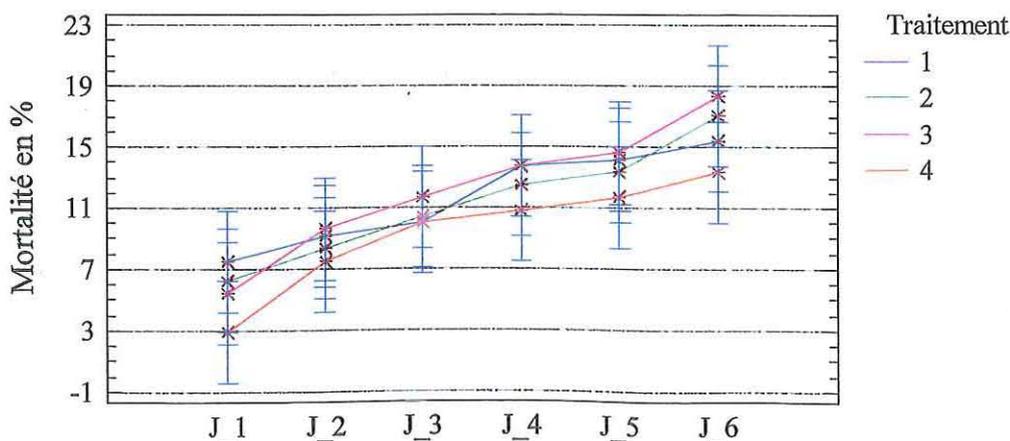


Figure 24 - Evolution de la mortalité par traitement, toutes familles confondues



immédiatement une augmentation de la consommation d'oxygène (« acute » réponse). La respiration augmente encore quelques jours puis diminue ensuite progressivement pour atteindre un nouvel état d'équilibre au bout de 14 jours. Ce nouveau niveau de respiration est supérieur au premier s'il s'agit d'une augmentation de la température de stockage, ou inférieur s'il s'agit d'une diminution.

Dans le cadre de la présente étude, les mesures de la manip 6 ont commencées 5 jours après la mise en échantillon pour une durée de 6 jours (annexe 2). Elles ont donc été faites après la compensation immédiate, mais en pleine période d'acclimation des huîtres aux race-way de 120 L de la salle de maturation (figure 7).

Ainsi, la mesure de respiration prend tout à la fois en compte la réponse aux stress, l'effet de la température et l'effet de l'acclimation. Il n'est pas possible d'agir sur le facteur température, à moins de travailler en atmosphère contrôlé. Mais, il aurait été intéressant de connaître précisément les durées d'acclimation des huîtres à la température et l'alimentation de la structure de stockage, afin de faire les mesures après cette période, et d'éliminer les effets de ce facteur sur les mesures de physiologie.

Deux autres paramètres, directement liés au protocole expérimental, peuvent rentrer en compte et masquer l'effet du traitement. Il s'agit, d'une part, d'une accommodation des familles aux stress. La première journée de traitement provoque un stress important, puis, à la troisième mesure, les échantillons, ayant déjà subi 3 stress thermiques, se distinguent de moins en moins des échantillons non stressés. D'autre part, la population de « stressées » diminue au cours du temps, donnant de plus en plus d'importance aux huîtres non stressées.

Etude de la mortalité

L'enchaînement de stress thermique en laboratoire fait apparaître des mortalités différentes selon les familles (figure 23). En effet, dès le deuxième jour de traitement, les familles H, I et L atteignent un taux de 12% de mortalité. La famille G ne présente aucune mortalité significative pendant cette période de stress, avec un taux ne dépassant pas 1%. A la fin du traitement, la famille L se distingue dès le 6^{ème} jour avec une mortalité de 30%. Globalement, il apparaît une variabilité inter-famille qui permet surtout de caractériser les familles G et L.

Néanmoins, les traitements eux-mêmes ne semblent pas être à l'origine de ces mortalité (figure 24). Les mortalités semblent en effet se déclencher pour les quatre traitements sans laisser apparaître de différences significatives. Ces mortalités sont importantes les deux premiers jours, et s'atténuent (annexe 7). Les conditions de stress induisent cependant une nouvelle augmentation des mortalités quelques jours après le traitement.

La mortalité cumulée est étudiée les 6^{ème} et 17^{ème} jours selon les facteurs famille et traitement (tableau 18 et 19). Les résultats de l'analyse de variance confirment l'effet significatif du facteur famille sur les mortalités, au seuil de 1%. Ce facteur explique à lui seul 63% et 74% de la variabilité au 6^{ème} et 17^{ème} jour. Le traitement n'a pas d'effet significatif sur les mortalités. Néanmoins, les huîtres témoins, subissant le traitement 4, ont une mortalité inférieure à celles des autres traitements. Cette mortalité s'élève en effet à 13% le 6^{ème} jour contre 15 à 19% pour les traitements 1, 2 et 3 (figure 24). Il n'y a pas d'effet significatif de l'interaction des deux facteurs étudiés.

Pour certaines familles, les observations de mortalité sont liées aux résultats de la respiration. En effet, la famille G présente globalement la respiration la plus faible quelque soit le traitement et est la plus résistante puisqu'elle ne présente aucune mortalité significative. De plus, la famille L, dont la respiration est nettement supérieure à celle des autres familles, est celle qui semble la plus fragile avec une mortalité globale de 41%, tous traitements confondus.

La famille G ne semble pas être fragilisée par les traitements par stress thermique. Elle présente d'ailleurs, d'après les résultats de la manip précédente, un niveau de métabolisme après stress thermique unique peu élevé en comparaison aux familles CN et XX. A l'inverse, la famille L, qui présente un métabolisme de base assez élevé, atteint au 11^{ème} jour un taux de mortalité supérieur à 40% pour les trois traitements appliquant des stress. Ces différences de mortalité après stress thermique semblent donc confirmer le classement des familles par degré de résistance selon le métabolisme de base.

1. Synthèse générale et principes de la chimie organique

2. Synthèse générale et principes de la chimie organique
3. Synthèse générale et principes de la chimie organique

Synthèse générale

Figure 25 - Analyses des distances entre les familles selon l'algorithme de Ward's

Figure 25a - Analyses des mortalités au laboratoire pour les deux séries de mesures

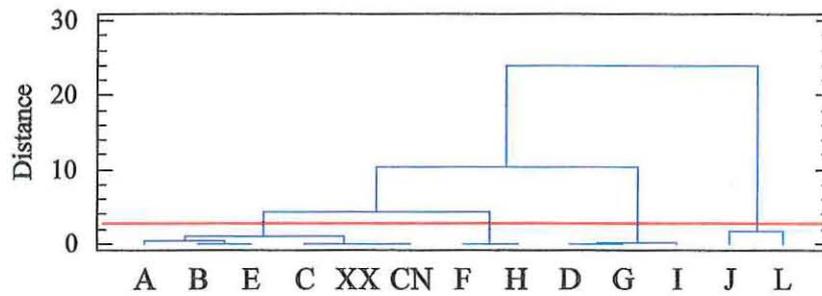


Figure 25b - Analyses des descripteurs de mesures instantanées (respiration instantanée, indice de Walne et Mann et pourcentage d'huître immature)

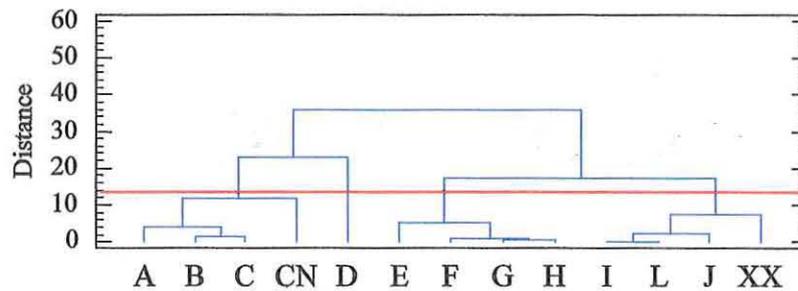
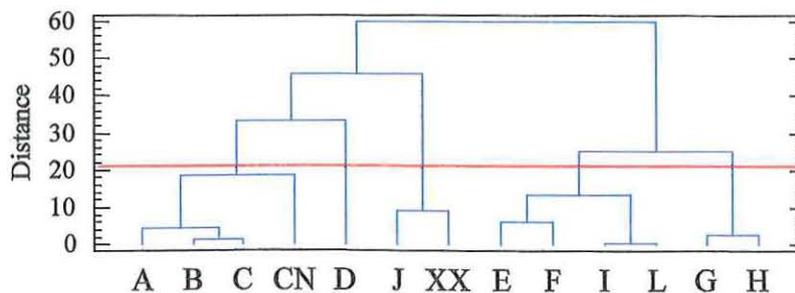


Figure 25c - Analyses des descripteurs de mesures instantanées (respiration instantanée, indice de Walne et Mann et pourcentage d'huître immature), de la chute de l'indice de Walne et Mann et du gain de poids total



V. Synthèse générale : la caractérisation des familles

Les expérimentations ont permis de classer les familles génétiques les unes par rapport aux autres selon plusieurs descripteurs. L'annexe 8 propose un bilan général des différents classements par tests de rang. Pour chaque famille et chaque descripteur est indiqué le numéro du ou des groupes dans lesquels elles ont été classées. Un index (correspondant à un groupe « moyen ») est alors calculé. Il va permettre l'étude simultanée de plusieurs descripteurs.

Un bilan sur estran (annexe 8a) regroupe la mortalité, la chute de l'indice de Walne et Mann, et le gain de poids total. En sortie de nurserie (annexe 8b), le bilan comprend la respiration instantanée, la respiration après stress thermique, le niveau de l'indice de Walne et Mann, et le pourcentage d'huîtres immatures pour chaque famille. Enfin, un bilan des mortalités au laboratoire est établie (annexe 8c). Il présente les mortalités des deux séries de mesure, et la mortalité observée lors de la manip 6.

1. Les différents niveaux de mortalité

Une analyse des distances entre familles, selon l'algorithme de Ward's, permet un regroupement de familles selon le niveau de mortalité (figure 25a).

Ce dendogramme caractérise 4 groupes :

- Les familles D, G et I, à faible mortalité,
- Les familles J et L, à forte mortalité,
- Les familles A, B, C, E, XX et CN, à mortalité intermédiaire,
- Les familles F et H, à mortalité « ambiguë » (elles ont présenté une mortalité intermédiaire pendant la première série de mesure, puis une mortalité élevée pendant la deuxième série).

2. La caractérisation physiologique des familles

Deux analyses de distances ont été réalisées afin de caractériser des groupes de familles selon leur performances physiologiques (figure 25b et 25c).

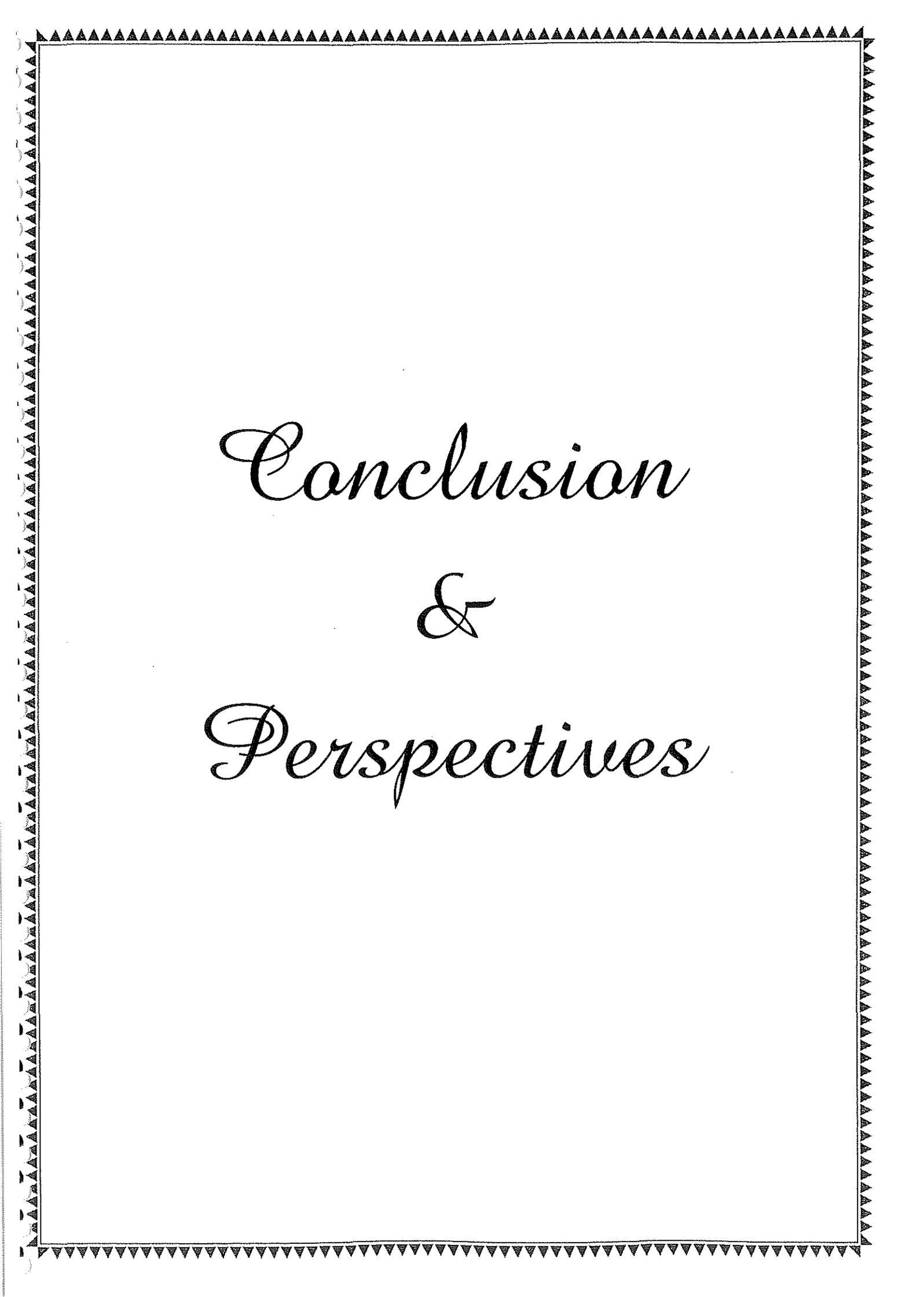
Un premier dendogramme est réalisé d'après les descripteurs de respiration instantanée, de l'indice de Walne et Mann et du pourcentage d'huîtres immatures (figure 25b). Un second intègre en plus la chute de l'indice de Walne et Mann et le gain de poids total sur la période de 15 jours sur estran (figure 25c).

Ces dendogrammes permettent tous deux la caractérisation de 4 groupes physiologiques. On remarque en particulier que les familles A, B, C et CN, à mortalité « intermédiaire », se retrouvent classées dans les mêmes groupes physiologiques. Les familles D, G et I, à faible mortalité sont séparées en deux ou trois groupes, ne permettant pas de les caractériser globalement au niveau physiologique. La famille D se distingue de toutes les autres, formant un groupe, à part entière. Les familles F et H, se retrouvent dans les mêmes groupes physiologiques, avec les familles G et E. La caractérisation des familles J et L, à forte mortalité, les place dans un même groupe pour la première analyse (figure 25b), mais dans deux groupes différents lorsque l'on rajoute à cette analyse l'évolution de la croissance et de l'indice de condition (figure 25c). Ainsi, cette méthode semble permettre la caractérisation des familles à forte mortalité (J et L), mais ne montre aucune caractéristique physiologique commune pour les familles à faible mortalité (D, G et I).

Globalement, la première analyse est basée sur des mesures instantanées, et la seconde intègre une évolution. Cependant, elles permettent la caractérisation des mêmes groupes de familles, à une exception : les familles I et L, initialement dans le même groupe que J et XX, ont rejoint le groupe E, F, G, H.

On constate que les familles XX et CN sont classées dans le groupe de mortalité intermédiaire. Cette réponse est logique pour de ces deux témoins, issus de « brassages génétiques ».

En se rapportant au tableau des croisements hiérarchiques à l'origine de ces familles (annexe 1a), et des références correspondant aux notations des familles (annexe 1c), on remarque que les familles A, B et C, issues du mâle n°1, et que les familles E, F, G, issues du mâle n°2, se retrouvent identifiées dans des mêmes groupes physiologiques. Cette constatation traduit la transmission génétique des performances, et par conséquent confirme l'influence parentale sur le comportement et les réponses physiologiques.



Conclusion
&
Perspectives

VI. Conclusion et perspectives

Cette étude, dont l'objectif est de caractériser les familles génétiques au niveau physiologique, s'inscrit dans le cadre d'une meilleure compréhension des mortalités estivales, en particulier du naissain, de l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

Les observations ont portées sur 11 familles génétiques, obtenues par croisements hiérarchiques, et 2 familles témoins. Elles ont permis de mettre en évidence des différences significatives entre certaines familles, en particulier au niveau de l'aptitude à la survie, du métabolisme de base et de la sensibilité aux stress thermiques.

L'étude des mortalités sur estran, dans les structures de stockage au laboratoire, et après stress thermique montre que l'environnement laboratoire et les stress n'agissent que comme révélateurs d'une fragilité pré-existante. Ainsi, les mortalités seraient d'abord liées à l'origine parentale (seul facteur qui différencie les familles génétiques), conférant aux familles différentes aptitudes à la survie. Ces familles seraient donc plus ou moins sensibles à l'environnement et aux facteurs externes.

La caractérisation de la qualité des cheptels a confirmé les conclusions d'études antérieures. En particulier, cette étude a montré qu'il n'y a pas de relation entre la croissance et les mortalités observées. Le processus de maturation semble fragiliser certaines familles plus que d'autres, mais l'étude, trop succincte, de cette maturité sexuelle ne permet pas d'avancer plus d'hypothèses.

L'évaluation du niveau du métabolisme de base par mesure de la respiration a permis de classer les familles selon différents degrés de résistance. Ces résistances semblent se traduire par des mortalités plus ou moins importantes après stress. Néanmoins, des études supplémentaires seraient nécessaires pour confirmer ces observations.

Les stress thermiques appliqués aux huîtres reproduisent volontairement certaines conditions extrêmes. Ils sont d'une intensité et d'une durée comparable à certaines conditions thermiques rencontrées sur estran en période estivale. Globalement, les résultats montrent une hausse du niveau de respiration des huîtres stressées par rapport aux non stressées. Il a ainsi été démontré que dans une telle situation la demande énergétique augmente significativement pour certaines familles, alors qu'elle reste stable pour d'autre. Ces différentes caractéristiques phénotypiques sont donc d'origine génétique.

Cet outil de caractérisation a permis d'une part d'identifier les familles dans des groupes physiologiques à réponses voisines, et d'autre part de retrouver les descendants d'un même mâle dans un même groupe. Ces observations traduisent la transmission génétique des performances physiologiques. Cet outil semble permettre une bonne caractérisation des familles à forte mortalité. Néanmoins, il devra être testé sur d'autres familles génétiques afin d'être amélioré et validé.

Pour confirmer les hypothèses émises quant à l'origine parentale de « fragilité » et de « survie », il serait intéressant de poursuivre cette étude sur les descendants de ces familles génétiques. Ces qualités héritées des parents sont-elles transmises à la génération suivante ?

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les descripteurs de l'étude.....	10
Tableau 2 : Méthode d'échantillonnage.....	11
Tableau 3 : Manip 6: application de stress thermiques selon 4 traitements.....	11
Tableau 4 : Solubilité de l'oxygène dans l'eau.....	14
Tableau 5 : Valeurs mesurées et théoriques en oxygène dissous en fonction de la température lors d'une manip préliminaire.....	14
Tableau 6 : Légendes des abréviations utilisées pour les analyses de variance.....	15
Tableau 7 : Analyses de variance. Résultats du test de Kruskal-Wallis pour les stades de maturité sexuelle selon le facteur famille.....	16
Tableau 8 : Matrice de corrélation des variables de mortalité et de stade de maturité sexuelle.....	16
Tableau 9 : Analyse de variance par famille pour le descripteur Pr_t	17
Tableau 10 : Tests de rang par famille pour le descripteur Pr_t	17
Tableau 11 : Analyses de variance. Résultats du test de Kruskal-Wallis pour l'indice de Walne et Mann selon le facteur famille.....	18
Tableau 12 : Tests de rang par famille pour l'évolution de l'indice de Walne et Mann.....	18
Tableau 13 : Analyse de variance multifactorielle de la respiration instantanée.....	19
Tableau 14 : Tests de rang pour la respiration instantanée par famille, avec pcM en covariable.....	19
Tableau 15 : Analyse de variance de la respiration après stress thermique standard, selon le facteur famille.....	20
Tableau 16 : Tests de rang par famille pour la respiration après stress thermique standard...	20
Tableau 17 : Analyses de variance multifactorielles des 6 mesures de respiration, selon les facteurs famille et traitement (manip 6).....	21
Tableau 18 : Analyses de variance multifactorielles de la mortalité au 6 ^{ème} et 17 ^{ème} jour après le début de la manip 6, selon les facteurs famille et traitement.....	23
Tableau 19 : Tests de rang de la mortalité par famille au 6 ^{ème} et 17 ^{ème} jour après le début de la manip 6.....	23

Liste des figures

Figure 1 : Bassin de Marennes-Oléron.....	2
Figure 2 : Vue aérienne de la station IFREMER de La Tremblade.....	2
Figure 3 : Dimension multifactorielle des phénomènes de mortalité.....	6
Figure 4 : La méthodologie.....	7
Figure 5 : Stockage en demi-poche dans des race-way de 800L.....	9
Figure 6 : Echantillonnage : conditionnement en nacelles.....	9
Figure 7 : Stockage en salle de maturation dans des race-way de 120 L.....	9
Figure 8 : Chronologie des expérimentations.....	10
Figure 9 : Infrastructure de mesure de la respiration.....	11
Figure 10 : Mise en place des échantillons dans les cellules de mesure.....	11
Figure 11 : Mesure de la concentration en oxygène dissous.....	12
Figure 12 : Oxymètre.....	12
Figure 13 : Ouverture d'un échantillon et évaluation de la maturité sexuelle.....	12
Figure 14 : Stress thermique : mise à l'étuve des échantillons à 37°C pendant 2 heures.....	13
Figure 15 : Bilan des mortalités.....	16
Figure 16 : Croissance des huîtres en 15 jours sur estran.....	17
Figure 17 : Moyennes et intervalles de confiance de l'indice de Walne et Mann.....	18
Figure 18 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration instantanée.....	19
Figure 19 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration après stress thermique standard.....	20
Figure 20 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration par famille, tous traitements confondus.....	21
Figure 21 : Moyennes et intervalles de confiance de la respiration par traitement, toutes familles confondues.....	21
Figure 22 : Evolution de la température de l'eau de mer lors des mesures de respiration de la manip 6.....	22
Figure 23 : Evolution de la mortalité par famille, tous traitements confondus.....	23
Figure 24 : Evolution de la mortalité par traitement, toutes familles confondues.....	23
Figure 25 : Analyses des distances entre les familles selon l'algorithme de Ward's.....	25

Bibliographie

- Aminot A., et Chaussepied M., 1983.** Caractéristiques physico-chimiques, Dosage de l'oxygène dissous. In « Manuel des analyses chimiques en milieu marin », CNEXO (Centre National pour l'EXploitation des Océans), JOUVE, Paris, pp.86-91
- Bacher C., 1989.** Capacité trophique du bassin de Marennes-Oléron : couplage d'un modèle de transport particulaire et d'un modèle de croissance de l'huître *Crassostrea gigas*. Aquat. Living Resour.,2 : 199-214.
- Bayne B.L., 1975.** Aspects of physiological condition in *Mytilus edulis*, with special reference to the effects of oxygen tension and salinity. Proceedings of the 9th European Marine Biology Symposium (H. Barnes, ed.). Aberdeen Univ. Press, Scotland, pp.213-238.
- Bayne B.L., Thompson R.J. et Widdows J., 1976.** Physiology. In « Marine mussels : their ecology and physiologie ». Edited by B.L. BAYNE, Cambridg University Press, London, pp.159-176.
- Bodoy A., Garnier J., Razet D. et Geairon P., 1990.** Mass mortalities of oyster during spring 1988 in bay of Marennes-Oléron related to environmental conditions, CIEM, Ref. E+F : 26p.
- Bougrier S., Geairon P., Deslous-Paoli J.M., Bacher C. et Joncquières G., 1995.** Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture vol. 134, pp.143-154.
- Davis C.V. et Barber B.J., 1994.** Size-dependent mortality in hatchery-reared populations of oysters, *Crassostrea virginica*, Gmelin 1791, affected by juvenile oyster disease. Journal of Shellfish Research. Vol. 13, 1, pp.137-142.
- Degremont L., 2001.** Etude des bases génétiques et physiologiques de la mortalité estivale et des relations avec la croissance chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Rapport annuel de thèse, première année, 21p.
- Ernande B., Boudry P., Heurteboise S., Haure J. et Martin J-L., 2001.** Bases génétiques et plasticité de la croissance et de la survie chez l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. Actes du colloque 'Journées conchylicoles', Nantes, 3-5 avril 2001.
- Fleury P.-G., Ruelle F., Claude S., Palvadeau H., Robert S., d'Amico F., Vercelli C. et Chabirand J.-M., 1999.** REMORA : Réseau de suivi de la croissance de l'huître creuse sur les côtes françaises REMORA. Résultats des stations nationales, année 1998. DRV/RA/RST/99-03, 43p.
- Glude J.B., 1975.** A summary report of Pacific coast oyster mortality investigations (1965-1972). In "Proceedings of the 3rd US Japan meeting on aquaculture" at Tokyo, Japan, pp.29-34.
- Gouletquer P., Soletchnik P., Le Moine O., Razet D., Geairon P., Faury N. et Taillade S., 1998.** Summer mortality of the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* in the Bay of Marennes-Oléron (France). Ices Statutory Meeting, Population Biology, Mariculture Committee CM 1998/CC :14, 20p.
- Gouletquer P., 2000.** Rapport d'activité 1999 du Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes Ronce-les-Bains. 46p.

- Gouletquer P.**, 2001. Rapport d'activité 2000 du Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes Ronce-les-Bains, 40p.
- Grizel H. et Héral M.**, 1991. Introduction into France of Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). J.Cons. int. Explor. Mer, 47 : pp.399-403.
- Héral M.**, 1986. Evolution et état du cheptel ostréicole dans le bassin de Marennes-Oléron : intérêt d'une régulation. RI-DRV 86.06-RA La Tremblade, 35p.
- Héral M.**, 1989a. Reproduction contrôlée des mollusques bivalves. In « Aquaculture », Barnabé, Ed. Lavoisier Technique et Documentation Publisher, 2^{ème} édition, Paris, vol. 1, pp.275-286.
- Héral M.**, 1989b. L'ostréiculture française traditionnelle. In « Aquaculture », Barnabé, Ed. Lavoisier Technique et Documentation Publisher, 2^{ème} édition, Paris, vol. 1, pp.347-369.
- Koganezawa, A.**, 1974. Present status of studies on the mass mortality of cultured oysters in Japan and its prévention. In "Proceedings of the Third U.S.-Japan Meeting on Aquaculture". Tokyo, Japan, pp.29-34.
- LABEIM**, 1992. Rapport sur les mortalités d'huîtres observées dans la première semaine du mois de juin 1992 sur le banc de Ronce les Bains (commune de La Tremblade). 10 p.
- Lagarde F.**, 1997. Eléments d'écophysiologie d'huîtres *Crassostrea gigas* issues du bassin de Marennes-Oléron. Rapport de stage DRV/RA/LCPC Ifremer La Tremblade, 39p.
- Le Moine O., Geairon P., Soletchnik P., Faury N., Gouletquer P., Robert S., Razet D., Heurteboise S. et Taillade S.**, 2000. Croissance de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron de 1987 à 1998. R.INT.DRV/RA/LCPC/2000-01, 45p.
- Lodato M.I.**, 1997. Mortalité estivale de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur les bancs ostréicoles de Perquis et Ronce (Bassin de Marennes-Oléron) : étude des pratiques culturelles et des caractéristiques biologiques et spatiales des élevages. Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 127p.
- Lucas A.**, 1993. Bioénergie cellulaire. In « Bioénergétique des animaux aquatiques ». Masson, Paris, pp.30.
- Maurer D., Comps M. et His E.**, 1986. Caractéristiques des mortalités estivales de l'huître *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon. Haliotis, 15, pp.309-317.
- MOREST [Synthèse des propositions de l'ensemble des partenaires impliqués]**, 2001. MORTalités ESTIvales de l'huître creuse *Crassostrea gigas* : I. Présentation générale du programme. 32p.
- MOREST [Synthèse des propositions de l'ensemble des partenaires impliqués]**, 2001. MORTalités ESTIvales de l'huître creuse *Crassostrea gigas* : II. Projets scientifiques, partenariats et budget du programme. 85p.
- OXI 196** : oxymètre à microprocesseur, 1988. Mode d'emploi. Ed. WTW, Allemagne, 10p.
- Pajot R., Hennequart F., Trintignac P. et Glize P.**, 1998. Etude de familles de naissains pour la compréhension de mortalités « anormales » chez de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. 36p.
- Pajot R., Trintignac P., Glize P. et Soulard B.**, 1999. Etude de populations et de familles de naissains pour la compréhension de mortalités « anormales » de l'huître creuse *Crassostrea gigas* – Travaux de l'année 1998. 26p.

- Soletchnik P., Razet D., Geairon P., Faury N. et Gouletquer P.**, 1997a. Ecophysiologie de la maturation sexuelle et de la ponte de l'huître creuse *Crassostrea gigas* : réponses métaboliques (respiration) et alimentaires (filtration, absorption) en fonction des différents stades de maturation. *Aquat. Living Resour.*, 10, pp.177-185.
- Soletchnik P., Faury N., Geairon P., Razet D. et Gouletquer P.**, 1997b. Physiologie de la maturation et de la ponte chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*, Résultats d'expériences conduites en 1996. R.INT.DRV/RA/RST/97-13/LA TREMBLADE, 23p.
- Soletchnik P., Faury N., Razet D. et Gouletquer P.**, 1998a. Hydrobiology of the Marennes-Oléron bay. Seasonal indices and analysis of trends from 1978 to 1995. *Hydrobiologia*, 386 : pp.131-146.
- Soletchnik P., Le Moine O., Faury N., Razet D., Geairon P., Gouletquer P. et Forest G.**, 1998b. Mortalités printanières et estivales de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le Bassin de Marennes-Oléron sur les bancs ostréicoles de Ronce-Perquis. RI DRV/RA/RST 98-02/La Tremblade, 56p.
- Statgraphics plus**, 1997. Statgraphics plus version 3 for Windows, User manual. Manugistic, Inc., USA, 630p.
- Tremblay R., Myrand B., Sevigny J.M., Blier P. et Guderley H.**, 1998. Bioenergetic and genetic parameters in relation to susceptibility of blue mussels, *Mitylus edulis* to summer mortality. *J. Exp. Biol. Ecol.* 221, pp.27-58.

Site internet : <http://www.ifremer.fr/francais/institut/index.htm>

Liste des annexes

Annexe 1 : 1a - Plan de croisement hiérarchisé pour la constitution des familles.....	I
1b - Calendrier d'élevage et de prélèvement de la série 1.....	II
1c - Références et notations des familles.....	II
Annexe 2 : Chronologie des expérimentations : Mesures à T ₀ et à T ₁₅	III
Annexe 3 : Solubilité de l'oxygène dans l'eau en fonction de la température et de la salinité (d'après Aminot <i>et al.</i> , 1983).....	V
Annexe 4 : Reprise en oxygène dans les cellules de mesure en fonction du temps.....	VI
Annexe 5 : Evolution des stades de maturité sexuelle sur la période d'étude.....	VII
Annexe 6 : 6a - Manip 6 : tests de rang par famille pour la respiration.....	VIII
6b - Manip 6 : tests de rang par traitement pour la respiration.....	VIII
Annexe 7 : Manip 6 : mortalité cumulée par famille et par condition.....	IX
Annexe 8 : Bilan de la caractérisation des familles	
8a - Bilan sur estran.....	X
8b - Bilan en sortie de nurserie.....	X
8c - Bilan des mortalités au laboratoire.....	XI

Annexe 1a - Plan de croisement hiérarchisé pour la constitution des familles

	♂1	♂2	♂3	♂4	♂5	♂6
♀						
1	F 1-1					
2	F 1-2					
3	F 1-3					
4	F 1-4					
5		F 2-5				
6		F 2-6				
7		F 2-7				
8		F 2-8				
9			F 3-9			
10			F 3-10			
11			F 3-11			
12			F 3-12			
13				F 4-13		
14				F 4-14		
15				F 4-15		
16				F 4-16		
17					F 5-17	
18					F 5-18	
19					F 5-19	
20					F 5-20	
21						F 6-21
22						F 6-22
23						F 6-23
24						F 6-24

D'après DEGREMONT Lionel, avril 2001

Représentation de la première série de familles génétiques. F m-f représente une famille issue du mâle m croisé avec la femelle f (exemple : F 1-2 est la famille issue du mâle 1 croisé avec la femelle 2). Une famille est constituée d'individus plein frère, alors que les individus des quatre familles ayant le même mâle pour parent sont des individus demi-frère.

Un tel plan de croisement permet par l'analyse des fratries de mettre en évidence :

- des différences entre les enfants des différents mâles (composante inter-mâle)
- des différences entre les enfants des femelles accouplées au même mâle (composante inter-femelle et intra-mâle)
- des différences entre les enfants d'une même femelle (composante intra-femelle).

Annexe 1b - Calendrier d'élevage et de prélèvement de la série 1

Décembre 2000	Janvier 2001	Février 2001	Mars 2001	Avril 2001	Mai 2001	Juin 2001	Juillet 2001	Août 2001
	Maturation des géniteurs	ponte	élevage larvaire	Micro- nursérie	nursérie		mise sur site	

Le 19 juin 2001 :
1^{er} prélèvement
Mesures à T₀

Le 5 juillet 2001 :
2^{ème} prélèvement
Mesures à T₁₅

**Annexe 1c - Références et notations
des familles**

Notations	Références famille
A	F1-1
B	F1-3
C	F1-4
D	F2-5
E	F2-6
F	F2-7
G	F2-8
H	F3-9
I	F3-12
J	F4-15
L	F5-17
XX	Pool 1
CN	Fouras

Série 1 : Mesures à T₀

Mardi 19/06/01	Mercredi 20/06/01	Jeudi 21/06/01	Vendredi 22/06/01	Lundi 25/06/01	Mardi 26/06/01	Mercredi 27/06/01	Jeudi 28/06/01	Vendredi 29/06/01
Prélèvement avant la mise sur site de 250 à 600 individus par famille selon les effectifs		Echantillonnage pour mesure de respiration instantanée les 25 et 26/06/01 (5 réplicats de 30 individus par famille)		Mesure de la respiration instantanée sur les 11 familles de la série 1 et les deux témoins (CN et XX). Echantillons de 30 individus, 5 réplicats par famille Manip 1 = Test de respiration		Echantillonnage de 8 familles pour stress thermique les 28 et 29/06/01 (5 réplicats de 25 individus par famille)	Stress thermique standard suivi d'une mesure de respiration. Echantillons de 25 individus, 5 réplicats par famille Manip 3 = Stress thermique	
						Biométrie et évaluation du niveau de maturité sexuelle sur les échantillons utilisés pour la mesure de la respiration instantanée Manip 2 = Biométrie+MS		

Série 2 : Mesures à T₁₅

Annexe 2

Jeudi 05/07/01	Vendredi 06/07/01	Lundi 09/07/01	Mardi 10/07/01	Mercredi 11/07/01	Jeudi 12/07/01	Vendredi 13/07/01
Prélèvement 15 jours après la mise sur site de 100 individus par famille et de 300 individus supplémentaires pour 4 familles : G, I, L et H	Echantillonnage pour mesure de biométrie le 11/07/01 (5 réplicats de 20 individus par famille)			Biométrie et évaluation du niveau de maturité sexuelle sur les échantillons utilisés pour la mesure de la respiration Manip 5 = Biométrie+MS2	Echantillonnage de 12 nacelles de 20 individus par famille, pour 4 familles (G, I, L, H), pour répétition de stress thermique standard et suivi de la récupération par mesure de la respiration du 16 au 22/07/01	
Evaluation du taux de mortalité sur estran pour chaque famille Manip 4 = Taux de mortalité à T₁₅						

Lundi 16/07/01	Mardi 17/07/01	Mercredi 18/07/01	Jeudi 19/07/01	Vendredi 20/07/01	Samedi 21/07/01	Dimanche 22/07/01
			Manip 7 = Taux de mortalité à T₃₀	Répétition journalière de stress thermique standard, et suivi de la récupération en fonction du nombre de jour de stress, par mesure de la respiration. Echantillon de 20 individus par famille, 3 réplicats pour chaque traitement. 4 familles : - G = F2-8 - I = F3-12 - L = F5-17 - H = F3-9 Manip 6 = Répétition de stress thermiques		

IV

Annexe 3 - Solubilité de l'oxygène dans l'eau en fonction de la température et de la salinité
(en ml.L⁻¹)

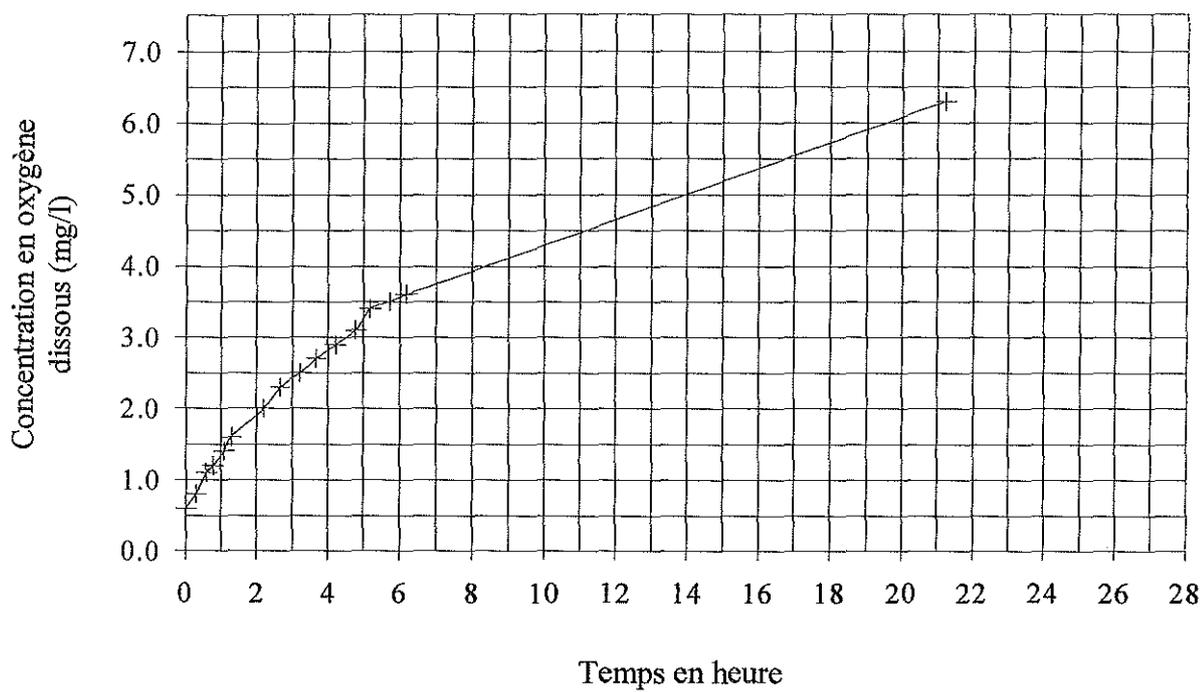
SALINITÉS

	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40
0	10,22	10,08	9,94	9,81	9,67	9,54	9,41	9,29	9,16	9,04	8,91	8,79	8,67	8,56	8,44	8,32	8,21	8,10	7,99	7,88	7,77
1	9,94	9,80	9,67	9,54	9,41	9,28	9,16	9,04	8,91	8,79	8,68	8,56	8,44	8,33	8,22	8,11	8,00	7,89	7,78	7,68	7,58
2	9,67	9,54	9,41	9,28	9,16	9,04	8,92	8,80	8,68	8,56	8,45	8,34	8,22	8,11	8,01	7,90	7,79	7,69	7,59	7,48	7,38
3	9,41	9,28	9,16	9,04	8,92	8,80	8,68	8,57	8,46	8,35	8,24	8,13	8,02	7,92	7,81	7,71	7,61	7,51	7,41	7,31	7,21
4	9,16	9,04	8,92	8,81	8,69	8,57	8,46	8,35	8,24	8,13	8,03	7,93	7,83	7,72	7,62	7,52	7,42	7,33	7,23	7,14	7,04
5	8,93	8,81	8,70	8,58	8,47	8,36	8,25	8,14	8,03	7,93	7,83	7,72	7,62	7,52	7,42	7,33	7,23	7,15	7,06	6,97	6,88
6	8,70	8,59	8,48	8,37	8,26	8,15	8,05	7,94	7,84	7,74	7,64	7,54	7,44	7,34	7,25	7,15	7,06	6,98	6,89	6,81	6,72
7	8,49	8,38	8,27	8,16	8,06	7,95	7,85	7,75	7,65	7,55	7,45	7,36	7,26	7,17	7,08	6,98	6,89	6,81	6,72	6,63	6,55
8	8,28	8,17	8,07	7,97	7,86	7,76	7,66	7,57	7,47	7,37	7,28	7,19	7,09	7,00	6,91	6,82	6,74	6,65	6,57	6,48	6,40
9	8,08	7,98	7,88	7,78	7,68	7,58	7,48	7,39	7,30	7,20	7,11	7,02	6,93	6,84	6,76	6,67	6,59	6,50	6,42	6,34	6,26
10	7,89	7,79	7,69	7,60	7,50	7,41	7,31	7,22	7,13	7,04	6,95	6,86	6,78	6,69	6,61	6,52	6,44	6,36	6,28	6,20	6,12
11	7,71	7,61	7,52	7,42	7,33	7,24	7,15	7,06	6,97	6,88	6,80	6,71	6,63	6,54	6,46	6,38	6,30	6,22	6,14	6,07	5,99
12	7,53	7,44	7,35	7,26	7,17	7,08	6,99	6,90	6,82	6,73	6,65	6,56	6,48	6,40	6,32	6,24	6,17	6,09	6,01	5,94	5,87
13	7,37	7,27	7,18	7,10	7,01	6,92	6,84	6,75	6,67	6,59	6,50	6,42	6,34	6,27	6,19	6,11	6,04	5,96	5,89	5,82	5,74
14	7,20	7,12	7,03	6,94	6,86	6,77	6,69	6,61	6,53	6,45	6,37	6,29	6,21	6,14	6,06	5,99	5,91	5,84	5,77	5,70	5,63
15	7,05	6,96	6,88	6,79	6,71	6,63	6,55	6,47	6,39	6,31	6,24	6,16	6,08	6,01	5,94	5,87	5,79	5,72	5,65	5,58	5,52
16	6,90	6,81	6,73	6,65	6,57	6,49	6,41	6,34	6,26	6,18	6,11	6,03	5,96	5,89	5,82	5,75	5,68	5,61	5,54	5,48	5,41
17	6,75	6,67	6,59	6,51	6,44	6,36	6,28	6,21	6,13	6,06	5,99	5,91	5,84	5,77	5,70	5,64	5,57	5,50	5,43	5,37	5,31
18	6,61	6,54	6,46	6,38	6,31	6,23	6,16	6,08	6,01	5,94	5,87	5,80	5,73	5,66	5,59	5,53	5,46	5,40	5,33	5,27	5,21
19	6,48	6,40	6,33	6,25	6,18	6,11	6,03	5,96	5,89	5,82	5,75	5,69	5,62	5,55	5,49	5,42	5,36	5,29	5,23	5,17	5,11
20	6,35	6,28	6,20	6,13	6,06	5,99	5,92	5,85	5,78	5,71	5,64	5,58	5,51	5,45	5,38	5,32	5,26	5,20	5,14	5,07	5,02
21	6,23	6,15	6,08	6,01	5,94	5,87	5,80	5,74	5,67	5,60	5,54	5,47	5,41	5,35	5,28	5,22	5,16	5,10	5,04	4,98	4,93
22	6,11	6,04	5,97	5,90	5,83	5,76	5,69	5,63	5,56	5,50	5,44	5,37	5,31	5,25	5,19	5,13	5,07	5,01	4,95	4,89	4,84
23	5,99	5,92	5,85	5,79	5,72	5,65	5,59	5,52	5,46	5,40	5,34	5,28	5,21	5,15	5,10	5,04	4,98	4,92	4,87	4,81	4,75
24	5,88	5,81	5,74	5,68	5,61	5,55	5,49	5,42	5,36	5,30	5,24	5,18	5,12	5,06	5,01	4,95	4,89	4,84	4,78	4,73	4,67
25	5,77	5,70	5,64	5,58	5,51	5,45	5,39	5,33	5,27	5,21	5,15	5,09	5,03	4,98	4,92	4,86	4,81	4,75	4,70	4,65	4,59
26	5,66	5,60	5,54	5,48	5,41	5,35	5,29	5,23	5,17	5,12	5,06	5,00	4,95	4,89	4,83	4,78	4,73	4,67	4,62	4,57	4,52
27	5,56	5,50	5,44	5,38	5,32	5,26	5,20	5,14	5,08	5,03	4,97	4,92	4,86	4,81	4,75	4,70	4,65	4,60	4,55	4,50	4,45
28	5,46	5,40	5,34	5,28	5,23	5,17	5,11	5,05	5,00	4,94	4,89	4,83	4,78	4,73	4,67	4,62	4,57	4,52	4,47	4,42	4,37
29	5,37	5,31	5,25	5,19	5,14	5,08	5,02	4,97	4,91	4,86	4,81	4,75	4,70	4,65	4,60	4,55	4,50	4,45	4,40	4,35	4,30
30	5,28	5,22	5,16	5,10	5,05	4,99	4,94	4,89	4,83	4,78	4,73	4,68	4,62	4,57	4,52	4,47	4,43	4,38	4,33	4,28	4,24
31	5,19	5,13	5,07	5,02	4,96	4,91	4,86	4,80	4,75	4,70	4,65	4,60	4,55	4,50	4,45	4,40	4,36	4,31	4,26	4,22	4,17
32	5,10	5,04	4,99	4,94	4,88	4,83	4,78	4,73	4,68	4,63	4,58	4,53	4,48	4,43	4,38	4,33	4,29	4,24	4,20	4,15	4,11
33	5,01	4,96	4,91	4,86	4,80	4,75	4,70	4,65	4,60	4,55	4,50	4,46	4,41	4,36	4,31	4,27	4,22	4,18	4,13	4,09	4,04
34	4,93	4,88	4,83	4,78	4,73	4,68	4,63	4,58	4,53	4,48	4,43	4,39	4,34	4,29	4,25	4,20	4,16	4,11	4,07	4,03	3,98
35	4,85	4,80	4,75	4,70	4,65	4,60	4,55	4,51	4,46	4,41	4,36	4,32	4,27	4,23	4,18	4,14	4,10	4,05	4,01	3,97	3,93

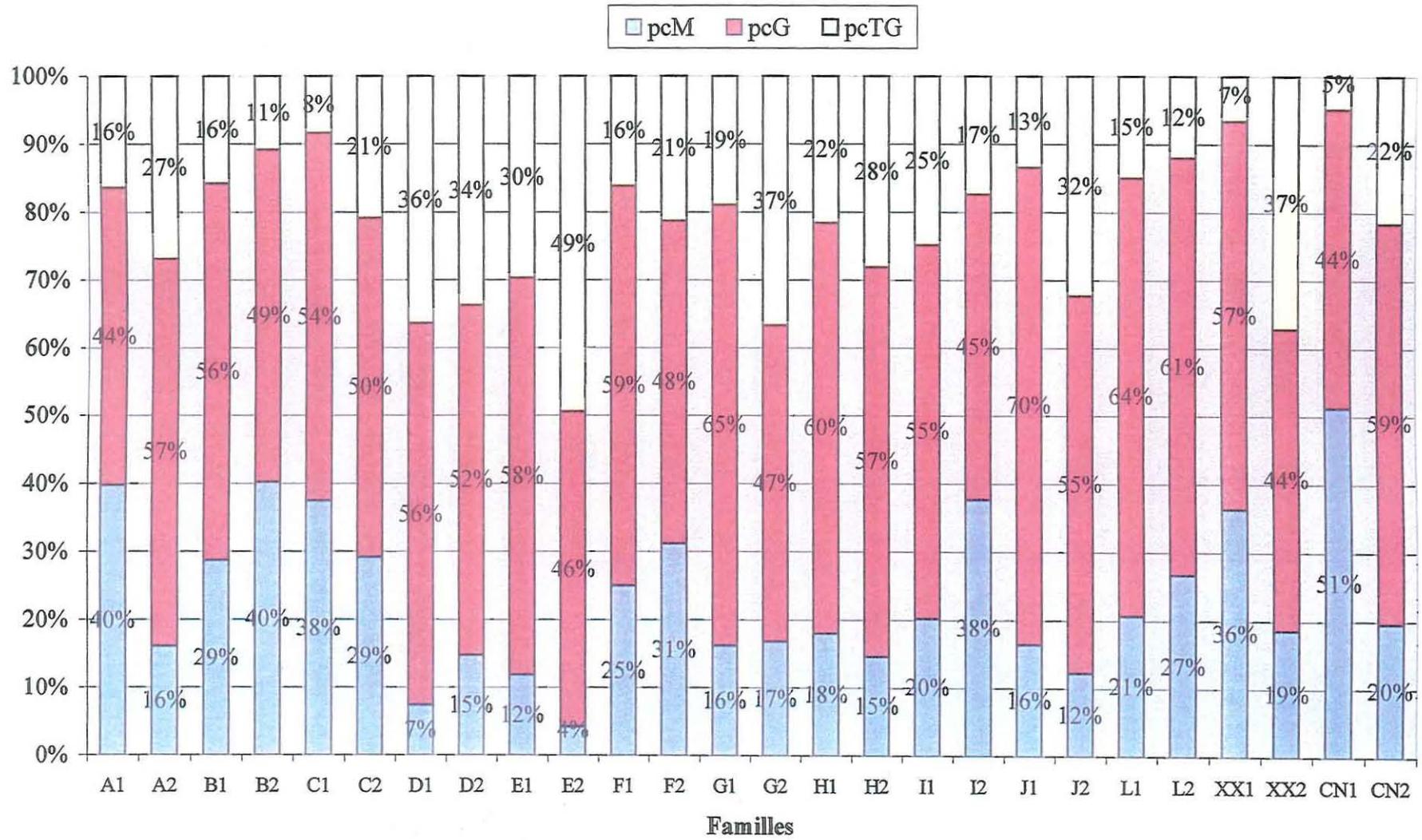
TEMPÉRATURES

D'après Aminot *et al.*, 1983

Annexe 4 - Reprise en oxygène dans les cellules de mesure en fonction du temps



Annexe 5 - Evolution des stades de maturaté sexuelle sur la période d'étude
Le numéro en abcisse renseigne s'il s'agit de la 1^{ère} ou 2^{ème} série de mesures



Annexe 6a - Manip 6 : Tests de rang par famille pour la respiration

Mesure 1			Mesure 2			Mesure 3		
	Groupe	Moyenne		Groupe	Moyenne		Groupe	Moyenne
G	A	1,67	I	A	2,40	I	A	2,86
I	B	2,06	G	A	2,43	H	AB	3,03
H	B	2,14	H	B	2,67	G	AB	3,08
L	C	2,47	L	C	3,29	L	B	3,38
Mesure 4			Mesure 5			Mesure 6		
	Groupe	Moyenne		Groupe	Moyenne		Groupe	Moyenne
I	A	3,66	H	A	2,84	H	A	2,41
G	A	3,66	I	B	3,27	G	A	2,53
H	A	3,56	L	B	3,30	I	A	2,57
L	B	4,00	G	B	3,51	L	B	2,97

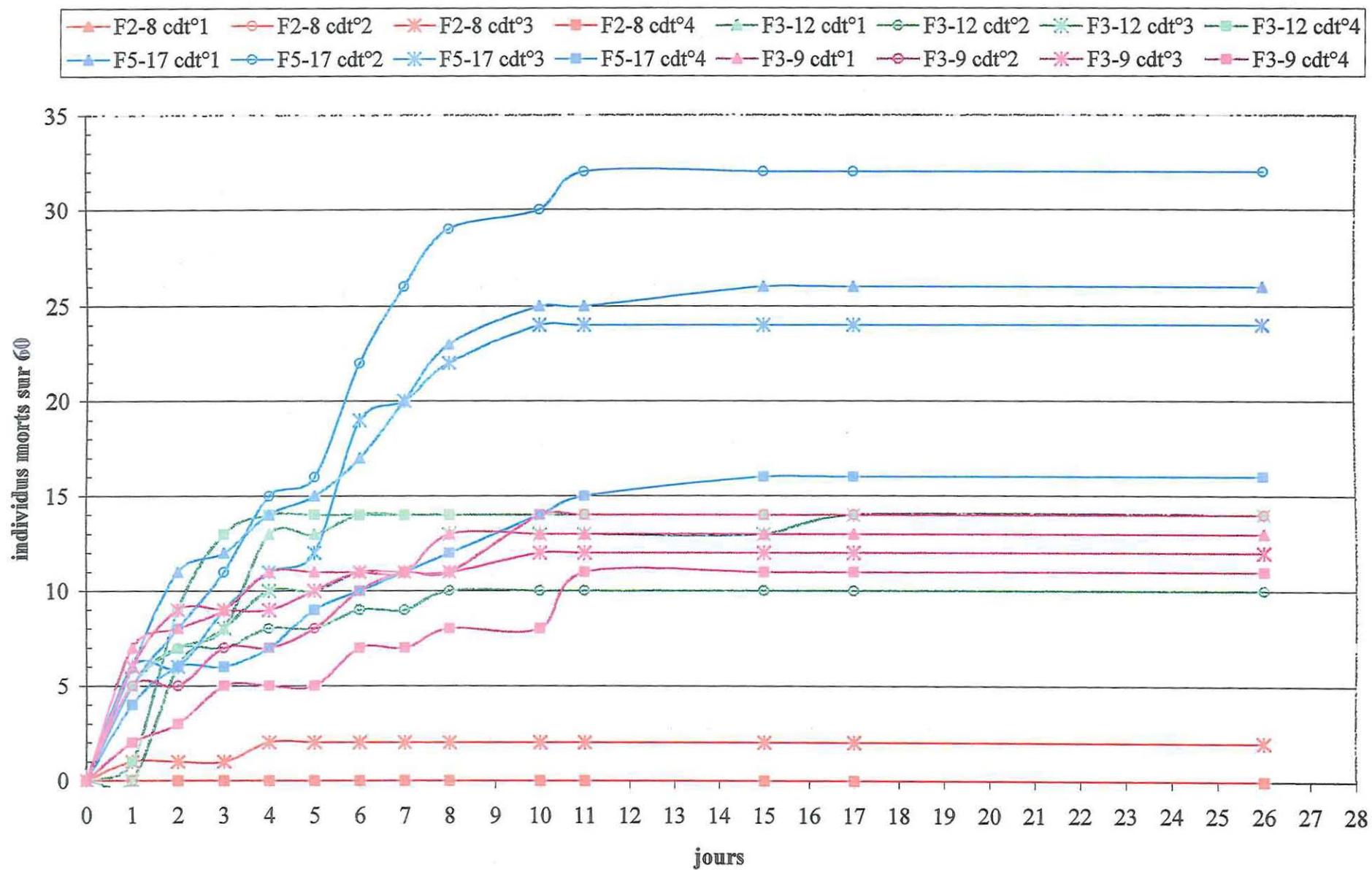
Résultats des tests de rang par famille de la respiration pour chaque mesure de la manip 6. Une même lettre traduit l'appartenance à un groupe à l'intérieur duquel la variable étudiée n'est pas significativement différente. Les moyennes présentées sont exprimées en $\text{mg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{Psec}$ d'oxygène.

Annexe 6b - Manip 6 : Tests de rang par traitement pour la respiration

Mesure 1		
Traitement	Groupe	Moyenne
4	A	1,82
1 2 3	B	2,34
Mesure 2		
Traitement	Groupe	Moyenne
3	A	2,47
4	A	2,63
1 2	B	2,99

Résultats des tests de rang par traitement de la respiration pour les mesures 1 et 2 de la manip 6.

Annexe 7 - Mortalité cumulée par famille et par condition



Annexe 8 - Bilan de la caractérisation des familles

8a - Bilan sur estran

Familles	Mortalité sur estran (de la plus faible à la plus élevée)	Chute de I _{WM} (de la plus faible à la plus élevée)	Gain de poids total (du plus élevé au plus faible)
A	1	1,2,3,4,5,6	3,4
B	1	2,3,4,5,6	2,3,4
C	1	4,5,6	3,4,5
D	1	6	1,2,3
E	1	1,2,3,4	4,5
F	1	1,2	5
G	1	5,6	1,2
H	1	3,4,5,6	2,3,4
I	1	2,3,4,5,6	4,5
J	2	1	1
L	1	5,6	4,5
XX	1	1,2,3	1
CN	2	1,2,3,4,5	3,4

8b - Bilan en sortie de nurserie

Familles	Respiration instantanée (manip 1) (de la plus faible à la plus élevée)	Respiration après stress thermique (manip 3) (de la plus faible à la plus élevée)	I _{WM} (du plus élevé au plus faible)	pcM (du plus faible au plus élevé)
A	1	2	1,2	3,4
B	1,2,3,4		1,2	2,3
C	1,2,3,4,5		1,2	3,4
D	4,5		1	1
E	1,2,3	2	2,3	1
F	1,2,3	1	4,5	1,2,3
G	1,2	2	3,4	1,2
H	1	2	4,5	1,2
I	1,2,3,4,5	1	4,5	1,2,3
J	3,4,5		3,4	1,2
L	2,3,4,5		5	1,2,3
XX	1,2,3,4,5	4	4,5	3,4
CN	5	3	2,3	4

8c - Bilan des mortalités au laboratoire

Familles	Mortalité série 1 (de la plus faible à la plus élevée)	Mortalité série 2 (de la plus faible à la plus élevée)	Mortalité manip 6 (de la plus faible à la plus élevée)
A	2	2,3,4	
B	2	1,2,3	
C	2,3	1,2	
D	1	1	
E	2	1,2,3	
F	2	4,5	
G	1	1	1
H	2	3,4,5	2
I	1	1,2	2
J	4	6	
L	3	5,6	3
XX	2,3	1,2,3	
CN	2,3	1,2,3	