

PATHOLOGY IN MARINE AQUACULTURE (PATHOLOGIE EN AQUACULTURE MARINE). 1986.
C.P. Vivarès, J.-R. Bonami, and E. Jaspers (Eds). European Aquaculture
Society, Special Publication No. 9, Bredene, Belgium.

MORTALITES ESTIVALES DE L'HUITRE CRASSOSTREA GIGAS
DANS LE BASSIN D'ARCACHON :
FACTEURS DU MILIEU, ASPECTS BIOCHIMIQUES ET HISTOLOGIQUES

D. MAURER (1) et M. COMPS (2)

(1) Laboratoire de Ressources Aquacoles, IFREMER
63 Bd Deganne, F-33120 Arcachon, France

(2) Laboratoire de Pathologie, IFREMER
1 rue Jean Vilar, F-34200 Sète, France

RESUME

En l'absence d'éléments permettant d'avancer une étiologie infectieuse des mortalités estivales de Crassostrea gigas dans le bassin d'Arcachon, une étude comparative d'un site à haut risque de mortalité (Taussat) et d'un site à bas risque (Cap Ferret), a été entreprise au cours de l'été 1983 sur des Huitres de 1 an. 30 % de mortalités affectaient des lots expérimentaux à Taussat et 3 % au Cap Ferret. Hormis des différences de température, maxima : 27 °C à Taussat et 22 °C au Cap Ferret, aucune désoxygénation du milieu n'a été mise en évidence. Sur le plan nutritif les deux sites sont similaires. Les mortalités s'observent à la suite d'une décroissance progressive des poids secs relatifs et des index de condition des Mollusques et après épuisement des réserves glucidiques (0,7 % du poids sec). Les examens histologiques ont révélés une altération de l'épithélium digestif consécutive à une activité autophagique caractéristique d'un état de stress. Il est suggéré que l'augmentation des besoins énergétiques des Huitres due à des fortes températures à la maturation et à la ponte, au moment où les réserves glycogénées sont au plus bas, entraîne, un déséquilibre métabolique qui peut dans ces cas aigus, représenter un état pathologique.

MOTS CLES : Crassostrea gigas, Mortalité estivale, Environnement, Biochimie, Histologie.

ABSTRACT

SUMMER MORTALITIES OF OYSTERS CRASSOSTREA GIGAS
IN THE BAY OF ARCACHON :
ENVIRONMENTAL, BIOCHEMICAL, AND HISTOLOGICAL ASPECTS

Previous pathological studies have not permitted to implicate infectious disease in summer mortalities of oysters Crassostrea gigas, in the Arcachon bay. In 1983, these summer mortalities, occurring mostly among 1 year old oysters, have been the subject of new investigations. In order to establish the causes of mortalities, oysters of the same origin were held in two areas characterized by different prevalence of mortality for 6 months, during which measurements of physiological and biochemical condition and certain histological observations

were made. The study has been completed by environmental observations. Different rates of mortality appeared between the two selected areas : 30 % in Taussat in the upper part of the bay, under a continental influence and 3 % in Cap Ferret, under an oceanic influence. Among environmental factors, temperature showed the most significant difference between the two sites, with the highest values of 27 °C in Taussat and 22 °C in Cap Ferret. In the two areas, the nutrient levels appeared to be similar and no deoxygenation was ever observed during the summer. Statistical size difference between surviving and dead oysters was not observed, and the sex ratio data indicated that the mortality was not selective against females or males. Mortality occurred after gradual decrease of the relative dry weight and the condition index of the oysters, and was more marked in Taussat. In both groups studied, the timing of mortality also coincided with the decline in carbohydrate content from 9 % of the dry weight to values as low as 0,7 %. The histological studies confirmed the absence of pathogens, and showed a change in the digestive cell structure : a thinning of the digestive tubule epithelium resulting from a loss of the apical cytoplasm in response to exposure at elevated temperature. This epithelial thinning appeared to be related to the formation of autolysosomes in the digestive cells. This change was greater in Taussat oysters than in those of Cap Ferret. These data suggest that high temperature, sexual maturation, and spawning constitute various stresses increasing the physiological needs of oysters. The animals show an energy imbalance, resulting in the utilization of fat reserves when carbohydrates are depleted, which may be related to the process of autophagy described above. In severe cases, it can represent a pathological condition.

KEY WORDS : Crassostrea gigas, Summer mortality, Environment, Biochemistry, Histology.

INTRODUCTION

Dans le bassin d'Arcachon, depuis l'introduction de l'Huître creuse Crassostrea gigas en 1970-71, des mortalités estivales se sont produites. Elles ont été particulièrement remarquées lors de 3 années consécutives de 1981 à 1983. Si en 1981, elles viennent s'ajouter à une cinquième année d'absence de fixations de jeunes Huîtres, en 1982, elles s'accompagnent en revanche d'un retour à un captage très abondant, apportant une certaine garantie de la bonne qualité des eaux. Les études pathologiques réalisées alors n'ont permis de retenir aucune indication étiologique précise.

L'observation des mortalités en 1982 et 1983, a permis d'en dégager les caractéristiques suivantes :

- elles affectent principalement les jeunes Huîtres âgées de un an, et secondairement celles âgées de deux ans;
- elles se déroulent pendant une partie de la période de reproduction;
- elles ne semblent pas se développer selon une logique de propagation, mais elles présentent une répartition en mosaïque se traduisant sur le terrain par des lots voisins atteints à des intensités parfois très différentes, de quelques % à plus de 60 %.

Au Japon et aux Etats-Unis, des phénomènes similaires ont été observés depuis plusieurs décennies. Ils sont restés sans explication claire et définitive, les hypothèses se rejoignant cependant pour mettre en cause des perturbations physiologiques en relation avec certains facteurs du milieu (Glude, 1975; Koganezawa, 1975; Perdue et al., 1981; Mori, 1979, 1982).

C'est en tenant compte de ces données générales et afin d'appréhender les causes du phénomène qu'une étude a été entreprise au cours de l'été 1983. Il s'agit d'une étude comparative d'un site à haut risque de mortalité (Taussat), et d'un site de référence caractérisé par l'absence presque totale de mortalité les

années précédentes (Cap Ferret) (Fig. 1). Les investigations ont porté sur les facteurs du milieu et sur les caractéristiques d'Huîtres âgées de un an, originaires de Taussat, et placées sur ces sites.

MATERIEL ET METHODES

Des Huîtres de 1 an, originaires du bassin d'Arcachon ont été placées en poche ostréophile à raison de 1 000 individus par poche dans deux sites différents, l'un océanique, le Cap Ferret et l'autre continental, Taussat. Les mesures d'oxygène dissous étaient réalisées en cours de cycle de marée à l'aide d'un oxymètre orbisphère. Des enregistreurs automatiques permettaient l'acquisition des données de température en continue. Le dosage de la chlorophylle était réalisé selon la méthode de Lorenzen (1967) sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer.

30 à 50 Huîtres étaient prélevées une à deux fois par semaine et ramenées au laboratoire pour observations. Sur le plan analytique, poids secs, sex ratio index de condition, paramètres biochimiques, les techniques utilisées ont été déjà exposées (Maurer et Borel, 1986). Il en est de même en ce qui concerne les préparations histologiques (Comps, 1983).

RESULTATS

Au cours de l'été 1983, des mortalités assez importantes ont été observées dans le bassin d'Arcachon. Chez les Huîtres mises en expérience, on a relevé, comme les années précédentes, des taux de mortalité plus importants à Taussat (30 %) qu'au Cap Ferret (3 %); de plus, le phénomène est apparu plus précocement dans le premier site (mi-juillet) que dans le second (début août).

Concernant les paramètres du milieu, on retiendra que les deux sites diffèrent essentiellement par la température (Fig. 2). Les variations des températures de l'eau sont concomitantes dans les deux secteurs, mais moins brutales au Cap Ferret où les valeurs restent toujours inférieures de plusieurs degrés à celles de Taussat, avec des maximums respectifs de 22 °C et 27 °C. Les mortalités s'observent à la suite du réchauffement des eaux, plus rapide et important à Taussat qu'au Cap Ferret, ce qui est à mettre en liaison avec la précocité et l'intensité du phénomène dans ce premier site.

Par ailleurs, sur le plan nutritif, les deux sites étudiés n'ont pas montré, au cours du printemps et de l'été 1983, de différence notable. On constate dans l'ensemble que leur valeur nutritive est peu élevée, et particulièrement au moment des mortalités, avec des teneurs en chlorophylle a de 0,5 mg/m³ et des teneurs caloriques du matériel particulaire de l'eau voisines de 3 cal/l.

Enfin, il n'a pas été observé de désoxygénation du milieu, même dans les conditions les plus défavorables qui peuvent être rencontrées lors des basses mers de matinée.

En ce qui concerne les Huîtres mises en expériences, nous retiendrons que les mortalités font suite à une croissance particulièrement forte durant les mois de mai et juin, s'accompagnant d'un amaigrissement relatif des individus (Fig. 3). Ce phénomène se produit bien que les Huîtres soient en cours de maturation, ce qui normalement devrait se traduire par une augmentation des poids secs jusqu'à la ponte. Ce déclin est beaucoup plus marqué à Taussat qu'au Cap Ferret. Les pontes, à l'origine d'une chute des valeurs, sont au nombre de deux à Taussat comme au Cap-Ferret, mais elles ne surviennent pas de façon synchrone : la maturation et le frai sont respectivement plus rapide et précoce dans ce premier site, ce qui est à rapprocher des températures plus élevées. Les mortalités surviennent à la suite de l'amaigrissement relatif des individus que nous venons

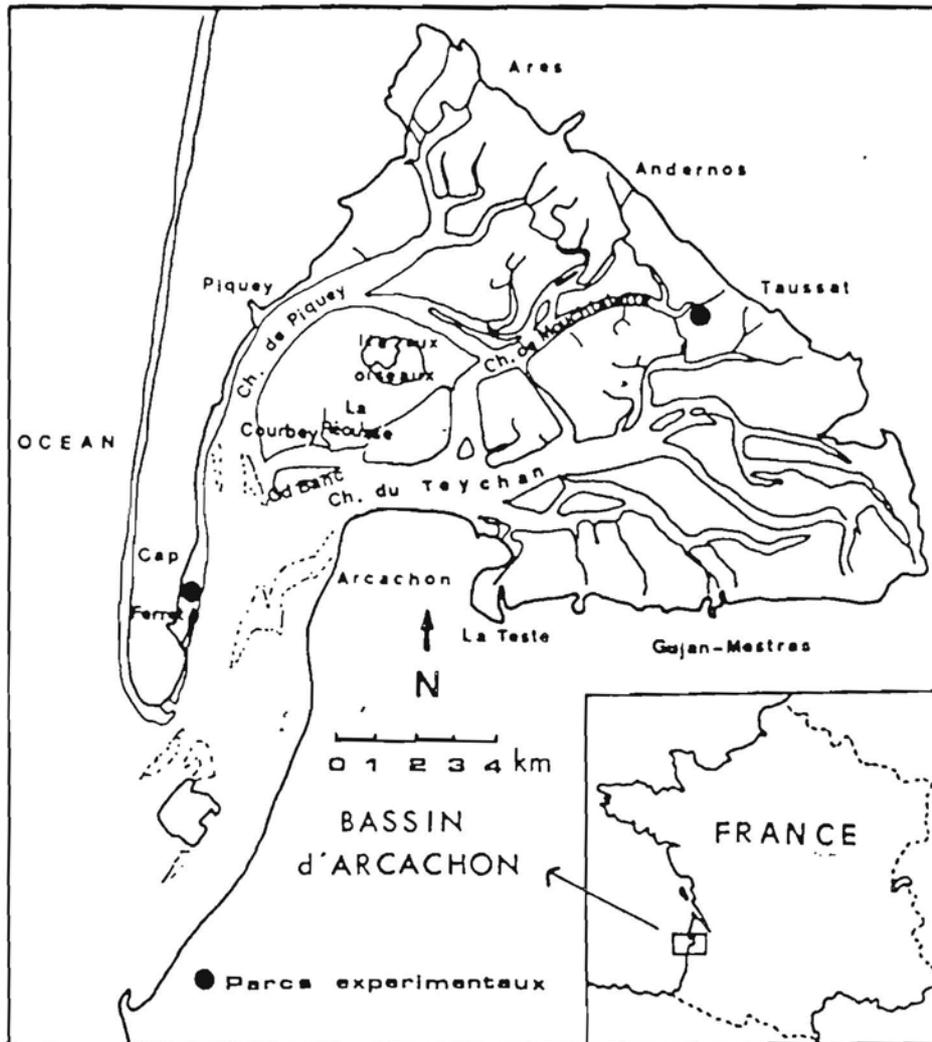
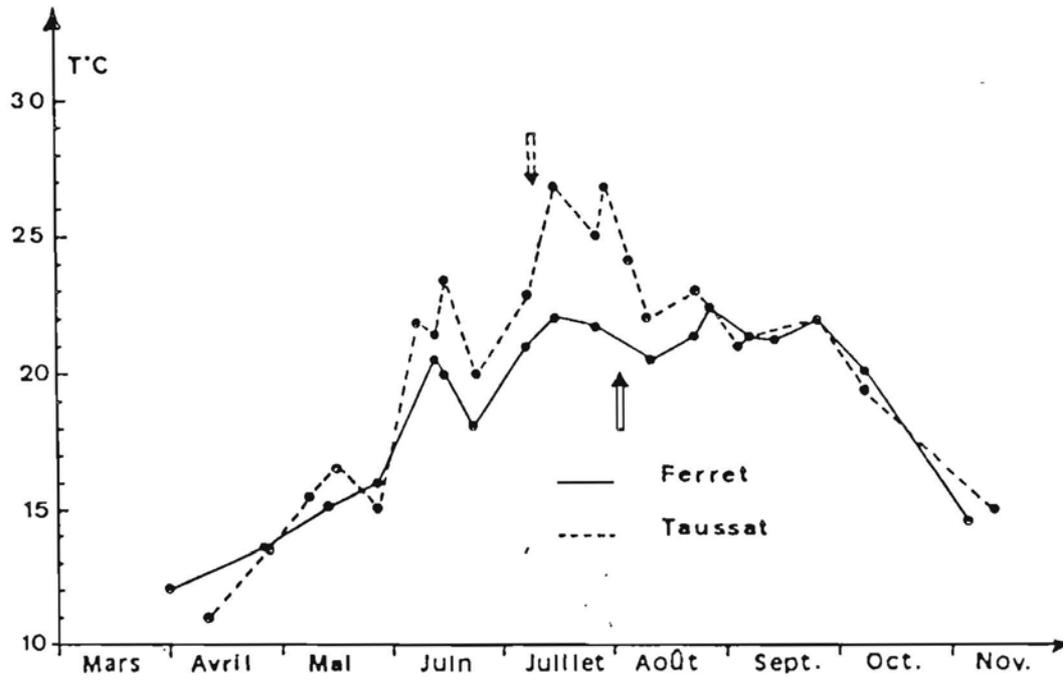


Fig.1. Le bassin d'Arcachon.



Dates d'apparition des mortalités sur les lots expérimentaux :

Taussat ↓

Cap Ferret ↑

Fig.2. Températures relevées à la basse mer dans les deux secteurs.

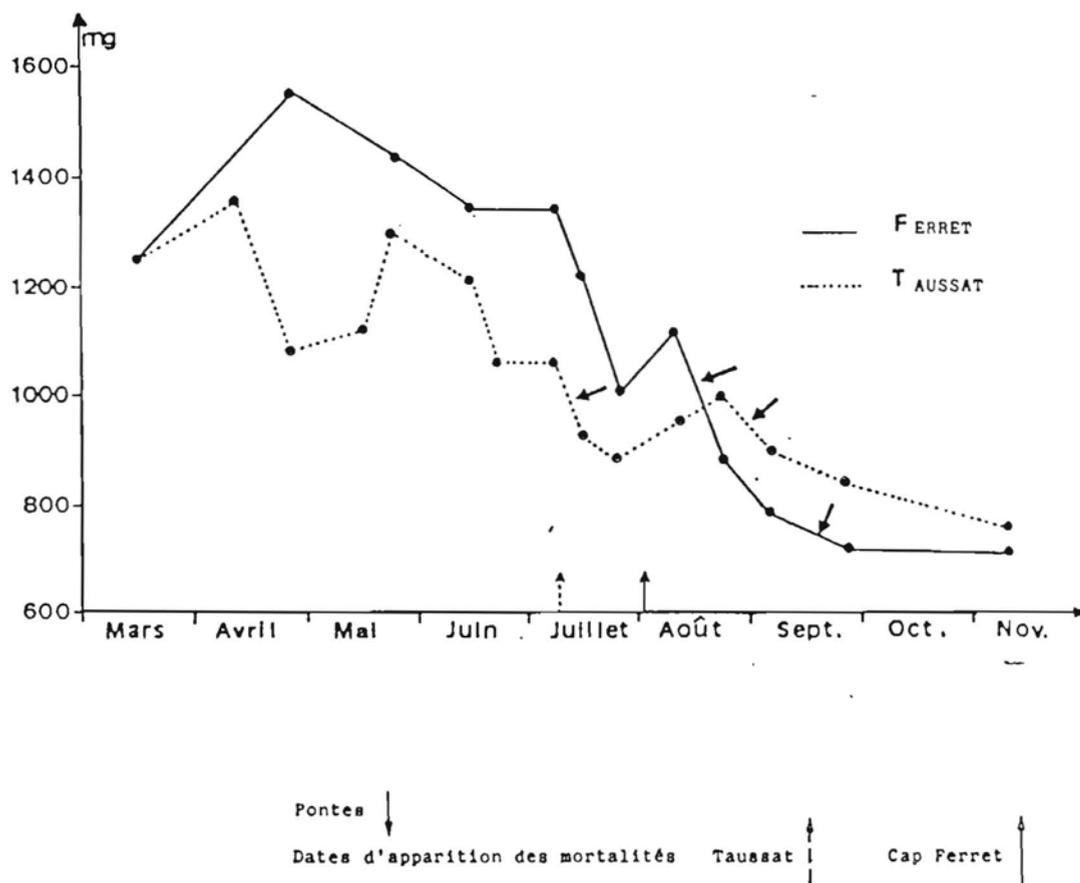


Fig.3. Evolution du poids sec des Huitres, ramené à celui d'un animal standard de 50 g.

de décrire, au moment du frai sur le lot de Taussat, et précédant la ponte d'environ deux semaines sur celui du Cap Ferret. Les variations des index de condition (Fig. 4) rendent compte des mêmes phénomènes.

L'évolution des teneurs en glucides totaux (Fig. 5) est liée au cycle de reproduction : après un pic printanier atteignant 9 % de la matière sèche, les glucides chûtent durant la période estivale corrélativement avec l'avancement de la maturation sexuelle (Mori *et al.*, 1965; Jeng *et al.*, 1979; Mann, 1979; Mori, 1979; Perdue *et al.*, 1981). Les réserves glycogénées seraient utilisées pour l'élaboration des produits génitaux (Gabbott, 1975). On remarque que cette chute est plus rapide à Taussat pendant la période critique des mortalités. Celles-ci surviennent dans les deux cas après que les taux de glucides ont atteint leur minimum, de très faible valeur (0,7 % de la matière sèche).

L'ensemble de ces résultats met en évidence que les mortalités affectent une population au préalable affaiblie. Par ailleurs aucun lien n'a été établi entre les mortalités et la taille des Huîtres. De même, les mortalités ne sont pas apparues opérer une sélection selon le sexe dans les lots étudiés.

Sur le plan histopathologique, la recherche directe et systématique de différents types d'agents infectieux susceptibles d'être associés aux mortalités, n'a pas permis de mettre en cause un agent déterminé. En revanche, comme les années précédentes, les examens sur coupe ont permis d'observer régulièrement chez les Huîtres du bassin d'Arcachon, un fort amincissement de l'épithélium des tubules digestifs, souvent accompagné d'un élargissement important de ces derniers. On notera que, si l'amincissement de l'épithélium digestif est un phénomène normal dans son évolution au cours d'un cycle de marée comme l'a montré Morton (1977), le degré qu'il atteint en période de mortalité estivale lui conférerait une signification pathologique (Photo 1).

Il a été montré que dans certaines conditions d'exposition à l'air (Moore *et al.*, 1979), à des températures élevées (Quick, 1971; Moore, 1976), à des hydrocarbures (Lowe *et al.*, 1981; Widdows *et al.*, 1982), à un jeûne prolongé (Thompson *et al.*, 1974), les Mollusques subissent un stress qui se manifeste par une déstabilisation de la membrane lysosomale entraînant une activation des enzymes hydrolitiques. Il en résulte la formation de volumineux autolysosomes pouvant conduire à une dégradation importante de l'épithélium digestif.

Dans le bassin d'Arcachon, l'étude des deux populations (Fig. 6) a montré que les taux d'Huîtres présentant un développement important des autolysosomes étaient plus élevés à Taussat qu'au Cap Ferret, de même que les taux d'Huîtres présentant un fort amincissement de l'épithélium digestif, surtout aux périodes où des différences notables de température ont été enregistrées entre les deux sites. Le surcroît de développement des autolysosomes révélant un accroissement de la fonction autophagique, se manifesterait par une rupture plus intense des cellules digestives, entraînant un véritable délabrement de l'épithélium.

DISCUSSION

En conclusion, l'étude réalisée au cours de l'été 1983 a permis de progresser dans l'explication du phénomène. La croissance printanière très forte des jeunes Huîtres n'est pas suivie d'un gain de poids sec proportionnellement aussi important, surtout chez les Mollusques de Taussat. Ceci est à mettre en rapport avec la gamétogénèse et le frai plus précoces dans ce site; de même, la mobilisation des réserves en glycogène s'y produit plus rapidement. A l'affaiblissement qui en résulte s'ajoute l'effet des températures sensiblement plus élevées à Taussat (de l'ordre de 5 °C) provoquant chez les Huîtres un stress important. Le signe le plus évident de ce stress est l'amincissement de l'épithélium digestif, précédé par une intense activité autophagique, d'autant plus marquée dans les zones fortement touchées par les mortalités. Les besoins énergétiques des animaux seraient en augmentation au moment où les réserves

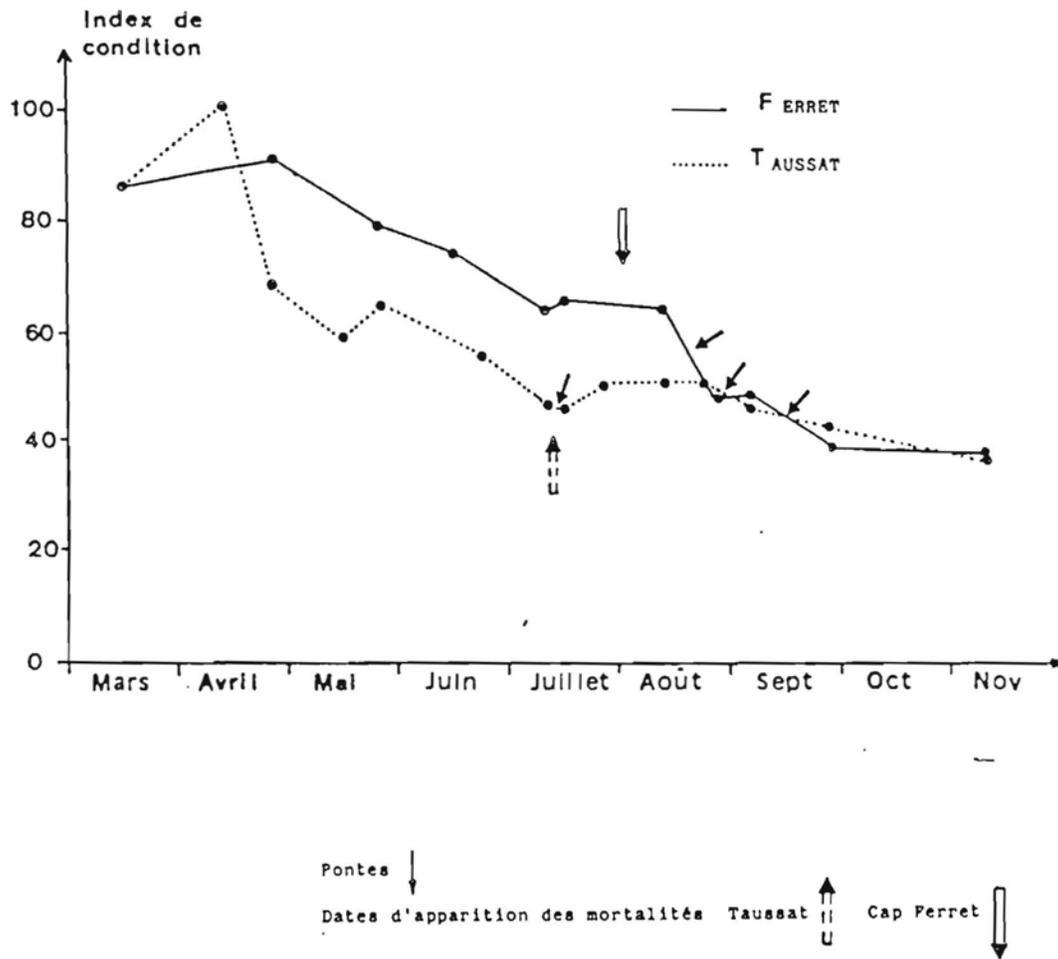


Fig.4. Evolution des index de condition des Huîtres.

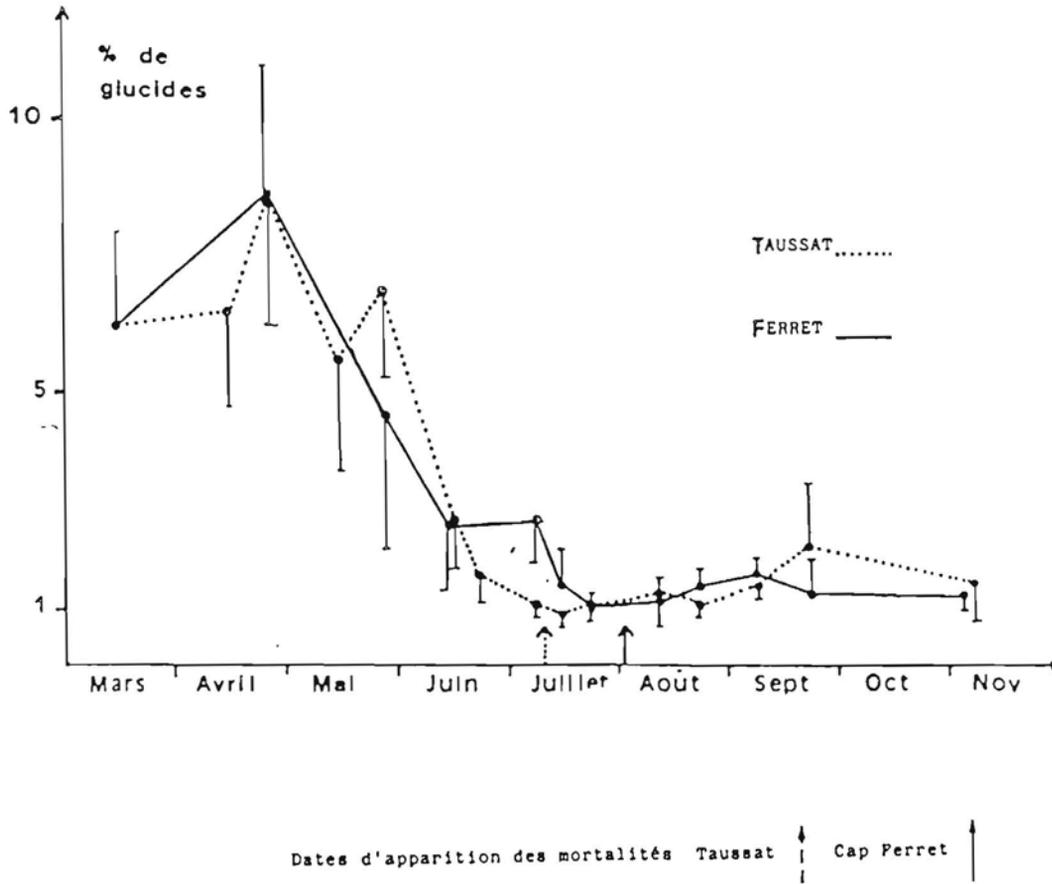
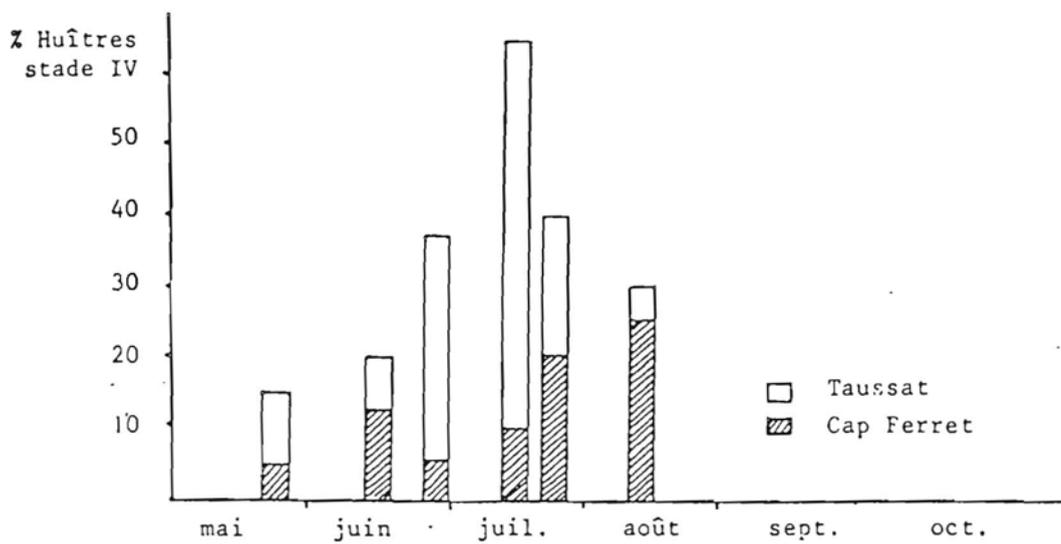


Fig.5. Evolution des teneurs en glucides totaux (exprimés en % du poids sec) des Huitres des deux secteurs.



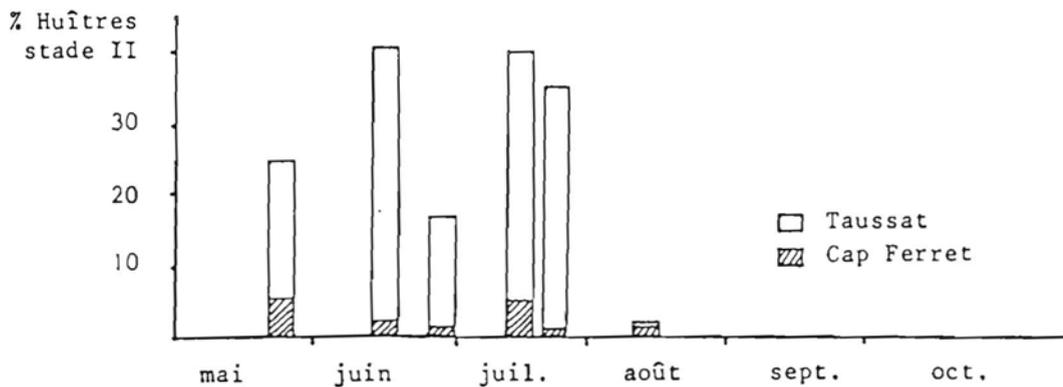
Photo 1. Coupe de diverticule digestif d'Huître de Taussat.

AMINCISSEMENT DE L'EPITHELIUM DIGESTIF



Stade IV : aminicissement maximum de l'épithélium digestif pouvant être considéré comme caractéristique d'un état pathologique.

ACTIVITE LYSOSOMALE



Stade II : activité lysosomale intense, appréciée par estimation nombre et de la taille des grains cytoplasmiques APS bleu alcian positif (autolysosomes).

Fig.6. Pourcentages d'Huîtres présentant une activité enzymatique intense et un aminicissement maximum de l'épithélium digestif (cf photo 1).

glycogénées ont atteint leur niveau le plus bas. Ceci conduirait les Mollusques à un état de déséquilibre énergétique à mettre en rapport avec l'accroissement de l'activité autophagique décrit précédemment; l'autophagie peut en effet fonctionner comme un mécanisme physiologique de survie, et dans des cas aigus, représenter un état pathologique susceptible d'entraîner directement des mortalités (Ericson, 1969; Moore, 1980).

A la suite de cette étude, il apparaît que les mortalités estivales constituent un phénomène complexe où pour l'essentiel interviendraient la fonction gamétogénétique et des perturbations physiologiques liées aux conditions de milieu. Cette interprétation des faits rejoint les hypothèses avancées sur les causes de mortalités estivales constatées depuis plusieurs décennies dans différents pays.

BIBLIOGRAPHIE

- COMPS M. 1983. Recherches histologiques et cytologiques sur les infections intracellulaires des Mollusques Bivalves marins. Thèse Univ. Sci. Techn. Languedoc, Montpellier. 128 p.
- ERICSON J.L.E. 1969. Mechanism of cellular autophagy. p. 345-394. In : Lysosomes in biology and pathology. Vol 2. Dingle J.T. and H.B. Fell (Eds). North Holland/American Elsevier, Amsterdam, Oxford, New-York.
- GABBOTT P.A. 1975. Storage cycles in marine bivalve mollusc : a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. p. 191-211. In : Proc. 9th Europ. Mar. Biol. Symp., Aberdeen, Scotland.
- GLUDE J.B. 1975. A summary report of Pacific coast oyster mortality investigations 1965-1972. p. 1-28. In : Proc. Third US-Japan Meeting on Aquaculture, Tokyo, Japan, October 15-16, 1974.
- JENG S.S., S.Y. Hsu, et G.S. Wang: 1979. Chemical composition of Taiwan's oysters and clams. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica 18(1):1-10.
- KOGANEZAWA A. 1975. Present status of studies on the mass mortality of cultured oysters in Japan and its prevention. p. 23-34. In : Third US-Japan Meeting on Aquaculture, Tokyo, Japan, October 15-16, 1974.
- LORENZEN C.J. 1967. Determination of chlorophyll and pheapigments : spectrophometric equation. Limnol. Oceanogr. 12:343-346.
- LOWE D.M., M.N. MOORE, et K.R. CLARKE. 1981. Effects of oil on digestive cells in mussels : quantitative alterations in cellular and lysosomal structure. Aquatic Toxicology 1:213-226.
- MANN R. 1979. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in Crassostrea gigas and Ostrea edulis grown at sustained elevated temperatures. J. mar. biol. Ass. UK 59:95-110.
- MAURER D. et M. BOREL. 1986. Croissance, engraissement et cycle sexuel de Crassostrea gigas dans le bassin d'Arcachon : comparaison des huîtres de un de un et deux ans. Haliotis. (sous presse).
- MOORE M.N. 1976. Cytochemical demonstration of latency of lysosomal hydrolases in digestive cells of the common mussel Mytilus edulis and changes induced by thermal stress. Cell. Tiss. Res. 175:279-287.
- MOORE M.N. 1980. Cytochemical determination of cellular responses to environmental stressors in marine organisms. Rapp. P.-v. Réunion. Cons. int. Explor. Mer 179:7-15.
- MOORE M.N., D.M. LOWE, et S.L. MOORE. 1979. Induction of lysosomal destabilisation in marine bivalve molluscs exposed to air. Mar. Biol. Lett. 1:47-57.
- MORI K. 1979. Effects of artificial eutrophisation on the metabolism of the japanese oyster Crassostrea gigas. Mar. Biol. 53:361-369.
- MORI K. 1982. Physiological effects of 17 β estradiol on the japanese oyster Crassostrea gigas. Proc. No. Pac. Aquaculture Symp. Aug. 1980, Anchorage, Alaska. Alaska Sea Grant Report 82(2):305-317.
- MORI K., T. IMAI, K. TOYOSHIMA, et I. USUKI. 1965. Studies on the mass mortality of the oyster in Matsushima bay. IV. Changes in the physiological activity and the glycogen content of the oyster during the

- stages of sexual maturation and spawning. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab. 25:49-63.
- MORTON B.S. 1977. The tidal rhythm of feeding and digestion in the Pacific oyster Crassostrea gigas (Thunberg). J. exp. mar. Biol. Ecol. 26:135-151.
- PERDUE J.A., J.H. BEATTIE, et K.K. CHEW. 1981. Some relationships between gametogenetic cycle and summer mortality phenomenon in the Pacific oyster (Crassostrea gigas) in Washington state. J. Shellfish Res. 1(1):9-16.
- QUICK J.A. 1971. A preliminary investigation: the effect of elevated temperature on the American oyster Crassostrea virginica (Gmelin). Professional Papers Series. Marine Research Laboratory, Florida, Dep. Natural Resources, No.15. 190 p.
- THOMPSON R.J., N.A. RATCLIFFE, et B.L. BAYNE. 1974. Effects of starvation on structure and function in the digestive gland of the mussel (Mytilus edulis L.). J. mar. biol. Ass. UK 54:699-712.
- WIDDOWS J., T. BAKKE, B.L. BAYNE, P. DONKIN, D.R. LIVINGSTONE, D.M. LOWE, M.N. MOORE, S.V. EVANS, et S.L. MOORE. 1982. Responses of Mytilus edulis on exposure to the water-accommodated fraction of North sea oil. Mar. Biol. 67:15-31.