

Découvrez un ensemble de documents, scientifiques ou techniques,
dans la base Archimer : <http://www.ifremer.fr/docelec/>



ifremer

Laboratoire Conchylicole des Pays de Loire
Polder des Champs
85230 Bouin

2003

**Etude comparative des caractéristiques
écophysiologiques et des performances de
croissance de l'huître creuse *Crassostrea
gigas* diploïde et triploïde en milieu contrôlé.**

J. Haure, A. Fortin, B. Dupuy, M. Nourry, H. Palvadeau, M. Papin,
C. Pénisson et J.L. Martin

Sommaire

1. INTRODUCTION.....	5
2. MATERIEL ET METHODE.....	6
2.1. MATERIEL BIOLOGIQUE.....	6
2.1.1. <i>Les huîtres diploïdes</i>	6
2.1.2. <i>Les individus triploïdes</i>	6
2.1.3. <i>Les individus et leur filiation</i>	8
2.2. LE BASSIN EXPERIMENTAL	8
2.3. LE SUIVI DU MILIEU	9
2.3.1. <i>Le phytoplancton</i>	9
2.3.2. <i>Le seston</i>	9
2.3.3. <i>La température</i>	9
2.4. LE SUIVI DES INDIVIDUS	10
2.4.1. <i>Mortalité</i>	10
2.4.2. <i>Biométrie</i>	10
2.4.3. <i>Analyses biochimiques</i>	11
2.4.4. <i>Ecophysiologie</i>	11
2.4.5. <i>Analyse d'image</i>	15
2.4.6. <i>Analyses statistiques</i>	18
3. RESULTATS.....	19
3.1. LE MILIEU.....	19
3.1.1. <i>Le phytoplancton</i>	19
3.1.2. <i>Le seston</i>	19
3.1.3. <i>La température</i>	20
3.2. LES INDIVIDUS.....	20
3.2.1. <i>Mortalité</i>	20
3.2.2. <i>Biométrie</i>	21
3.2.3. <i>Analyses biochimiques</i>	25
3.2.4. <i>Résultats d'écophysiologie</i>	29
4. DISCUSSION	33
5. CONCLUSION.....	36
6. BIBLIOGRAPHIE.....	37

1. INTRODUCTION

Les cultures marines en France sont actuellement très largement dominées par l'ostréiculture. La production française d'huître s'élève à 148 467 tonnes, pour un chiffre d'affaires de près de 280 millions d'euros, faisant de la France le premier producteur européen. Les deux principales espèces concernées sont l'huître creuse *Crassostrea gigas* (140 000 tonnes) et l'huître plate *Ostrea edulis* (2 000 tonnes) dont la production s'est effondrée depuis 1970 suite aux épizooties successives de *Marteilia refringens* et de *Bonamia ostreae*. L'ostréiculture française est ainsi dans une situation de quasi monoculture, avec plus de 90 % des tonnages concernant l'huître creuse (données FAO de 1993).

Cette situation de quasi monoculture amène à la constatation pessimiste qu'une hypothétique crise sur les stocks français, comparable à celle de 1970, ne laisserait *a priori* pas d'alternative de remplacement. Actuellement, il n'existerait aucune espèce de substitution présentant les caractéristiques d'acclimatation et de résistance comparables à celles de *C. gigas*, dans le cas de mortalité importante (Boudry, com pers.). Pourtant, la diversification des espèces élevées en ostréiculture est indispensable pour élargir le marché et minimiser les risques pathologiques qui peuvent mettre en péril cette activité professionnelle.

Ainsi, des recherches ont été menées sur la réintroduction d'espèces connues comme *Crassostrea angulata* (Huvet, 2000 ; Haure, 2001) ou l'optimisation de la production existante de l'huître plate *O. edulis* (Haure, 1999). Ces travaux récents, bien que prometteurs, ne sont pas actuellement transférables à la profession.

Afin de pérenniser l'activité ostréicole, d'autres voies de recherche sont explorées pour améliorer les performances de croissance, la survie et la qualité de l'huître creuse *C. gigas*. Des études récentes basées sur la sélection de géniteurs ont montré qu'il existait une base génétique de la croissance et de la survie de *C. gigas* (Ernande *et al.*, 2000) mais l'héritabilité de ces caractères doit être encore validée avant d'adopter des schémas de sélection. D'autres études visant également à optimiser les performances de *C. gigas* se sont orientées vers la polypléidie. Ces recherches ont permis d'obtenir des huîtres creuses triploïdes, stériles dont la réduction gonadique permet un meilleur taux de croissance et une commercialisation étalée sur toute l'année.

Il a été démontré que l'huître triploïde présentait des performances de croissance constantes toute l'année (Allen and Downing, 1986), ainsi qu'une qualité de chair et une résistance aux pathogènes tel que *Vibrio parahaemolyticus* beaucoup plus développées que l'huître diploïde commune (Peyre *et al.*, 1999). L'intérêt aquacole de l'utilisation d'individus triploïdes a conduit, ces dernières années, au développement de cette production en France (Hirsh, 2001).

Différentes techniques permettent l'obtention d'individus triploïdes . Bien que le succès de la triploïdisation soit élevé grâce à l'application d'un traitement à la cytochalasine B (Downing and Allen, 1987) ou encore au 6-diméthylaminopurine (6-DMAP) (Desrosiers *et al.*, 1993), les résultats obtenus sont très rarement de 100 %. Des équipes de recherche ont développé une stratégie plus efficace pour produire des huîtres triploïdes en croisant des individus tétraploïdes et des individus diploïdes. Cependant, très peu de données bibliographiques sont disponibles sur ce sujet (Hirsch, 2001) et les techniques d'obtention des huîtres tétraploïdes sont peu dévoilées.

Cette étude propose de comparer en milieu contrôlé, les performances de croissance et de survie des huîtres creuses *C. gigas* (de même filiation) diploïdes et triploïdes obtenues d'une part, par l'action d'un inhibiteur (CB) et d'autre part, par croisement tétraploïde / diploïde. Elle propose également de comparer les activités écophysiologicals de ces trois populations, afin de dresser un bilan énergétique (Scope for growth) et de déterminer la part d'énergie disponible pour la croissance (soma et coquille) et pour la reproduction.

2. Matériel et Méthode

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Les huîtres diploïdes

Le génome de base d'un organisme est caractérisé par le nombre de chromosomes non homologues contenu dans le noyau d'une cellule (par exemple 23 chez l'homme, 10 chez l'huître). La plupart des individus du règne animal sont généralement diploïdes (Fig. 1). Leur génome est constitué de génomes de base, l'un d'origine maternelle et l'autre d'origine paternelle (Hirsch, 2001). En milieu naturel, l'huître creuse *C. gigas* est un individu diploïde.

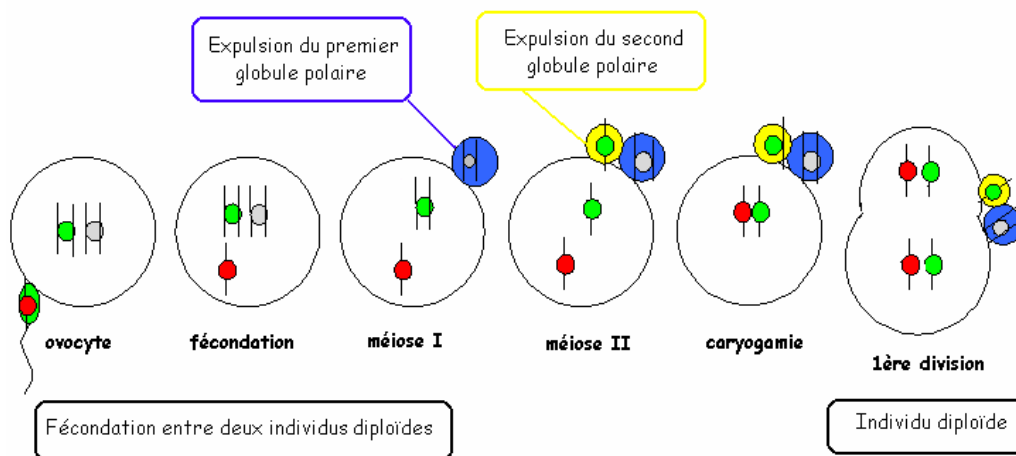


Figure 1 : Schéma du développement de l'oeuf d'un organisme diploïde

2.1.2. Les individus triploïdes

Les individus triploïdes possèdent trois exemplaires de chaque chromosome ($3n$). Les huîtres triploïdes peuvent être obtenus par induction chimique ou par croisement. Il a été observé que ces individus avaient une reproduction réduite par rapport aux huîtres diploïdes (Hawkins *et al.*, 1998). D'après Cox *et al.* (1996), les huîtres triploïdes du genre *C. gigas* présenteraient une gamétogenèse anormale et très largement retardée.

- Induction par voie chimique

Pour obtenir expérimentalement des huîtres triploïdes, il est nécessaire d'agir pendant la fécondation et plus particulièrement pendant la division de l'œuf, lorsque les chromosomes sont différenciés et plus facilement dissociables. La cytochalasine B est un inhibiteur qui permet la rétention d'une paire de chromosome se trouvant dans le globule polaire, lors de la division de l'œuf (Fig. 2). Il est possible d'obtenir des huîtres triploïdes par rétention du premier ou du deuxième globule polaire (Hawkins *et al.*, 1994). Cependant, expérimentalement il est plus facile de bloquer le deuxième globule polaire ; ce qui correspond à l'inhibition de la méiose II (Nell and Maguire, 1998).

De nombreuses recherches ont été réalisées pour déterminer un traitement optimal avec la cytochalasine B (Supan *et al.*, 2000). Dans la littérature, il apparaît que la dose d'inhibiteur, la durée du traitement, la température et le nombre d'application du produit sont des paramètres à contrôler pour obtenir des résultats intéressants (Downing and Allen, 1987).

L'inhibition du premier ou du second globule polaire avec le 6-diméthylaminopurine peut également induire la triploïdie. Cette nouvelle méthode présente de nombreux avantages comme sa simplicité d'utilisation ou une meilleure innocuité du produit comparé à la cytochalasine B. Cependant cette technique est encore très peu utilisée (Desrosiers *et al.*, 1993).

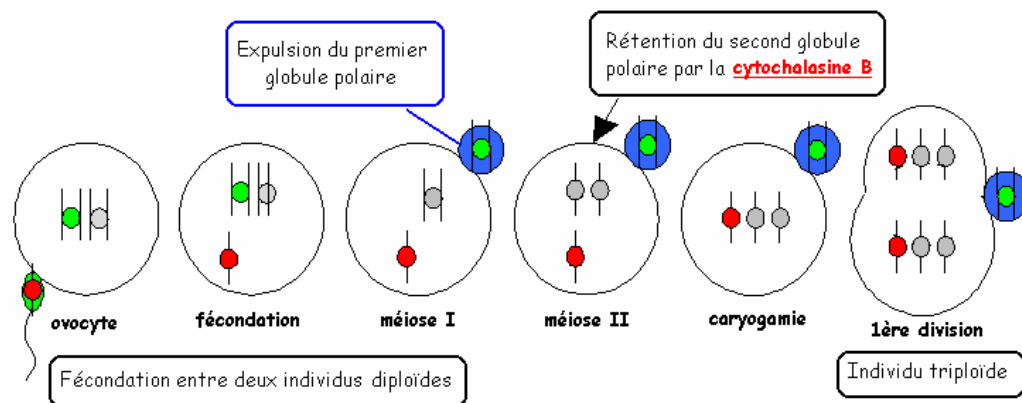


Figure 2 : Inhibition du second globule polaire par la cytochalasine B

- Obtention par croisement

Les individus triploïdes peuvent être également obtenus par pur croisement d'une huître tétraploïde (4n) et d'une huître diploïde (2n). Pour ce faire, le croisement a généralement lieu entre un mâle tétraploïde et une femelle diploïde (Ledu, com.pers.)

Les huîtres tétraploïdes possèdent quatre exemplaires de chaque chromosome. Il est possible d'obtenir des individus tétraploïdes par croisement de deux individus diploïdes en bloquant l'expulsion du premier et du second globule polaire lors de la division de l'œuf, avec la cytochalasine B. Cependant la technique la plus utilisée est celle correspondant au croisement d'un individu femelle triploïde et mâle diploïde (Fig. 3). Cette technique utilise également la cytochalasine B comme inhibiteur du premier globule polaire après fécondation (Ledu, com.pers.)

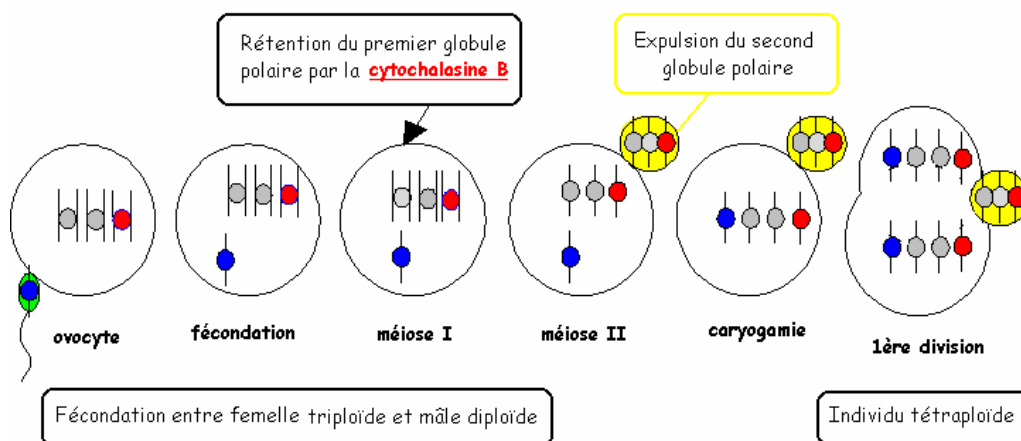


Figure 3 : Représentation schématique de l'obtention d'un œuf tétraploïde

2.1.3. Les individus et leur filiation

Cette étude porte sur trois lots d'huîtres de même âge et de même filiation ayant un patrimoine génétique différent :

- Un lot d'huîtres diploïdes
- Un lot d'huîtres triploïdes obtenues par traitement à la cytochalasine B
- Un lot d'huîtres triploïdes issues du croisement entre mâle tétraploïde et femelle diploïde.

Le lot de triploïdes obtenu par la cytochalasine B était constitué de 38% d'individus diploïdes et 62 % d'huîtres triploïdes. En revanche, le lot d'individus triploïdes obtenus par croisement di/tétra était composé de 100 % de triploïdes.

Ces individus sont tous issus du même géniteur femelle, mais d'un géniteur mâle différent ; ce sont des demi-frères. Ils ont été produits le 13 mars 2001 (date de ponte) et les élevages larvaires et de micro-nurserie ont été suivis à l'Ifremer de la Tremblade. Les géniteurs utilisés pour produire ces individus avaient la même origine géographique de captage qui était la Seudre. La station de Bouin a reçu ces individus le 12 avril 2001 où ils ont été prégressés en nurserie. L'étude proprement dite a débuté le 18 mars 2002 pour se dérouler jusqu'à fin novembre.

Dans ce rapport, les huîtres diploïdes seront appelées « Di », les huîtres triploïdes obtenues par traitement à la cytochalasine B seront identifiées par « CB » et les huîtres issues du croisement (di/tétra) seront abrégées par « Tri ».

2.2. Le bassin expérimental

C'est un bassin en béton de 8000 litres, se trouvant à l'extérieur de la station et abrité par un hangar. Il est équipé de six ruches composées de quatre clayettes numérotées (Fig. 6). Chacun des trois lots étudiés est réparti dans deux ruches, à raison de deux cent cinquante huîtres par clayette. L'une des ruches est utilisée uniquement pour le suivi de la mortalité et l'autre pour effectuer différents prélèvements pour les analyses biométriques. Au rythme des prélèvements (tous les quinze jours), les casiers subissent une rotation verticale (Fig. 4) et les ruches sont permutées de manière horizontale à l'intérieur du bassin, pour éviter toute stratification spatiale de la croissance.

Le bassin est alimenté par de l'eau de forage traitée ($9 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$) et la distribution de phytoplancton est assurée par injection sur la canalisation ($0,2 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$). En fonction des exigences physiologiques de l'huître creuse, il a été distribué une ration alimentaire de 1.10^9 cellules/jour/huître de *S. costatum* pour un débit de 1,5 l/heure/huître d'eau de forage traitée.

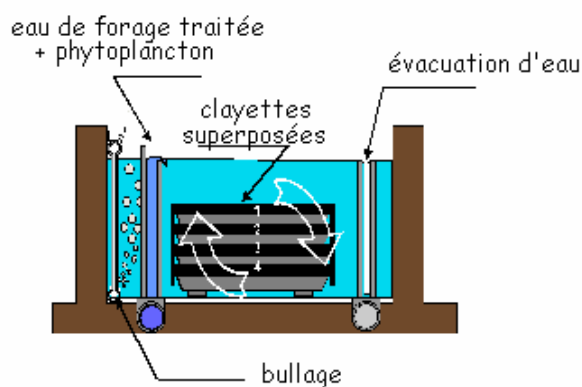


Figure 4 : Coupe du bassin expérimental

2.3. Le suivi du milieu

Il est effectué trois fois par semaine par prélèvement de l'eau à l'entrée du bassin d'élevage. Différents paramètres sont suivis :

2.3.1. Le phytoplancton

Un contrôle des débits d'eau et de phytoplancton a été réalisé quotidiennement, tandis que la concentration en microalgues distribuées au bassin d'expérimentation a été contrôlée de deux manières. La première était un comptage journalier sur cellule de Malassez. La seconde, correspondait au dosage de la chlorophylle *a* à l'entrée du bassin. Un volume connu (50 ml) a été filtré sur des filtres en microfibrilles de verre de type Whatman (GF/C) et de 25 mm de diamètre. Après chaque passage sur la rampe de filtration, 1 ml de carbonate de magnésium était rajouté sur le filtre afin de fixer la chlorophylle. Le filtre était ensuite stocké dans un tube en plastique au congélateur pour la conservation des pigments.

La chlorophylle *a*, extraite dans de l'acétone (Annexe 1) a été ensuite dosée par un fluorimètre (Turner designs 10-AU) préalablement calibré au spectrophotomètre (Hitachi), selon la méthode de Lorenzen (1967). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{g.l}^{-1}$.

2.3.2. Le seston

Le seston peut être défini par l'ensemble du matériel particulaire de taille comprise entre 0,45 μm et 200 μm . Il regroupe une partie organique composée de phytoplancton, de zooplancton, de débris organiques, de bactéries, et d'une partie minérale (Haure et Baud, 1995).

Un volume d'eau connu (1l) a été filtré sur un filtre de Whatman (GF/C) de 47 mm de diamètre, qui a été préalablement pesé. Une solution de formiate d'ammonium a été ensuite déversée sur le filtre afin de retirer le sel. Le filtre a passé vingt quatre heures dans une étuve à 50°C, puis il a été pesé à l'aide d'une balance de type Metler Toledo, précise à 0,1 mg. La fraction organique a été ensuite détruite par passage du filtre dans un four à 450°C pendant une heure. La masse de seston minéral a été déterminée par pesée à la sortie du four. Le seston organique a été enfin calculé par différence entre seston total et fraction minérale. Les résultats ont été exprimés en mg.l^{-1} .

2.3.3. La température

Elle a été relevée au moyen de l'enregistrement continu d'une sonde de température placée dans une clayette du bassin expérimental, à la fréquence d'une valeur toutes les heures. Sa précision était de 0,1°C.

2.4. Le suivi des individus

2.4.1. Mortalité

La mortalité des individus de chaque lot a été déterminée indépendamment, à partir de trois ruches spécialement réservées pour ce suivi. Pour chaque clayette de chaque ruche, le nombre d'individus morts a été déterminé tous les quinze jours.

2.4.2. Biométrie

-SUIVI DE LA CROISSANCE PONDERALE

Le suivi de la croissance individuelle a été observé par la pesée de quarante individus préalablement étiquetés et par population étudiée. Tous les quinze jours, les huîtres marquées ont été pesées au moyen d'une balance de type Monobloc (PB 3002-S), précise à 0,1 gramme.

-SUIVI DES INDIVIDUS TIRES AU HASARD

Tous les quinze jours, trente cinq individus ont été également prélevés au hasard dans chaque ruche. A partir de ces huîtres, le poids total, le poids de coquille, le poids de chair humide et le poids de chair sèche ont été déterminés.

Ainsi, pour le poids de chair humide, la chair a été prélevée sans les débris de coquille, puis déposée sur trois épaisseurs de papier absorbant. Elle a été ensuite recouverte de trois autres épaisseurs, puis pesée dans une cupule préalablement tarée. Après passage des cupules au congélateur pendant vingt quatre heures, les huîtres étaient disposées dans un lyophilisateur (Alpha I-6) pendant quarante huit heures pour mesurer le poids sec. Les résultats sont exprimés en gramme.

-SUIVI DE LA GAMETOGENESE

Un suivi de la gamétogenèse a été également effectué sur ces trente cinq individus prélevés au hasard, selon l'échelle suivante :

- m : absence de gonade
- G : présence de gonade
- G+ : gonade fluente

-LES GAINS DE POIDS JOURNALIERS

Les gains journaliers de poids total, poids de coquille et poids sec des huîtres de chaque lot, ont été calculés à partir des données des individus tirés au hasard. Le calcul de ces gains de poids a été réalisé à partir de la formule suivante :

$$G = (W_t - W_o) / (t - t_0)$$

- G : Gain de poids journalier (g.jour⁻¹)
W_t : Poids final moyen des individus (g)
W_o : Poids initial moyen des individus (g)
t - t₀ : Durée entre deux échantillonnage (jours)

-

LES INDICES

Grâce aux différentes valeurs de biométrie, deux indices de condition ont pu être calculés :

Indice AFNOR $I = (\text{Poids frais} / \text{Poids total}) \times 100$

Cet indice permet de classer les huîtres en plusieurs catégories (L'Officiel de la conchyliculture, 2000) :

- $6,5 < I < 10,5$: huître « fine »
- $I > 10,5$ huître « spéciale »

Indice de Lawrence et Scott (1982) $I_1 = (\text{Poids sec de chair} / (\text{Poids total} - \text{Poids de coquille})) \times 1000$

Cet indice est un indicateur de qualité et de remplissage communément employé.

2.4.3. Analyses biochimiques

Les douze premières huîtres des trente cinq prélevées au hasard ont été conservées afin de satisfaire les analyses biochimiques.

Tous les quinze jours, trois pools de quatre individus, ont été broyés finement jusqu'à l'obtention d'une poudre fine à l'aide d'un broyeur à bille (Fritsch). Les chairs broyées, étaient ensuite conservées dans un dessiccateur. De petites quantités de chair ont été pesées précisément à 0,1 milligramme près, pour permettre le dosage des composés biochimiques suivants :

-PROTEINES

Les protéines ont été extraites dans de la soude normale au moins douze heures. Le dosage a été effectué selon la méthode de Lowry *et al* (1951) (Annexe 2). Cette méthode dose les protéines solubles mais ne prend en compte qu'une partie des protéines de structure. Les résultats ont été exprimés en mg.l^{-1} d'équivalent d'albumine de bœuf.

-LIPIDES

L'extraction des lipides a été réalisée selon la méthode de Bligh et Dyer (1959) (Annexe 3) avec un mélange de chloroforme et méthanol. Le dosage a été effectué d'après le protocole défini par Marsh et Weinstein (1966). Les résultats ont été exprimés en mg.l^{-1} d'équivalent d'acide tripalmitique.

-SUCRES TOTAUX ET GLYCOGENE

Après délipidation de la chair selon la technique de Bligh et Dyer (1959) (Annexe 4), les sucres ont été extraits dans l'acide trichloroacétique (T.C.A) à 15%. Le dosage a été réalisé directement sur 1 ml de solution pour l'évaluation des sucres totaux, mais seulement après précipitation du glycogène avec de l'éthanol absolu pour les sucres de réserves. Les dosages ont été analysés selon la méthode de Dubois *et al.* (1956) et les résultats ont été exprimés en mg.l^{-1} d'équivalent de glucose.

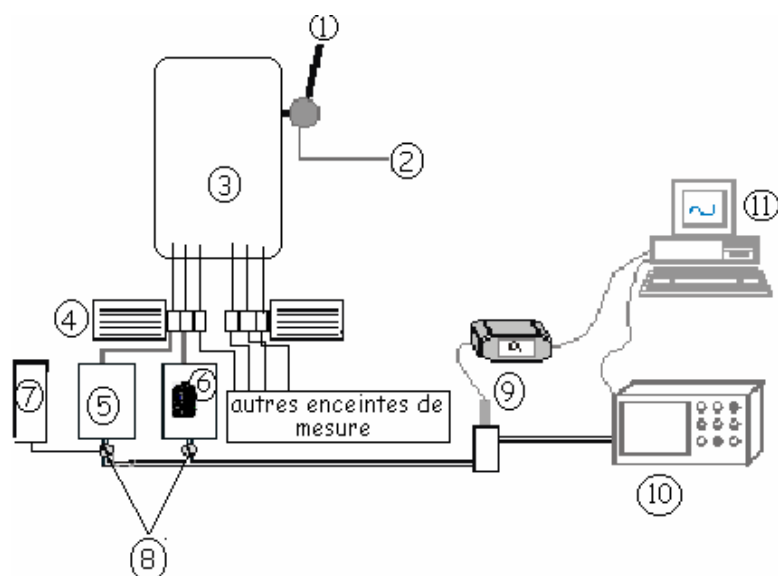
2.4.4. Ecophysiologie

L'étude écophysiologique a été menée au cours du mois de mai 2002. Pour chacun des lots, quarante huîtres ont été prélevées au hasard puis étiquetées. Ces dernières ont été mis à jeûner pendant vingt quatre heures avant l'expérience dans un bac d'eau de forage traitée indemne de nourriture.

-APPAREIL ECOPHYSIOLOGIQUE

Le dispositif écophysiologique (Fig. 5) était constitué de cinq enceintes de mesures mesurant l'activité de l'animal et d'une chambre témoin vide pour tenir compte de la décantation des matières en suspension.

Chaque enceinte était alimentée par un mélange d'eau de forage et de phytoplancton à raison de huit litres par heure. Ce débit a été vérifié trois fois pendant l'expérimentation. Une concentration d'algues, conforme au milieu d'élevage, a été maintenue entre 4 et 4,5 mg.l⁻¹ de matière organique particulaire.



1 eau de forage traitée ; 2 phytoplancton ; 3 bac de mélange ; 4 pompe péristaltique de régulation de débits ; 5 enceinte témoin ; 6 enceinte de mesure ; 7 automate d'ouverture des électrovannes ; 8 électrovanne ; 9 sonde oxygène et oxymètre ; 10 fluorimètre ; 11 ordinateur d'acquisition des données

Figure 5 : Schéma du banc écophysologique

Chaque unité de mesure était équipée d'une électrovanne (deux voies) pilotée par un automate . Lorsque l'électrovanne d'une chambre de mesure (Fig. 6) était ouverte, l'eau de sortie était analysée pendant deux minutes par un oxymètre (oxymètre WTW) pour déterminer la consommation d'oxygène, puis par un fluorimètre (Turner 112) pour apprécier la filtration de l'huître. Pendant ce temps, les autres cellules s'écoulaient sur un circuit d'évacuation. A l'issue des deux minutes, le cycle était terminé et reprenait sur une nouvelle chambre de mesure.



Figure 6 : Photographie de la disposition des enceintes du banc écophysologique

Ainsi, l'activité de l'animal a pu être mesurée toutes les 12 minutes, sur une durée totale d'expérimentation de trois heures, avec un enregistrement simultané de la filtration et de la consommation d'oxygène, au moyen d'une centrale d'acquisition des données.

L'expérience se déroulait à l'obscurité, pour éviter toutes perturbations extérieures. De même, les biodépôts (fecès et pseudofecès) ont été récupérés à la fin de la manipulation pour ne pas perturber l'huître. L'enceinte surélevée et cloisonnée a permis de récupérer indépendamment les biodépôts, car l'huître n'émet pas ses pseudofecès et ses fecès du même côté, du fait de la disposition opposée de l'anus et des branchies (Fig. 7). Les biodépôts ont été ensuite filtrés et pesés après passage à l'étuve (50°C) pendant vingt quatre heures, sur filtre de Whatman GF/C (47 mm de diamètre). Après les avoir cramés, les filtres ont été pesés pour déterminer la part de la matière organique.

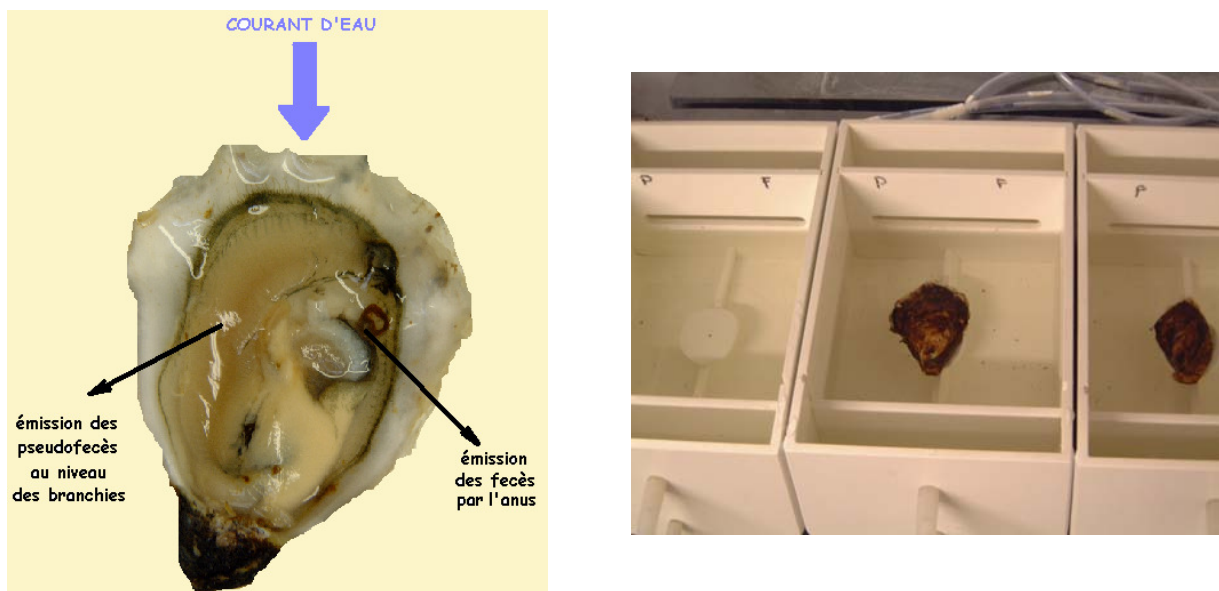


Figure 7 : Photographie et schéma de la disposition d'un individu dans une enceinte de mesure

Au cours des trois heures d'expérimentation, trois prélèvements d'eau discrets ont été réalisés à la sortie du témoin. Ceux ci ont permis de déterminer la matière organique particulaire (MOP) du milieu après filtration sur filtre Whatman GF/C, de la même manière que pour les biodépôts.

-LES MESURES ECOPHYSIOLOGIQUES

L'étude écophysio logique a été réalisée pour dresser le bilan énergétique global ou scope for growth (SFG) de chacun des animaux afin de comparer les trois lots étudiés. Le SFG correspond à la différence entre l'énergie apportée par la nourriture et la perte d'énergie liée aux différentes fonctions de l'huître.

Le SFG a pu être déterminé à partir des formules correspondant aux mesures rapportées ; la consommation d'oxygène, la filtration, l'ingestion et l'absorption.

$$\text{Consommation d'oxygène (R)} \text{ (mg.h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}) = (\text{Eoxy} - \text{Soxy}) \times \text{DW}^d$$

Eoxy : valeur d'oxygène moyennée sur trois heures en sortie du témoin (mg.l⁻¹)

Soxy : valeur d'oxygène moyennée sur trois heures en sortie d'enceinte de mesure (mg.l⁻¹)

D : débit d'eau (l.h⁻¹)

W : poids sec de l'animal (g)

d : coefficient d'allométrie relatif à la respiration (d = 0,8) (Bougrier *et al.*, 1995)

La consommation d'oxygène correspond à la quantité d'oxygène utilisée par individu, par heure et ramenée à un gramme de poids sec.

$$\text{Filtration (CR)} (l.h^{-1}.g^{-1}) = ((E-S)/E) \times DW^d$$

E : valeur de fluorescence en sortie du témoin (sans unité)

S : valeur de fluorescence en sortie d'enceinte (sans unité)

D : débit d'eau ($l.h^{-1}$)

W : poids sec de l'animal (g)

d : coefficient d'allométrie relatif à la filtration ($d = 0,44$) (Bougrier *et al.*, 1995)

La filtration est le volume d'eau théoriquement épuré à 100% par l'huître en une heure et ramenée à l'activité standard d'un animal de 1 gramme de poids sec.

Les fonctions de filtration et de consommation d'oxygène ont été enregistrées et moyennées sur la durée totale de l'expérimentation (trois heures), en ne tenant compte que des valeurs où l'animal était actif (valeurs supérieures à 0). A l'issue de chaque cycle expérimental, la chair des huîtres a été lyophilisée pendant quarante huit heures, puis pesée à 0,1 gramme près.

La filtration et la consommation d'oxygène sont exprimées en activité standard pour un animal de un gramme de poids sec. Il existe une relation entre les fonctions physiologiques étudiées et le poids sec (Bayne and Newell, 1983).

Cette relation est quasi linéaire pour la consommation d'oxygène ; le coefficient d'allométrie a été défini à 0,8 chez *C.gigas* (Bougrier *et al.*, 1995) alors qu'elle est multiplicative pour la filtration avec un coefficient d'allométrie de 0,44 chez *C.gigas* (Bougrier *et al.*, 1995). Les coefficients d'allométrie sont spécifiques et ont été déterminés pour différentes espèces de bivalves marins. La relation peut s'écrire :

$$Y_s = Y_e / W^d$$

Y_s : la fonction physiologique standard

Y_e : la fonction physiologique mesurée

W : le poids sec de l'animal

d : le coefficient d'allométrie relatif à la fonction considérée

$$\text{Consommation organique (Cmop)} (mg.h^{-1}.g^{-1}) = CR \times MOP$$

CR : filtration ($l.h^{-1}.g^{-1}$)

MOP : matière organique particulaire de l'eau prélevée à la sortie du bac témoin ($mg.l^{-1}$)

La consommation organique représente la quantité de matière organique retenue par l'huître.

$$\text{Ingestion organique (Imop)} (mg.h^{-1}.g^{-1}) = Cmop - Pmop$$

Cmop : consommation organique ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)

Pmop : pseudofécès organique ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)

L'ingestion organique correspond à la quantité de matière organique qui est avalée par l'individu.

$$\text{Absorption organique (Amop)} (mg.h^{-1}.g^{-1}) = Imop - Fmop$$

Imop : ingestion organique ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)

Fmop : fécès organique ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)

L'absorption organique caractérise l'énergie retenue par l'animal et utilisée pour la croissance.

-LE SCOPE FOR GROWTH

Le scope for growth (SFG) a été calculé pour déterminer le budget énergétique net dont peut disposer l'animal pour réaliser sa croissance somatique, gonadique et de la coquille (Fig. 8). Dans cette étude, l'excrétion azotée n'a pas été prise en compte.

Les données écophysiologicals ont été converties en énergie pour définir le SFG de chaque animal. Les facteurs adoptés sont de 20,3 joules pour 1 mg de MOP (Bayne *et al.*, 1987) et 14.1 joules pour 1 mg d'O₂ (Gnaiger, 1983). La formule du SFG peut ainsi s'écrire :

$$\text{Scope for growth (SFG)} \text{ (j.h}^{-1}\text{.g}^{-1}\text{)} = A_{\text{mop}} - R$$

A_{mop} : absorption organique (j.h⁻¹.g⁻¹)

R : consommation d'oxygène (j.h⁻¹.g⁻¹)

Les paramètres décrits précédemment ont été estimés sur les périodes actives de l'animal, sans tenir compte des valeurs nulles de filtration et consommation d'oxygène qui auraient pu être rencontrées au cours de l'expérimentation.

De nouveaux paramètres ont pu être développés pour estimer le temps d'activité de l'huître par rapport au temps total d'enregistrement. Ainsi, le temps d'activité respiratoire (RTA) et le temps d'activité de filtration de l'animal (FTA) ont été définis comme la proportion du temps où l'animal a été actif, divisé par le temps total d'enregistrement (trois heures).

Ces données ont permis de recalculer, un SFG corrigé (SFGc), pondéré par le temps d'activité de respiration et de filtration (Bougrier et al, 1998), comme suit :

$$\text{Scope for growth corrigé (SFGc)} = \text{FTA} \times A - \text{RTA} \times R$$

FTA : proportion du temps d'activité de filtration par rapport au temps total de l'expérience

RTA : proportion du temps d'activité de respiration par rapport au temps total de l'expérience

A : absorption (j.h⁻¹.g⁻¹)

R : consommation d'oxygène (j.h⁻¹.g⁻¹)

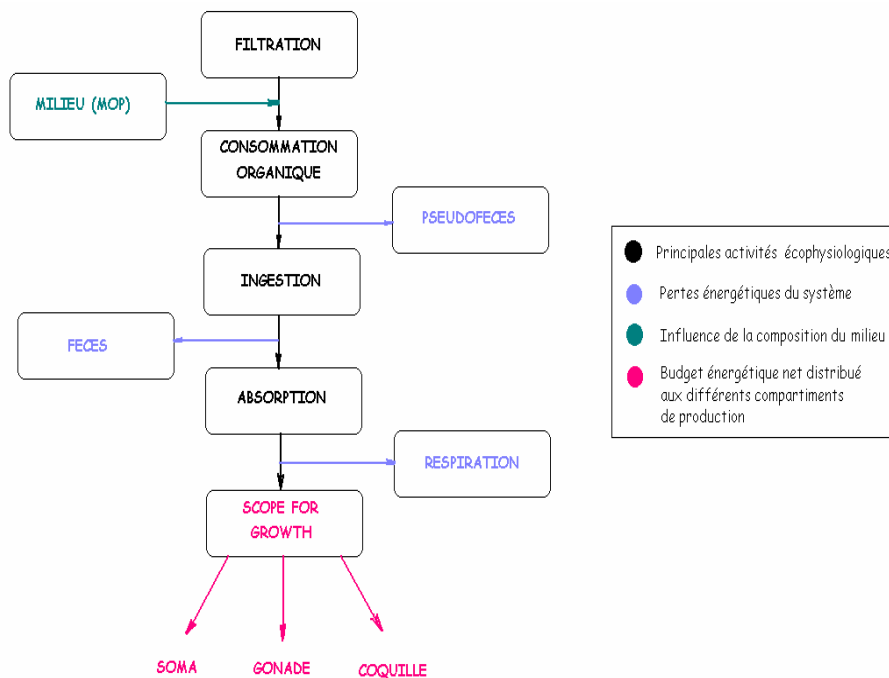


Figure 8 : Représentation schématique des différentes fonctions écophysiologicals et du bilan énergétique

2.4.5. Analyse d'image

Dans un premier temps, toutes les données écophysiologiques ont été ramenées à un gramme de poids sec, comme il l'a été précisé précédemment. Cependant les caractéristiques biologiques et anatomiques des trois lots ; individus diploïdes, CB et Tri, sont différentes.

En effet, la gonade chez l'huître creuse diploïde peut occuper 55% du poids sec total (Allen *et al.*, 1986), alors que les individus triploïdes ont un développement gonadique réduit ou absent. Or le scope for growth permet de calculer l'énergie nette disponible pour la croissance somatique, la croissance de la coquille et pour la reproduction (Small and Widdows, 1994). Ainsi, pour éviter tous biais liés au poids de la gonade au niveau des données écophysiologiques, les mesures ont été standardisées à un cm² de branchies.

L'appareil branchial est un organe en liaison directe avec les différentes activités physiologiques de l'huître qui intervient dans les processus de respiration et de filtration chez ces individus.

-LE MODE OPERATOIRE

L'analyse d'image a permis de déterminer la superficie branchiale de chaque individu ayant été étudié en écophysiologie.

Avant d'être lyophilisées, toutes les huîtres de chaque lot ont été placées, pendant une nuit, dans un bac avec un bullage, contenant de l'eau de forage traitée avec du colorant (rouge neutre). Cette opération a permis de colorer les branchies, pour faciliter l'analyse d'image.

Puis, les huîtres ont été endormies dans une solution de chlorure de magnésium pour que les valves restent entrouvertes et facilitent ainsi, la section du muscle aducteur. Chaque huître est ensuite photographiée avec un appareil numérique et la photo est traitée directement sur un logiciel de traitement d'image (Imac vision builder, version 6, National Instrument).

-LE TRAITEMENT DES IMAGES ET LE CALCUL DE LA SURFACE DES BRANCHIES



L'exemple étudié dans ce cas précis, correspond à une huître triploïde issue du croisement di/tétra, numérotée par la marque ; T16. De l'eau de forage a été préalablement déversée dans la coquille afin d'étaler les branchies (Fig. 9).

Le quadrillage (bas de la photo) est un repère d'un cm² situé au même niveau que les branchies pour en déterminer la surface par proportionnalité.

Figure 9 : Photographie d'une huître colorée au rouge neutre

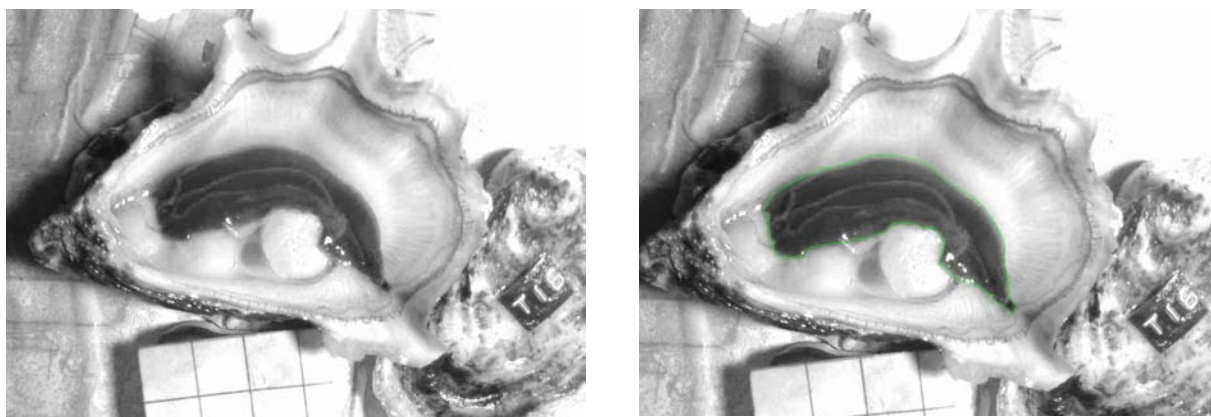


Figure 10 : Photographie décomposée en plusieurs niveaux de gris différents

Les photos étaient constituées à l'origine (Fig. 9) de trois composantes de couleur dont le rouge, le vert et le bleu. Au moyen du logiciel, la composante rouge a été retirée pour obtenir une image avec différents niveaux de gris (Fig. 10).

Sur la figure 10 image de droite, le contour de l'objet étudié (en vert) a été délimité manuellement à l'aide de la souris de l'ordinateur.



Figure 11 : Isolement de la surface des branchies

Le contour des branchies a été ensuite extrait de l'image, en colorant en bleu tout ce qui ne faisait pas parti de l'objet délimité (Fig. 11).

La dernière étape du traitement (image de droite) a consisté à binéariser l'image afin d'extraire l'objet désiré (les branchies).

Une fois cette dernière étape effectuée, le nombre de pixels de la surface du carré de 1 cm de côté (Fig. 11) a été calculé par le logiciel. De la même manière le nombre de pixels composant l'objet délimité a été déterminé par l'ordinateur. La surface des branchies a pu alors être calculée par proportionnalité.

2.4.6. Analyses statistiques

Tous les traitements statistiques des résultats, dont les tests de normalité, ont été réalisés par analyse de variance à l'aide du logiciel SigmatStat, version 3.2. Dans les cas où la normalité n'a pas été respectée, l'analyse de variance a été réalisée suivant le test de Kruskal-Wallis (Sokal and Rohlf, 1995).

Les comparaisons multiples par paires ont été testées par analyse de variance suivant la procédure Student-Newman-Keuls (Einot and Gabriel, 1975).

3. RESULTATS

3.1. Le milieu

3.1.1. Le phytoplancton

Le phytoplancton a été suivi par le dosage de la chlorophylle a à l'entrée du bassin expérimental.

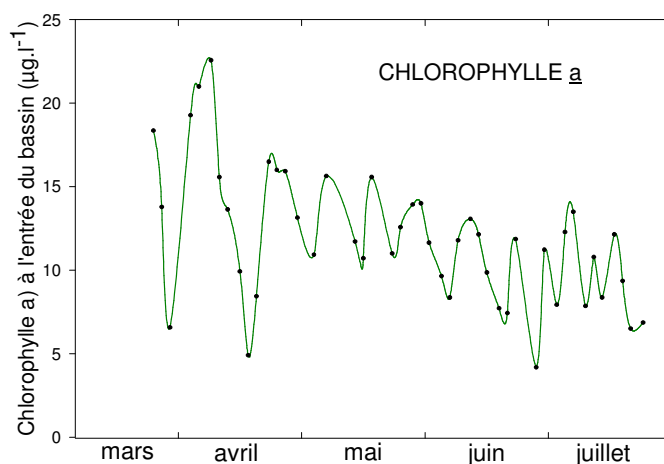


Figure 12 : Evolution de la chlorophylle à l'entrée du bassin

La concentration en chlorophylle a a varié tout au long de l'étude de 4,17 à 22,55 µg.l⁻¹. La moyenne générale s'élève à $11,86 \pm 1,16$ µg.l⁻¹. De mars à juillet, la chlorophylle a semble avoir diminué de manière générale (Fig. 12).

3.1.2. Le seston

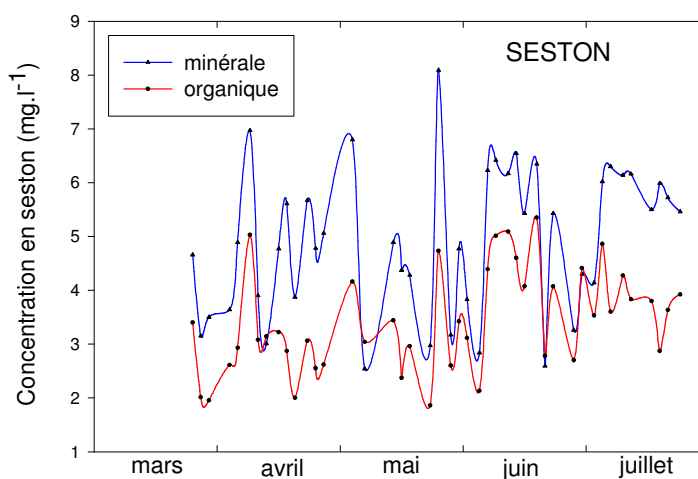


Figure 13 : Evolution du seston minéral et organique à l'entrée du bassin

Le seston minéral et organique ont également été suivis à l'entrée du bassin expérimental (Fig.13) Au cours de l'expérimentation, le seston minéral était en concentration plus importante que le seston organique à l'entrée du bassin. En effet, la concentration moyenne du seston minérale était de $4,91 \pm 0,40 \text{ mg.l}^{-1}$, alors que celle du seston organique était de $3,43 \pm 0,28 \text{ mg.l}^{-1}$.

3.1.3. La température

Le graphique de la figure 14, reprend la moyenne des valeurs de température enregistrées par le thermo-bouton sur une journée.

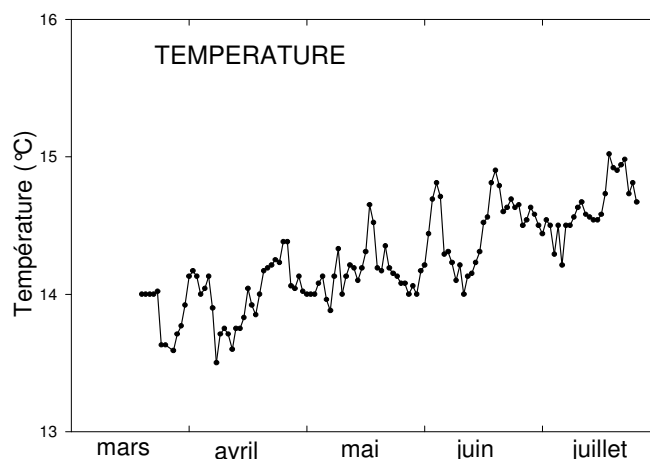


Figure 14 : Evolution de la température au cours de l'élevage expérimental

La température moyenne dans le bassin expérimental (Fig. 16) était de $14,3 \pm 0,1 \text{ °C}$. La température maximum de 15 °C a été observée mi-juillet et le minimum de $13,5 \text{ °C}$ a été relevée début avril. Le plus grand écart de température observé sur l'ensemble de l'étude correspond ainsi à $1,5 \text{ °C}$.

3.2. Les individus

3.2.1. Mortalité

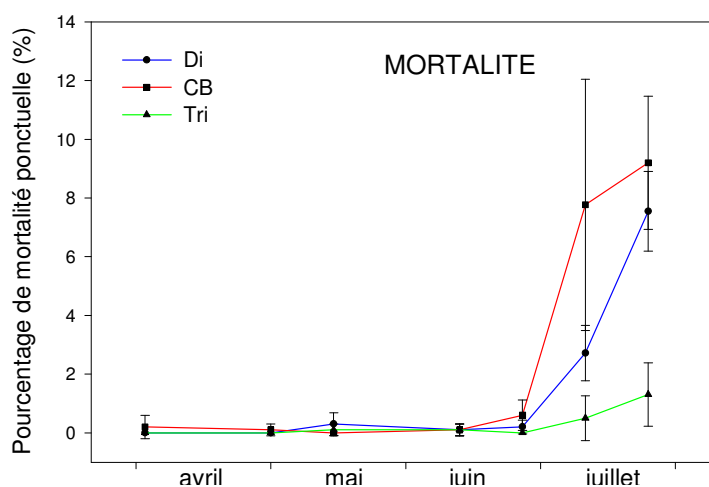


Figure 15 : Evolution des mortalités des trois populations

La figure 15 représente l'évolution de la mortalité ponctuelle pour chacun des lots. L'intervalle de confiance (au seuil de 5%) entre les quatre clayettes est représenté par des barres verticales sur le graphique.

D'avril à fin juin, les mortalités étaient déjà inférieures à 1 %. Un pic de mortalité est apparu à la fin juin, mais dans des proportions différentes suivant les lots. A l'issue de cette date, les mortalités ont augmenté rapidement chez les huîtres CB et Di et plus faiblement pour les Tri.

Les résultats des mortalités fin juillet (Fig. 15), témoignent de valeurs plus élevées pour les huîtres CB et Di que pour les Tri avec des valeurs respectives de 9,2, 7,55 et 1,31 %. L'analyse statistique de type ANOVA (Tab. 1) réalisée sur ces valeurs de mortalité ponctuelle a permis de discriminer le lot Tri par rapport au lot Di et CB.

Tableau 1 : Pourcentage moyen de mortalités pour les trois lots, à la fin de l'étude

Date	Populations	n	Moyenne	Ecart type	P	S.N.K.
Fin juillet 2002	Di	4	7,6	1,4	< 0,001 ***	Tri : A
	CB	4	9,2	2,3		CB : B
	Tri	4	1,3	1,1		Di : B

n = nombre de clayettes ; P = probabilité (***) = très hautement significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

3.2.2. Biométrie

-Croissance pondérale des individus étiquetés

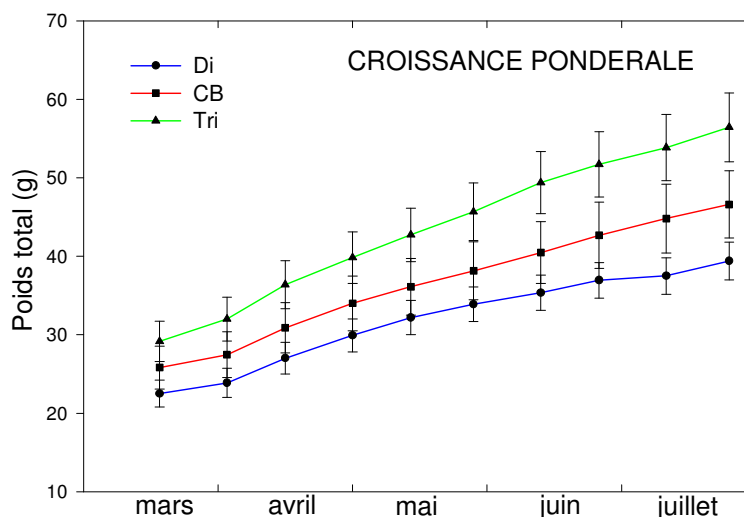


Figure 16: Evolution de la croissance pondérale des huîtres numérotées

Au début de l'étude (Fig. 16), les poids totaux moyens des huîtres étiquetées étaient pour les populations Di, CB et Tri respectivement de $22,5 \pm 1,71$ g, $25,8 \pm 2,72$ g et $29,2 \pm 2,58$ g. A la fin de l'étude, les poids totaux moyens de ces mêmes lots étaient respectivement de $39,4 \pm 2,4$ g, $46,6 \pm 4,27$ g et $56,4 \pm 4,4$ g.

Ainsi, au cours de l'étude, les individus étiquetés Tri ont vu leur poids total augmenter de 27,3 g, alors que les individus Di et CB ont augmenté respectivement de 16,9 g et 20,8 g. Ces différences de gain de poids ont été soumises à une analyse de variance qui a permis de différencier les trois populations en trois groupes distincts (Tab. 2).

Tableau 2 : Gain de poids total des individus numérotés

Paramètre	Populations	n	Moyenne	Ecart type	P	S.N.K.
Gain de poids (g)	Di	39	16,9	4,6	< 0,001	Tri : A
	CB	36	20,8	7,5		CB : B
	Tri	36	27,3	8,1		***

n = nombre d'individus ; P = probabilité (*** = très hautement significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

-Evolution pondérale des individus tirés au hasard

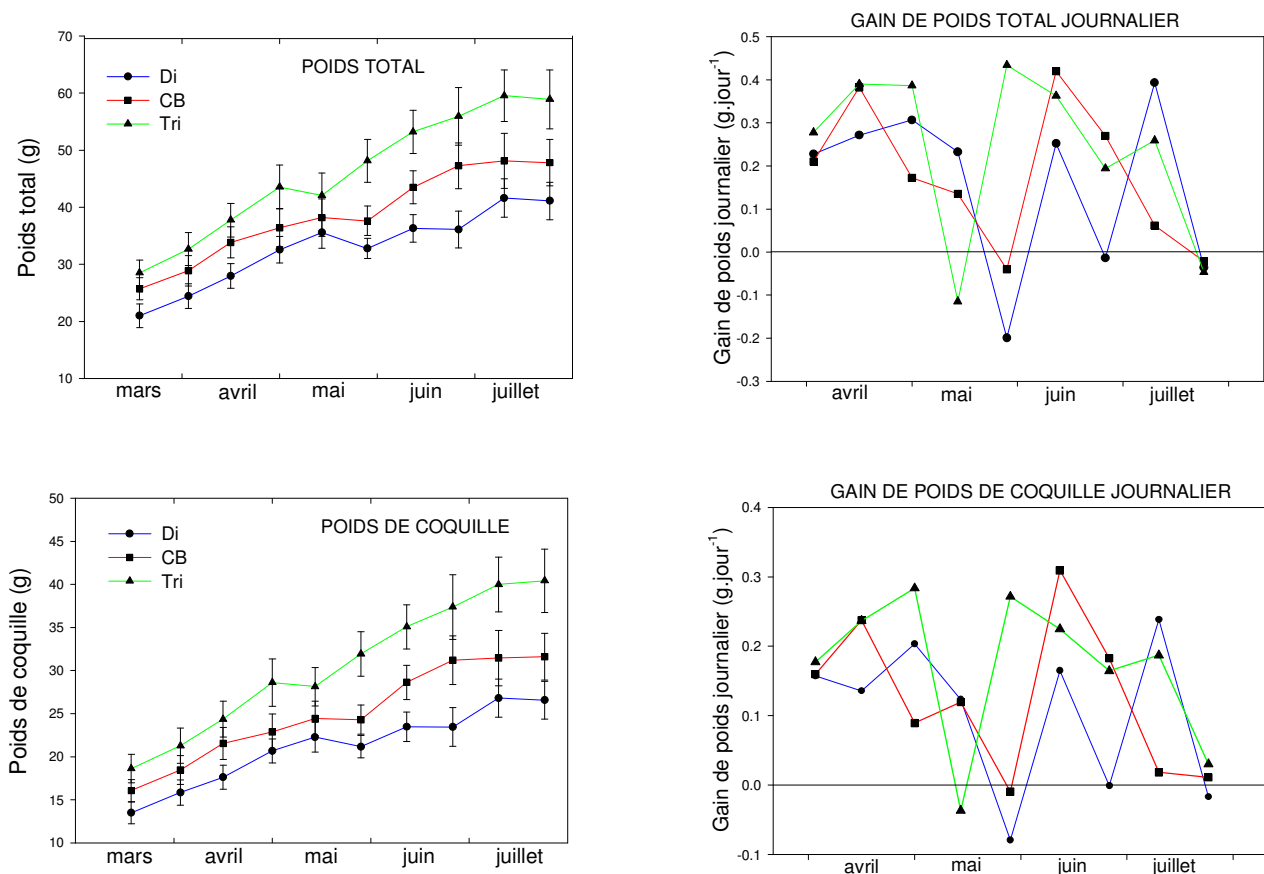


Figure 17 : Evolution et gain de poids total et de la coquille des individus tirés au hasard

L'examen des courbes de croissance du poids total et de la coquille des trois populations, ont mis en évidence deux phases distinctes de la croissance avec une augmentation régulière de mars à

mai, suivi d'une diminution de la pente (Fig. 17). Les courbes montrent des cinétiques de croissance différentes selon les populations étudiées.

Au cours de l'expérimentation, les huîtres Di, CB et Tri ont vu leur poids total augmenter respectivement de 20,1, 22,1 et 30,4 g. Les huîtres Tri ont présenté également des performances de croissance de coquille plus élevées (augmentation de 21,8 g) que les Di et CB (augmentation respective de 13,1 g et 15,5 g).

Les trois lots ont présenté une évolution irrégulière du gain journalier du poids total et du poids de la coquille avec une succession de phases d'accroissement et de phases de ralentissement de la croissance. A partir du mois de mai, les phases de ralentissement de la croissance sont plus importantes, notamment pour les huîtres du lot Di.

Le gain de poids moyen des huîtres Tri semble avoir été supérieur à celui des lots Di et CB pendant l'expérimentation. Les individus Tri ont pris $0,24 \pm 0,2$ g.jour⁻¹ de poids total, alors que les lots Di et CB ont pris respectivement $0,16 \pm 0,2$ g.jour⁻¹ et $0,18 \pm 0,16$ g.jour⁻¹. De même, les huîtres Tri ont augmenté de $0,17 \pm 0,11$ g.jour⁻¹ du poids de la coquille et les huîtres Di et CB respectivement de $0,1 \pm 0,11$ g.jour⁻¹ et $0,12 \pm 0,11$ g.jour⁻¹.

De mars à fin avril, les trois lots ont suivi la même cinétique de croissance au niveau du poids sec (Fig. 18a). Cependant, pour les huîtres Di, un pic est apparu au mois de mai. Du 30 avril au 13 mai, les individus du lot Di ont vu leur poids sec augmenter de $0,02$ g.jour⁻¹. Cette période de fort accroissement a été suivie d'une période d'amaigrissement importante, car les individus Di ont présenté une diminution du poids sec de $0,02$ g.jour⁻¹ entre le 13 et le 25 mai 2002.

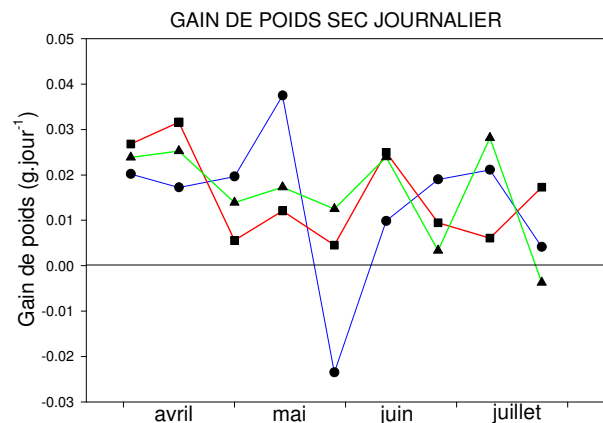


Figure 18 : Evolution du poids sec (a) et gain de poids sec journalier (b) des individus tirés au hasard

Au début de l'étude, les trois populations Di, CB et Tri présentaient des moyennes de poids secs respectives de $0,38 \pm 0,19$ g, $0,41 \pm 0,16$ g et $0,43 \pm 0,18$ g. A cette date, les analyses statistiques n'ont pas pu dissocier les trois lots (Tab 3). A la fin juillet, ils présentaient des moyennes respectives de $2,11 \pm 0,59$ g, $2,33 \pm 0,8$ g et $2,44 \pm 0,8$ g qui n'ont pas pu être différenciées significativement (Tab. 4).

Tableau 3 : Poids sec moyen des 35 animaux prélevés aléatoirement par population au début et à la fin de l'étude

Date	Populations	n	Moyenne	Ecart type	P	S.N.K.
Début mars 2002	Di	35	0,38	0,19	0,5	-
	CB	35	0,41	0,16	N.S.	
	Tri	35	0,43	0,18		
Fin juillet 2002	Di	35	2,11	0,59	0,17	-
	CB	35	2,33	0,80	N.S.	
	Tri	35	2,44	0,80		

n = nombre d'individus ; P = probabilité (N.S. = non significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

-Suivi de la gamétogenèse, maturité

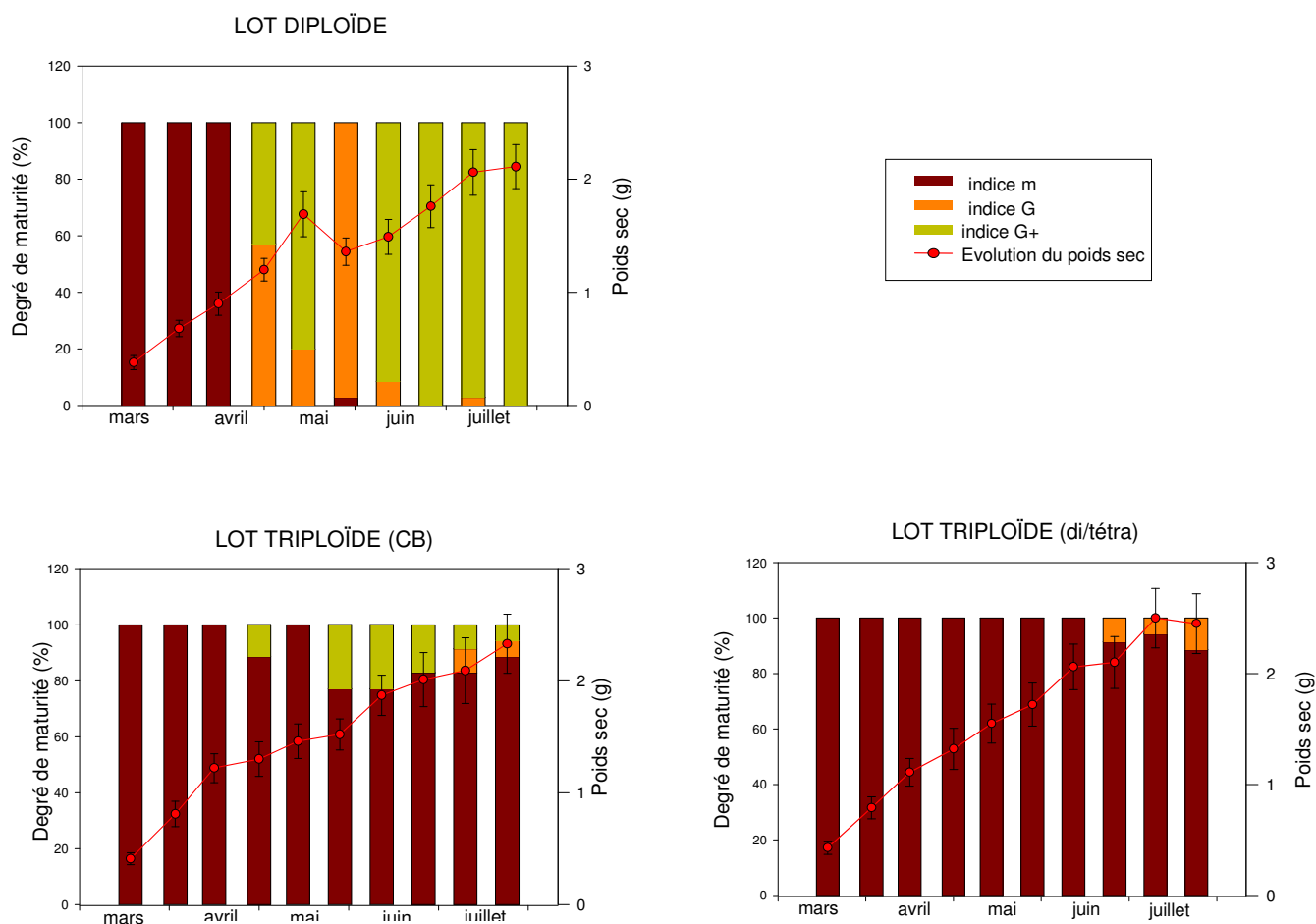


Figure 19 : Evolution de la maturation gonadique et du poids de chair sèche des trois populations étudiées

L'évolution des indices de maturation de la gonade et des poids de chair sèche des huîtres des trois populations est représentée sur les figures 19.

Les indices de maturité du lot Di, ont suivi l'évolution du poids sec. Début mai, lorsque la valeur du poids sec était la plus élevée, le degré de maturité indiquait une réplétion maximale de la gonade (80 % G+, 20 % G). Après la phase d'amaigrissement des huîtres, le taux de maturation a diminué le 25 mai ; il est passé à 97 % de G et 3 % de m. De juin à juillet, la croissance a repris et le taux de maturation témoigne en règle générale d'une réplétion maximale de la gonade.

Pour les deux autres populations, l'absence de gonade a été observé du mois de mars au mois de mai. De fin mai jusqu'à la fin de l'étude, 30 % des huîtres CB ont développé leur gonade (indices G et G+). Au mois de juillet, 8 % des individus Tri ont présenté un développement gonadique (indice G).

-Les indices de condition

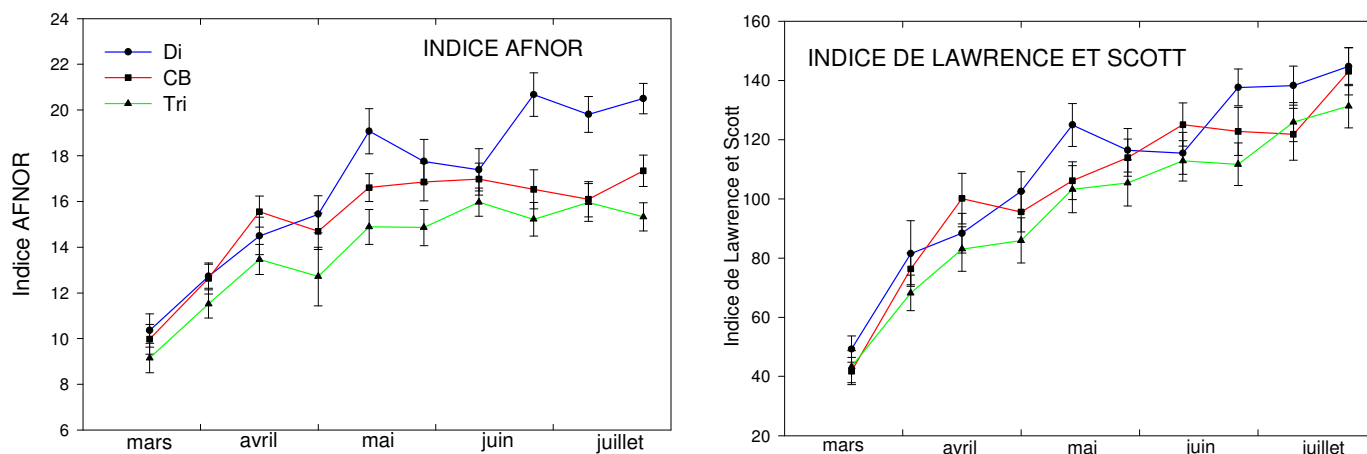


Figure 20 : Evolution des indices de condition au cours de l'expérimentation

L'évolution des indices AFNOR et Lawrence et Scott, au cours de l'expérimentation est représentée sur les figures 20. Tout au long de l'étude, les deux indices ont augmenté pour les trois populations. Pendant l'étude, la moyenne de l'indice AFNOR, a été pour les huître Di, CB et Tri respectivement de $16,8 \pm 3,5$, $15,3 \pm 2,3$ et $13,9 \pm 2,2$. Pour l'indice de Lawrence et Scott, les moyennes se sont élevées respectivement à $109,9 \pm 29,9$, $104,7 \pm 28,8$ et $97,1 \pm 27,1$.

3.2.3. Analyses biochimiques

-Protéines

Figure 21 : Evolution des protéines de la chair des huîtres

Les protéines de structure de la chair des individus (Fig. 21) des trois lots ont diminué de la même manière du mois de mars jusqu'au mois de mai. Les analyses statistiques réalisées sur le croisement des deux paramètres « famille » x « date » (Tab. 4) n'ont pas permis de différencier les trois lots de début mars à fin mai ($P > 0,05$).

A partir de mai, la concentration en protéines chez les individus Di s'est démarquée et semblent avoir été supérieure à celle des individus CB et Tri. En effet, à la fin juin, alors que la concentration en protéines chez les huîtres Di était de $292,59 \pm 24,69 \text{ mg.g}^{-1}$, celle du lot CB et Tri était respectivement de $231,47 \pm 8,6 \text{ mg.g}^{-1}$ et $215,2 \pm 6,71 \text{ mg.g}^{-1}$. D'après les analyses statistiques, pour les dates du 10 juin et du 24 juin, la population Di a été significativement différente des populations CB et Tri au seuil de 5% (Test de Student-Newman-Keuls).

Tableau 4 : Concentration en protéines de la chair des individus prélevés aléatoirement

Paramètres	Ddl	S.C.E	C.M	Test de Fisher	P	S.N.K
Date	9	228344,4	25371,6	42,8	< 0.01 ***	-
Famille	2	17177,7	8588,9	14,5	< 0,01 ***	Di : A CB : B Tri : B
Famille x Date	18	31702,6	1761,3	2,9	< 0.01 ***	-
Résiduelle	60	35558,4	592,6			
Total	89	312783,2	3514,4			

Ddl = degré de liberté, S.C.E. = somme des carrés des écarts, C.M. = carrés moyens, P = probabilité au seuil de 5 % (***) = très hautement significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

-Lipides

Figure 22 : Evolution des lipides de la chair des huîtres

De mars à début mai, la concentration en lipides de la chair des huîtres a été relativement constante et a suivi la même évolution (Fig. 22). Au mois de mai, les huîtres Di ont vu leur concentration en lipides augmenter puis diminuer, alors que le taux de lipides chez les huîtres CB et Tri est resté inchangé. En effet au mois de mai, la concentration en lipides chez les Di est passée de $114,56 \pm 10,06 \text{ mg.g}^{-1}$ à $167,84 \pm 34,73 \text{ mg.g}^{-1}$ puis à $139,12 \pm 18,48 \text{ mg.g}^{-1}$.

D'après les tests statistiques (Tab. 5), le lot Di s'est différencié par sa concentration en lipides à partir du 13 mai. A la fin mai, les analyses statistiques n'ont pas permis de discriminer les trois lots. En revanche, à partir de mi-juin jusqu'à la fin de l'expérimentation, les trois groupes étaient statistiquement différents. Les analyses statistiques ont montré que sur l'ensemble de l'étude, les huîtres diploïdes (Di) ont présenté des teneurs en lipides significativement plus élevées que les individus CB et Tri (Tab. 6).

Tableau 5 : Concentration en lipides de la chair des individus prélevés aléatoirement

Paramètres	Ddl	S.C.E.	C.M.	Test de Fisher	P	S.N.K.
Date	9	14510,0	1612,2	7,7	< 0,01 ***	-
Famille	2	4724,9	2362,4	11,3	< 0,01 ***	Di : A CB : B Tri : B
Famille x Date	18	12712,2	706,2	3,4	< 0,01 ***	-
Résiduelle	60	12556,4	209,3			
Total	89	44503,5	500,0			

Ddl = degré de liberté, S.C.E. = somme des carrés des écarts, C.M. = carrés moyens, P = probabilité (***) = très hautement significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

-Sucres totaux et glycogène

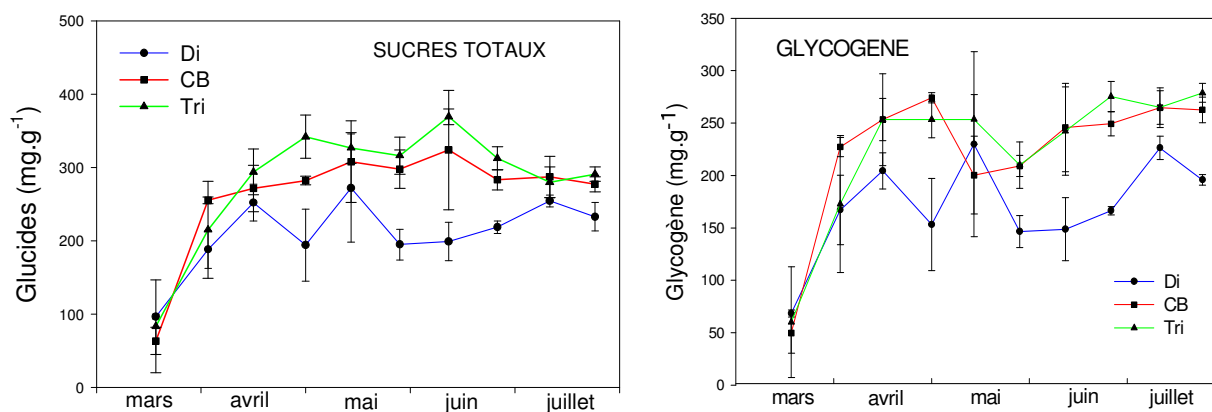


Figure 23 : Evolution des sucres totaux et du glycogène de la chair des huîtres

Les concentrations en sucres totaux et glycogène de la chair des individus des trois lots ont augmenté de la même manière de mars à fin avril (Fig. 23). A partir de cette date, la teneur en glucides et en glycogène chez les individus Di est restée inférieure et a évolué de manière plus irrégulière par rapport à la concentration des individus CB et Tri.

En ce qui concerne les huîtres triploïdes, la concentration en glucides et en glycogène semble avoir été plus importante chez les huîtres Tri.

Tableau 6 : Concentration en sucres totaux des individus prélevés aléatoirement

Paramètres	Ddl	S.C.E.	C.M.	Test de Fisher	P	S.N.K.
Date	9	333464,4	37051,6	39,6	< 0.01 ***	-
Famille	2	86048,0	43024,0	46,0	< 0,01 ***	Tri : A CB : B Di : C
Famille x Date	18	56369,1	3131,6	3,3	< 0.01 ***	-
Résiduelle	60	56099,9	934,9			
Total	89	531981,4	5977,3			

Ddl = degré de liberté, S.C.E. = somme des carrés des écarts, C.M. = carrés moyens, P = probabilité (***) = très hautement significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

D'après le tableau 6 d'analyses statistiques, les huîtres Di, CB et Tri appartiennent à trois groupes différents, au niveau de l'évolution de la concentration en sucres totaux de la chair. Cette différence est apparue fin avril et s'est prolongée jusqu'à la fin de l'étude (résultats statistiques « famille » x « date »).

Tableau 7 : Concentration en glycogène des individus prélevés aléatoirement

Paramètres	Ddl	S.C.E.	C.M.	Test de Fisher	P	SNK
Date	9	254541,3	28282,3	36,4	< 0.01 ***	-
Famille	2	59251,1	29625,6	38,1	< 0,01 ***	Tri : A CB : A Di : B
Famille x Date	18	42125,8	2340,3	3,0	< 0.01 ***	-
Résiduelle	60	46603,5	776,7			
Total	89	402521,8	4522,7			

Ddl = degré de liberté, S.C.E. = somme des carrés des écarts, C.M. = carrés moyens, P = probabilité (***) = très hautement significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

Les analyses statistiques des taux de glycogène ont permis, également, de différencier les trois populations. Le test de Student-Newman-Keuls (S.N.K.) a débouché sur une hiérarchisation des différentes populations étudiées et a conclu significativement par des teneurs en glycogène supérieures chez les individus triploïdes (Tri, CB) par rapport aux diploïdes (Di) (Tab 7). Ces différences sont apparues fin avril et se sont maintenues jusqu'à la fin de l'étude.

3.2.4. Résultats d'écophysiologie

En écophysiologie, les huîtres de chacun des lots, ont été étudiées en milieu constant. En effet, la concentration en matière organique particulaire du milieu écophysiologique était pour les individus Di, CB et Tri respectivement de $4,1 \pm 0,49 \text{ mg.l}^{-1}$, $4,1 \pm 0,49 \text{ mg.l}^{-1}$ et $4,08 \pm 0,47 \text{ mg.l}^{-1}$.
au n en matière organique particulaire a été

Les résultats écophysiologiques ont été standardisés de deux manières, par le poids sec d'une part et par la surface des branchies d'autre part.

- Résultats standardisés par le poids sec

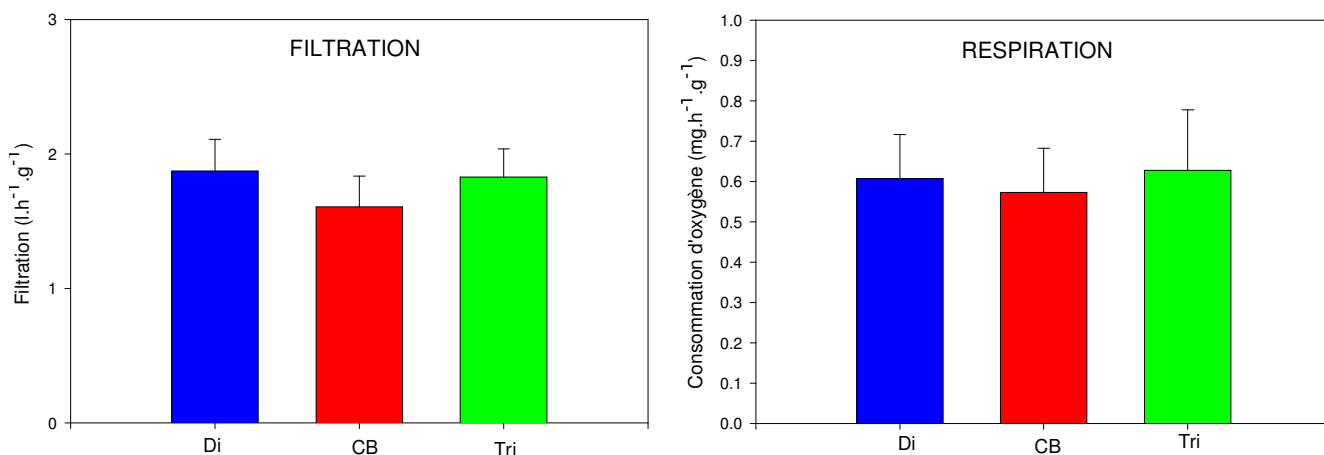


Figure 24 : Moyennes de filtration et de consommation d'oxygène standardisées par le poids sec, des huîtres des trois populations

Les figures 24, présentent les moyennes de filtration et de consommation d'oxygène standardisées à un gramme de poids sec, pour chacun des trois lots. Les moyennes de filtration des individus Di, CB et Tri ont été respectivement de $1,88 \pm 0,76 \text{ l.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$, $1,61 \pm 0,75 \text{ l.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ et $1,83 \pm 0,69 \text{ l.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$. Les moyennes de respiration ont été de $0,61 \pm 0,36 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$, $0,57 \pm 0,36 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ et $0,63 \pm 0,49 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ pour les huîtres Di, CB et Tri respectivement. Les tests statistiques (Tab. 9) n'ont pas permis de différencier les trois populations au niveau de ces deux activités physiologiques.

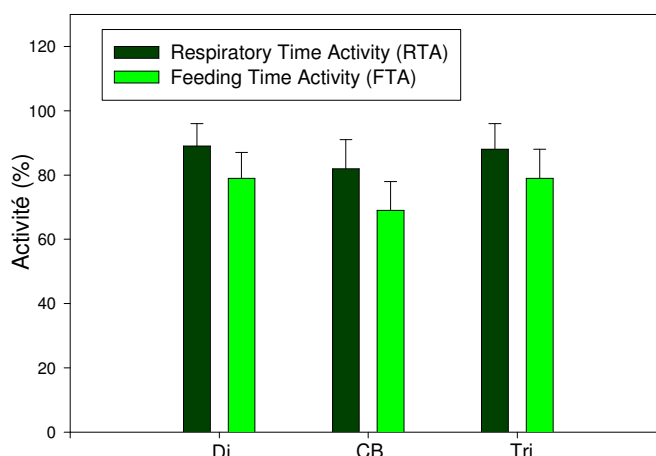


Figure 25 : Temps d'activité consacrés à la filtration et à la consommation d'oxygène des animaux de chaque population, par rapport à la durée de l'expérimentation (3 heures)

Les temps d'activité moyens de chaque population liés à la consommation d'oxygène (RTA) ont été de $82 \pm 9 \%$ pour CB et de $89 \pm 7 \%$ pour Di et $89 \pm 7 \%$ pour tri (Fig. 25). Les temps d'activité moyens de nutrition (FTA) ont été de $80 \pm 8 \%$ pour Di, $69 \pm 9 \%$ pour CB et $79 \pm 9 \%$ pour Tri. L'analyse statistique (Tab. 8) des données de RTA et FTA n'ont pas donné de différence significative entre les populations d'huîtres au seuil de 5 %.

Tableau 8 : Moyennes des paramètres écophysologiques, des huîtres de chaque population, standardisés par rapport à un gramme de poids sec

Paramètres	Population	Moyenne	Ecart type	P	S.N.K
Filtration ($l.h^{-1}.g^{-1}$)	Di	1,88	0,76	0,22	-
	CB	1,61	0,75		
	Tri	1,83	0,69		
Consommation d'oxygène ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)	Di	0,61	0,36	0,83	-
	CB	0,57	0,36		
	Tri	0,63	0,49		
Ingestion ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)	Di	4,72	2,01	0,23	-
	CB	3,91	2,22		
	Tri	4,19	2,51		
Pseudofecès ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)	Di	2,84	1,45	0,17	-
	CB	2,61	1,42		
	Tri	3,29	1,92		
Absorption ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)	Di	3,96	2,05	0,15	-
	CB	3,00	2,07		
	Tri	3,25	2,54		
Fecès ($mg.h^{-1}.g^{-1}$)	Di	0,83	0,49	0,35	-
	CB	0,91	0,55		
	Tri	0,99	0,39		
Scope for growth (SFG) ($j.h^{-1}.g^{-1}$)	Di	70,61	39,81	0,15	-
	CB	52,04	41,41		
	Tri	56,17	50,25		
Feeding time activity (FTA) (%)	Di	89	2,9	0,21	-
	CB	69	2,9		
	Tri	79	2,8		
Respiratory time activity (RTA) (%)	Di	89	2,3	0,34	-
	CB	82	2,9		
	Tri	89	2,6		
Scope for growth corrigé ($j.h^{-1}.g^{-1}$)	Di	59,32	43,42	0,08	-
	CB	38,67	39,01		
	Tri	44,72	41,33		

P = probabilité (N.S. = non significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

Les tests statistiques réalisés sur les activités physiologiques et sur le bilan énergétique net standardisés à un gramme de poids sec (SFG et SFGc) n'ont pas permis de distinguer les trois populations de manière significative (5 %) (Tab. 8).

- Surface de branchies et poids sec

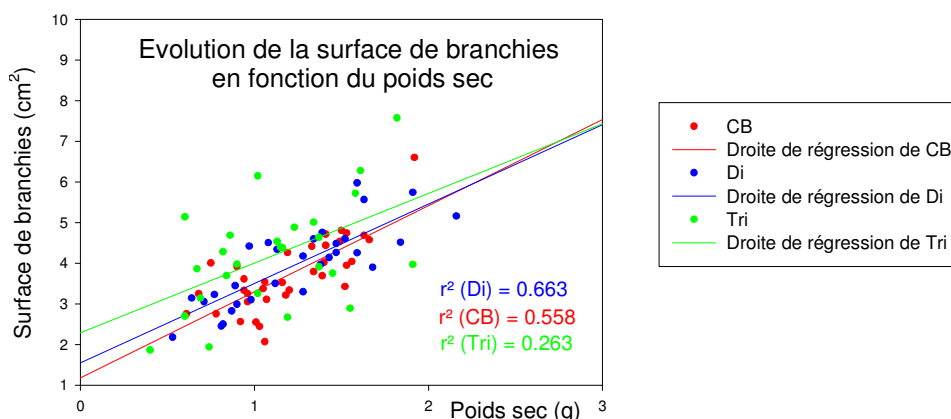


Figure 26 : Evolution de la surface des branchies en fonction du poids sec, des huîtres étudiées en écophysiologie pour les trois populations

La figure 26 représente l'évolution de la surface des branchies en fonction du poids sec. Le lot Di a présenté une corrélation plus élevée entre ces deux paramètres avec un coefficient de corrélation de 0,663. La surface moyenne des branchies des individus Di était de $3,97 \pm 0,98 \text{ cm}^2$ pour un poids sec moyen de $1,24 \pm 0,41 \text{ g}$. Les huîtres CB et Tri ont présenté une surface moyenne de $3,72 \pm 0,88 \text{ cm}^2$ et $4,20 \pm 1,33 \text{ cm}^2$ pour un poids sec moyen respectif de $1,20 \pm 0,31 \text{ g}$ et $1,12 \pm 0,40 \text{ g}$.

Les tests statistiques (Tab. 9) ont montré qu'il existait des différences significatives entre le rapport « surface de branchies / poids sec » des huîtres Tri et des deux autres lots. En revanche, ils n'ont pas permis de démontrer de différences entre le rapport des individus Di et CB.

Tableau 9 : Rapport de la surface des branchies sur le poids sec des huîtres étudiées en écophysiologie

Paramètre	Population	Moyenne	Ecart type	P	S.N.K.
Surface de branchies / Poids sec ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	Di	3,35	0,66	< 0,01	Tri : A
	CB	3,19	0,71		Di : B
	Tri	4,05	1,43		***

P = probabilité (*** = très hautement significatif au seuil de 5 %) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

- Résultats standardisés par la surface branchiale

Les valeurs moyennes de scope for growth corrigé et standardisées à un cm^2 de branchies, étaient de $18,79 \pm 11,35 \text{ j} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$, $12,33 \pm 13,28 \text{ j} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ et $10,84 \pm 10,44 \text{ j} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ pour les lots Di, CB et Tri respectivement (Fig. 27a). Les analyses statistiques de ces moyennes ont permis de montrer que les individus Di avaient un scope for growth corrigé différent et supérieur à celui des huîtres triploïdes (CB et Tri) (Tab. 10). Des différences significatives ont également été démontrées au niveau de la consommation d'oxygène (Tab. 10 et Fig. 27b).

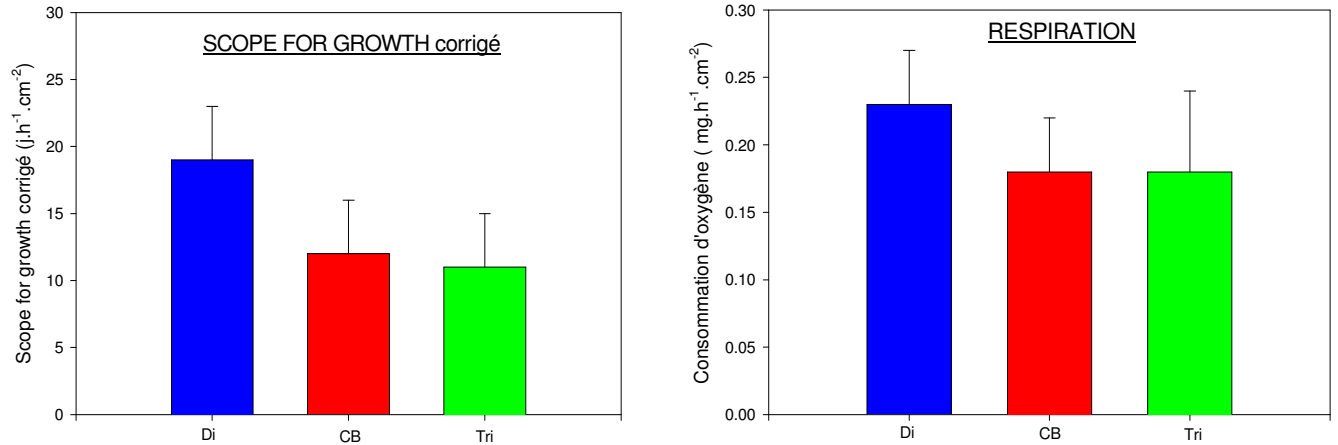


Figure 27 : Moyennes du scope for growth (a) corrigé et de la respiration (b), standardisées par la surface branchiale, des huîtres des trois lots

Tableau 10 : Moyennes des paramètres écophysologiques des huîtres des trois populations, standardisés à 1 cm² de branchies

Paramètres	Population	Moyenne	Ecart type	P	S.N.K.
Filtration (l.h ⁻¹ .cm ⁻²)	Di	0,55	0,25	0,51	-
	CB	0,49	0,27		
	Tri	0,49	0,22		
Consommation d'oxygène (mg.h ⁻¹ .cm ⁻²)	Di	0,23	0,11	0,018	Di : A CB : AB Tri : B
	CB	0,18	0,13		
	Tri	0,18	0,16		
Ingestion (mg.h ⁻¹ .cm ⁻²)	Di	1,40	0,61	0,30	-
	CB	1,23	0,78		
	Tri	1,12	0,71		
Pseudofecès (mg.h ⁻¹ .cm ⁻²)	Di	0,82	0,39	0,77	-
	CB	0,76	0,50		
	Tri	0,86	0,73		
Absorption (mg.h ⁻¹ .cm ⁻²)	Di	1,19	0,57	0,21	-
	CB	0,96	0,70		
	Tri	0,89	0,71		
Fecès (mg.h ⁻¹ .cm ⁻²)	Di	0,24	0,14	0,74	-
	CB	0,27	0,17		
	Tri	0,24	0,13		
Scope for growth (j.h ⁻¹ .cm ⁻²)	Di	20,63	10,91	0,29	-
	CB	16,72	13,72		
	Tri	15,31	14,15		
Scope for growth corrigé (j.h ⁻¹ .cm ⁻²)	Di	18,79	11,35	0,033	Di : A Tri : B CB : B
	CB	12,33	13,28		
	Tri	10,84	10,44		

P = probabilité (N.S. = non significatif, * = significatif au seuil de 5 %,) ; SNK = hiérarchisation selon le test de Student-Newman-Keuls.

4. DISCUSSION

Ce travail a mis en évidence plusieurs comportements biologiques différentiels entre les populations étudiées.

Afin de pouvoir attribuer l'origine des résultats aux seules performances des individus, l'âge et la filiation (demi-frères) des animaux ont été le plus rigoureusement identiques. De plus, et pour les mêmes raisons, la variabilité du milieu d'élevage a été réduite au maximum par l'utilisation d'une eau salée souterraine traitée, indemne de pathogènes et de parasites (*Polydora*) avec une régulation optimisée de l'apport nutritif (*Skeletonema costatum*). Malgré ces précautions, il a été cependant observé une dérive des concentrations chlorophylliennes au cours de l'étude. La fluctuation nutritive peut être due aux aléas météorologiques qui ont conditionné les cinétiques de croissance du phytoplancton. Cependant l'alimentation phytoplanctonique a été caractérisée en moyenne par un équivalent de $11,86 \pm 1,2 \mu\text{g l}^{-1}$ de chlorophylle *a*, qui représente les valeurs atteintes en baie de Bourgneuf en période d'efflorescence printanière (Haure et Baud, 1995). Ainsi, la distribution de nourriture a toujours été suffisante pour assurer les exigences du métabolisme des huîtres. C'est pourquoi, les différences observées, lors de cette étude, ne peuvent donc être attribuées qu'aux seuls potentiels de croissance des animaux.

Les résultats de la croissance du poids total différencient très nettement les trois populations et présentent de meilleurs rendements pour les huîtres triploïdes. Ces observations sont en parfaite concordance avec des études antérieures (Peyre *et al.*, 1999; Davis, 1988b). D'autre part les triploïdes provenant du croisement de géniteurs diploïdes et tétraploïdes présentent des performances de la croissance supérieures à celles des triploïdes obtenues par voie chimique et il n'apparaît pas dans la littérature de résultats auxquels on puisse se référer.

L'analyse des poids secs n'a pas pu différencier les trois populations et ne semble pas constituer un paramètre suffisamment discriminatoire dans de telles conditions d'élevage, comme ont pu le souligner Haure *et al.* (2001). Les indices AFNOR et de Lawrence and Scott (1982), qui reflètent un taux de remplissage de la chair des mollusques dans la cavité palléale, traduisent de bonnes conditions physiologiques de l'animal quel que soit son niveau de ploïdie. La ponte qui a été observée fin mai chez les diploïdes et marquée par la chute des lipides, n'a entraîné qu'une perte de 33% du poids sec. Or, dans le milieu naturel, où la richesse nutritive est moins constante, la reproduction est responsable d'une chute du poids sec comprise entre 50 et 65% après l'émission des gamètes (Allen and Downing, 1986; Deslous-Paoli, 1980). Cette information confirme que les animaux n'ont apparemment pas été en situation de détresse physiologique. L'évolution des teneurs en sucres de la chair des animaux renforce cette hypothèse. Quelque soit leur niveau de ploïdie, les animaux n'ont, en moyenne, jamais présenté de teneurs en glycogène inférieures à 150 mg g^{-1} alors que dans le milieu naturel, il est courant de rencontrer des valeurs inférieures à 50 mg g^{-1} juste après la ponte (Haure et Baud, 1995).

L'utilisation des sucres de réserve pour la croissance gonadique est un phénomène bien connu chez les huîtres (Davis, 1988; Haure et Baud, 1995). L'allocation de la ressource énergétique pour la reproduction représente une part importante du budget total ou scope for growth (SFG) et les modèles déterministes de la croissance considèrent qu'elle est prioritaire sur les fonctions de production somatiques et de la coquille (Barillé *et al.*, 1997). Dans notre étude, les différences de taux de sucres entre les individus diploïdes et triploïdes sont significatives et témoignent du coût énergétique que représente la reproduction chez les huîtres *Crassostrea gigas*. L'effet de la gamétogenèse se traduit également par la diminution de la croissance de la coquille que l'on a pu remarquer, chez les individus diploïdes, à partir de début mai.

Pendant la période de reproduction, des mortalités sont survenues tous les individus dans des proportions différentes suivant les lots. Des analyses pathologiques, réalisées en cours d'étude, n'ont pourtant pas décelé la présence du virus de type herpès. La fragilité des lots pourraient être, dans ce cas, attribuée à l'effort de reproduction. En effet, ces mortalités semblent être liées aux épisodes de réplétion maximale de la gonade. Les huîtres Tri dont les indices de maturation étaient les plus faibles, ont présenté un pourcentage de mortalité significativement inférieur à celui des huîtres CB et Di. Ainsi, les individus Tri, qui n'utilise pas ou très peu d'énergie pour la reproduction, semblerait utiliser l'énergie disponible pour le maintien et la survie (Peyre *et al.*, 1999).

Les résultats d'activité écophysiological ont permis également de différencier les huîtres des trois populations.

Comme le signalent Bougrier *et al.*(1998), la plupart des études réalisées auparavant considéraient que lorsque l'animal ouvrait ses valves, celui-ci consommait de l'oxygène et de la nourriture. Or, il apparaît nettement au niveau des résultats, que l'animal est capable de consommer de l'oxygène sans pour autant prélever de la nourriture dans le milieu. En effet, les résultats observés sur les activités liées à la consommation d'oxygène et de nutrition montrent que pour chaque population, le RTA était supérieur au FTA.

A 14 °C (température moyenne de l'eau de forage traitée), la filtration moyenne standardisée à un gramme de poids sec a été respectivement de $1,88 \pm 0,76 \text{ l.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$, $1,61 \pm 0,75 \text{ l.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ et $1,83 \pm 0,69 \text{ l.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ pour les huîtres Di, CB et Tri. A 12-13 °C, Bougrier *et al.* (1995) déterminent, chez *C. gigas*, un taux de filtration de $3,9 \text{ l.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$. De même, les valeurs moyennes de consommation d'oxygène standardisées à un gramme de poids sec ont varié de $0,57 \pm 0,36 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ (CB) à $0,63 \pm 0,49 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ (Tri), alors que Bougrier *et al.* (1995) déterminent une consommation moyenne de $1,3 \text{ mg.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$. L'écart entre ces résultats peut provenir du protocole expérimental adopté.

Les activités physiologiques standardisées à un gramme de poids sec n'ont pas permis de discriminer les trois populations. De même, le SFG et le SFG corrigé, estimés sur la période active de l'animal et standardisé à un gramme de poids sec n'ont pas montré de différences significatives entre les trois populations. Des résultats similaires ont été obtenus chez les huîtres du genre *Saccostrea commercialis*. En effet, dans une étude de Kesarcodi-Watson *et al.* (2001a), le SFG des individus diploïdes et triploïdes du genre *S. commercialis* n'ont pas présenté de différences significatives. En revanche, il émet l'hypothèse que les huîtres diploïdes et triploïdes pourraient répartir différemment l'énergie du scope for growth pour la croissance de la coquille, du soma et de la gonade.

Toutefois, les mesures écophysiological ont été standardisées à un gramme de poids sec, sans prendre en compte l'influence de la gonade dont le poids n'est pas négligeable en période de réplétion maximale. Allen et Downing (1986) ont démontré que le poids d'une huître pouvait diminuer de 64 % après la ponte et Kesarcodi-Watson *et al.* (2001b) a déterminé que le tissu reproductif pouvait occuper 55 % du poids de l'animal frais. Ainsi, pour pallier l'influence du poids de la gonade sur les résultats écophysiological, l'étude s'est orientée vers une standardisation à partir d'un organe n'intervenant pas dans la reproduction. Les activités physiologiques ont donc été ramenées à 1 cm² de la surface relative des branchies.

Les données physiologiques standardisées par la surface des branchies, ont permis de montrer des différences significatives directement liées à l'activité, car la température (14°C) et la charge en matière organique particulaire ont été semblables pour les trois populations, pendant l'étude écophysiological. Pourtant, les huîtres Di ont présenté une consommation d'oxygène ($0,23 \pm 0,11 \text{ mg.l}^{-1}.\text{cm}^{-2}$) significativement supérieure à celle des individus CB et Tri ($0,18 \pm 0,13 \text{ mg.l}^{-1}.\text{cm}^{-2}$ et $0,18 \pm 0,16 \text{ mg.l}^{-1}.\text{cm}^{-2}$). De plus, le scope for growth corrigé des huîtres Di, standardisé également à 1 cm² de branchies ($18,79 \pm 11,35 \text{ j.h}^{-1}.\text{cm}^{-2}$), a été supérieur significativement à celui des individus CB et Tri ($12,33 \pm 13,28 \text{ j.h}^{-1}.\text{cm}^{-2}$ et $10,84 \pm 10,44 \text{ j.h}^{-1}.\text{cm}^{-2}$). D'après ces résultats, la gamétogenèse chez les huîtres semble être à la fois demandeuse d'énergie et consommatrice d'oxygène.

Pourtant Soletchnik *et al.* (1997), ont observé un déficit énergétique chez l'huître creuse à un stade de maturation avancée. Ce déficit semble être lié à une chute de l'activité d'absorption. Cependant les résultats de Soletchnik ont été standardisés à un gramme de poids sec et ont donc subi l'influence du poids de la gonade.

Toutefois, la standardisation des valeurs écophysiologicalues par la surface des branchies doit être encore validée par d'autres résultats afin de déterminer sa fiabilité. De plus les données ont été standardisées sans prendre en compte le coefficient d'allométrie correspondant. Malgré la connaissance du coefficient d'allométrie relatif à la surface des branchies chez la moule *Mytilus edulis* (Winter, 1978), aucune étude n'a été encore réalisée pour déterminer le coefficient d'allométrie relatif à la surface des branchies de l'huître *C. gigas*.

5. CONCLUSION

L'étude comparative des caractéristiques écophysiologiques et des performances de croissance de l'huître creuse *Crassostrea gigas* diploïde et triploïde a permis de démontrer des différences significatives entre les individus, suivant leur niveau de ploïdie.

En milieu contrôlé, les huîtres triploïdes obtenues par croisement entre tétraploïdes et diploïdes, présentent des performances de croissance et de survie nettement supérieures à celle des huîtres diploïdes et triploïdes induites par la cytochalasine B. Les performances des triploïdes sont principalement liées à leur reproduction réduite. En effet, l'énergie utilisée pour la reproduction chez les huîtres diploïdes semble être disponible pour la croissance et la survie chez les individus triploïdes.

Les résultats écophysiologiques standardisés par le poids sec n'ont pas permis de discriminer les trois lots étudiés. En revanche, le scope for growth corrigé et la consommation d'oxygène standardisés par la surface branchiale, ont été significativement supérieurs chez les individus diploïdes. Ainsi, la reproduction chez l'huître creuse semble être demandeuse d'énergie et d'oxygène. Cependant, la standardisation des valeurs écophysiologiques par la surface des branchies doit être encore validée par d'autres études.

L'utilisation d'huîtres creuses triploïdes obtenues par croisement, semble être nettement appropriée pour améliorer les performances de croissance et de survie de *Crassostrea gigas*, en production ostréicole française.

6. BIBLIOGRAPHIE

- Allen S.K.Jr. and Downing S.L., 1986.** Performance of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg) I. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol. 102, n°2-3, pp. 197-208.
- Barillé L., Héral M., Barillé-Boyer A-L., 1997.** Modélisation de l'écophysiologie de l'huître *Crassostrea gigas* dans un environnement estuarien. *Aquat. Living. Resour.*, n°10, pp. 31-48.
- Baud J.P., 1988.** Utilisation des eaux salées souterraines de la baie de Bourgneuf pour le prégrossissement intensif de mollusques filtreurs. Mémoire pour obtenir le grade de Cadre de Recherche IFREMER, Direction des ressources vivantes, pp. 15-16.
- Baud J.P., 1991.** Utilisation d'eaux salées souterraines en baie de bourgneuf, pour le prégrossissement intensif de mollusques filtreurs en nourricerie. Diplôme de recherche de l'Université de Nantes, p. 80.
- Baud J.P., Palvadeau H., Nourry M., Pénisson C., Haure J., 2000.** Traitement de l'eau salée souterraine pour un meilleur contrôle des élevages des coquillages. Rapport interne IFREMER, L.C.P.L., pp 24.
- Bayne B.L. and Newell R.C., 1983.** Physiological energetics of marine molluscs. In : K.M. Wildburg and A.S.M. Saleudin editors, *The mollusca*, 4. Academic Press london, pp. 407-415.
- Bayne B., Hawkins A.J.S., Navarro E., 1987.** Feeding and digestion by the common mussel *Mytilus edulis* L. (Bivalvia : Mollusca) in mixtures of salt and algal cells at low concentrations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, n°111, pp. 1-2.
- Bergé J.P., 1996.** Optimisation de la production en masse de *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. sur une eau souterraine salée en vue de sa valorisation : caractérisation des lipides et recherche de substances à activité biologique. Thèse de doctorat, Université de Nantes, pp. 16-17.
- Bligh J.G. and Dyer W.F., 1959.** A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, Vol 37, pp. 911-917.
- Bougrier S., Geairon P., Deslous-Paoli J.M., Bachère C., Jonquières G., 1995.** Allometric relationships and effects of temperature on clearance rate and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, n° 134, pp. 143-154.
- Bougrier S., Collet B., Geairon P., Geffard O., Héral M., Deslous-Paoli J.M., 1998.** Respiratory time of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, n°219, pp. 205-216.
- Cox E.S., Smith M.S.R., Nell J.A., Maguire G.B., 1996.** Studies on triploid oysters in Australia. VI. Gonad development in diploid and triploid Sydney rock oysters *Saccostrea commercialis* (Ireland and Roughley). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol. 197, n°1, pp. 101-120.
- Davis J.P., 1988.** Growth rate of sibling diploid and triploid oysters, *Crassostrea gigas*. *J. Shell. Res.*, Vol. 7, n°1, pp. 202.
- Deslous-Paoli J.M., 1980.** Contribution à l'étude d'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg) dans le bassin et les claires de Marennes-Oléron. Thèse de 3^{ème} cycle, Université Aix-Marseille II, 121 p.

Desrosiers R.R, Gerard A., Peignon J.M., Naciri Y., Dufresne L., Morasse J., Ledu C., Phelipot P., Guerrier P., Dube F., 1993. A novel method to produce triploids in bivalve molluscs by the use of 6-dimethylaminopurine. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol. 170, n°1, pp. 29-43.

Downing S.L. and Allen S.K.Jr., 1987. Induced triploidy in the pacific oyster, *Crassostrea gigas* : optimal treatments with cytochalasin B depend on temperature. *Aquaculture*, Vol. 61, pp. 1-15.

Dubois F., Gilles X.A., Hamilton J.K., Rebecs P.A, Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, Vol 28, pp. 350-356.

Einot I. and Gabriel K.R., 1975. A study of the powers of several methods of multiple comparaisons. *J. Amer. Stat. Asso.*, n° 70, 351 p.

Ernande B., Boudry P., Heurtebise S., Haure J., Martin J.L., 2000. Genetic basis of growth, survival and their plasticity in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*, E.A.S., Vol 28, p. 202.

Gnaiger E., 1983. Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption.in: Polarographic oxygen sensors. E. Gnaiger, H. Forstner eds. *Springer-Verlag, Berlin, appendix C.*, pp. 337-345.

Haure J., Baud J.P., 1995. Approche de la capacité trophique dans un bassin ostréicole (baie de Bourgneuf), Rapports internes de la Direction des Ressources Vivantes de l'IFREMER, RIDRV-95-16/RA-BOUIN, p 13.

Haure, 1999. Testage de souches d'huîtres plates *Ostrea edulis* tolérantes a *Bonamia ostreae*: élevage contrôlé, écophysiologie et modélisation de la croissance. Thèse de doctorat, Ecole pratique des hautes études, 94p.

Haure J., Huvet A., Palvadeau H., Nourry M., Pénisson C., Boudry P., Martin J.L.Y., 2001. Etude de la croissance et de l'activité écophysiologique des huîtres creuses *Crassostrea gigas*, *Crassostrea angulata* et de leurs hybrides en système contrôlé. DRV/RST/RA/LCPL/2001-09, 39p.

Hawkins A.J.S., Day A.J., Gérard A.,Naciri Y.,Ledu C., Bayne B.L., Héral M., 1994. A genetic and metabolics basis for faster growth among triploids induced by blocking meiosis I but not meiosis II in the larviparous European flat oyster, *Ostrea edulis* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, Vol. 184, pp. 21-40.

Hawkins A.J.S., Gerard A., Heral M., Zouros E., 1998. Assessment of aquacultural advantages following the cytogenetic induction of polyploids in commercially important shellfish. *Fisheries & Aquaculture* (Project synopses), Vol. 5, pp. 22-27.

Hirsch, 2001. Dossier ASSFA [en ligne], <http://www.affsa.fr/ftp/basedoc/2001sa0080.pdf>

Huvet, 2000. Ressources génétiques et phylogéographie des huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *C. angulata*: variabilité, différenciation et adaptation des populations naturelles et introduites. Thèse de doctorat, Université de Tours, 202 p.

Kesarcodi-Watson A., Lucas J.S., Klumpp D.W., 2001a. Comparative feeding and physiological energetics of diploid and triploid Sydney rock oysters, (*Saccostrea commercialis*) I. Effects of oyster size. *Aquaculture*, Vol. 203, n°1-2, pp. 177-193.

Kesarcodi-Watson A., Klumpp D.W., Lucas J.S., 2001b. Comparative feeding and physiological energetics in diploid and triploid Sydney rock oysters (*Saccostrea commercialis*) II. Influences of food concentration and tissue energy distribution. *Aquaculture*, Vol. 203, n°1-2, pp. 195-216.

- Lawrence D.R. and Scott G.I., 1982.** The determinal and use of condition index of oysters. *Estuaries*, Vol. 5, n°1, pp. 23-27.
- Lorenzen C.J., 1967.** Determination of chlorophyll and pheophytin spectrophotometric equation. *Limnol. Oceanograph*, Vol 12, pp. 343-346.
- Lowry O.H., Rosebrough N.I., Farrand A.L., Randall R.J., 1951.** Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, Vol 193, pp 263-275.
- Marsh A. and Weistein D.B., 1966.** Sample charving method for determination of lipid. *J. Lip. Res.*, Vol 7, pp 574-576.
- Nell J.A. and Maguire G.B., 1998.** Commercialisation of triploid Sydney rock and Pacific oysters. Part I: Sydney rock oysters. NSW-Fish-Res-Final-Rep Port-Stephens, NSW-Australia NSW-Fisheries, n°10, 122p.
- Officiel de la conchyliculture, 2000.** Dénomination et classification des huîtres creuses, accord interprofessionnel. *L'officiel de la conchyliculture*, n°34, pp. 3-6.
- Peyre J.F.L., Cooper R.K., Supan J.E., Volety A.K., 1999.** Total bacteria and *Vibrio vulnificus* load in diploid and triploid eastern oysters in Louisiana. *J. Shell Res.*, Vol. 18, n°1, p. 324.
- Small A.C. and Widdows J., 1994.** The scope for growth of bivalves as an integrated reponse parameter in biological monitoring. *Biomonitoring of coastal waters and estuaries*, pp. 247-268.
- Sokal R.R. and Rohlf F.J., 1995.** Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. VH Freeman and Co, New-York, p. 887.
- Soletchnik P., Razet D., Geairon P., Faury N., Gouletquer P., 1997.** 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. Ressour.*, n° 10, pp. 177-185.
- Supan J.E., Wilson C.E., Allen S.K.Jr., 2000.** The effect of cytochalasin B dosage on the survival and ploidy of *Crassostrea virginica* (Gmelin) larvae. *J. Shell. Res.*, Vol. 19, n°1, pp. 125-128.
- Winter J.E., 1978.** A review on the knowledge of suspension-feeding in lamellibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. *Aquaculture*, n° 13, 33 p.