

Université de La Rochelle

Thèse de Doctorat

Discipline : Océanologie biologique

Par

Nathalie MALET

ÉCOLOGIE ALIMENTAIRE DE L'HUITRE *CRASSOSTREA GIGAS* :

DYNAMIQUES DES COMPOSITIONS ISOTOPIQUES NATURELLES

Soutenue le 17 Novembre 2005 devant le jury composé de :

Jacques Clavier, Professeur, Université de Bretagne Occidentale	Rapporteur
Patrick Dauby, Professeur, Université de Liège	Rapporteur
Gérard Blanchard, Professeur, Université de La Rochelle	Directeur de thèse
Pierre-Guy Sauriau, Chargé de Recherche CNRS, CREMA L' Houmeau	Responsable scientifique
Mireille Harmelin-Vivien, Directeur de Recherche CNRS, DIMAR Marseille	Examineur
Philippe Gouletquer, Cadre de Recherche IFREMER, La Tremblade	Examineur

Université de La Rochelle

Thèse de Doctorat

Discipline : Océanologie biologique

Par

Nathalie MALET

ÉCOLOGIE ALIMENTAIRE DE L'HUITRE *CRASSOSTREA GIGAS* :

DYNAMIQUES DES COMPOSITIONS ISOTOPIQUES NATURELLES

Soutenue le 17 Novembre 2005 devant le jury composé de :

Jacques Clavier, Professeur, Université de Bretagne Occidentale	Rapporteur
Patrick Dauby, Professeur, Université de Liège	Rapporteur
Gérard Blanchard, Professeur, Université de La Rochelle	Directeur de thèse
Pierre-Guy Sauriau, Chargé de Recherche CNRS, CREMA L'Houmeau	Responsable scientifique
Mireille Harmelin-Vivien, Directeur de Recherche CNRS, DIMAR Marseille	Examineur
Philippe Gouletquer, Cadre de Recherche IFREMER, La Tremblade	Examineur

Résumé

Cette étude a consisté en la caractérisation du transfert trophique des sources de matière organique d'un écosystème littoral sous influence estuarienne chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*, mollusque suspensivore, qui est une composante majeure faunistique des Pertuis Charentais et particulièrement du bassin conchylicole de Marennes-Oléron. Les isotopes stables naturels du carbone et de l'azote ont été utilisés comme traceurs de la matière organique, des sources de production primaire et des transferts trophiques. La caractérisation de l'origine des sources de nourriture disponibles pour l'huître dans le pool de matière organique particulaire (MOP) a révélé la complémentarité des descripteurs hydrobiologiques pertinents utilisés en routine et l'analyse de la composition isotopique. Les processus d'incorporation de la nourriture ont ensuite été détaillés, avec, en particulier, la détermination des taux de renouvellement tissulaire et des enrichissements trophiques pour cinq organes, les branchies, la glande digestive, le manteau, le muscle et les gonades. Cette démarche originale est apparue particulièrement adaptée pour l'interprétation dynamique des transferts trophiques. En période estivale, les renouvellements isotopiques du carbone, différents entre chaque organe, s'échelonnent entre un mois pour la glande digestive et quatre mois pour le muscle. Le taux de renouvellement isotopique de l'azote est trois à cinq fois plus rapide en liaison avec le métabolisme protéique très actif chez les herbivores. La variabilité spatio-temporelle de la contribution des sources (facteur extrinsèque) au régime alimentaire de l'huître mais également la gamétogenèse (facteur intrinsèque) influent conjointement sur les signaux isotopiques tissulaires de l'huître. En définitive, la composition isotopique de l'huître corrigée de son enrichissement trophique permet alors de définir son régime alimentaire. La glande digestive dont le renouvellement est rapide informe sur la dynamique temporelle des sources de nourriture accessibles alors que le muscle qui intègre sur le long terme révèle leur dynamique spatiale en période de croissance. L'huître s'avère être un tropho-indicateur de la dynamique des environnements nutritionnels intertidaux sous influence estuarienne.

Mots clefs : Huître creuse *Crassostrea gigas*, isotopes stables, Pertuis Charentais, bassin de Marennes-Oléron, matière organique particulaire, renouvellement tissulaire, enrichissement trophique, organes

Abstract

Trophic transfers of particulate organic matter sources to the Pacific oyster *Crassostrea gigas* were investigated in the oyster farming bay of Marennes-Oléron for two years. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen were used to trace the origin and fate of primary production and organic matter inputs into the bay, and to depict trophic transfers to oysters that were experimentally reared according to traditional methods. Characterizing particulate organic matter sources available for oysters utilized a combination of hydrobiological parameters and stable isotope ratios. Processes of food incorporation by oysters were described for five organs such as gills, digestive gland, mantle, muscle and gonads, and were interpreted taking into account experimental estimates of tissue turnover rates and trophic enrichments. In summer and depending of the organs, isotopic turnover rates of carbon vary between 1 and 4 months although isotopic turnover rates of nitrogen were 3 to 5 times faster than those of carbon, in relation to the metabolism of proteins in herbivorous species. Spatial and temporal variability of the source contributions (extrinsic factor) to the oyster diet and the gametogenic cycle (intrinsic factor) jointly influenced tissue isotopic signals. Then the isotopic composition of oyster corrected for its trophic enrichment allows its diet to be determined on a monthly basis. The faster turnover rate of the digestive gland gave information about the temporal dynamics of the available food sources, whereas muscle tissues, with longer turnover, revealed spatial dynamics of available food sources during periods of growth. To conclude, this study demonstrated that the Pacific oyster, as a tropho-indicator, is an efficient tool to highlight nutritional dynamics in estuarine macrotidal environment.

Key words: *Crassostrea gigas*, Pacific oysters, stable isotopes, Pertuis Charentais, Marennes-Oléron Bay, particulate organic matter, tissue turnovers, trophic discrimination, organs

Avant-propos

Je remercie les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail

Madame Mireille Harmelin-Vivien, Directeur de Recherche au CNRS, DIMAR Marseille,
Monsieur Patrick Dauby, Professeur à l'Université de Liège,
Monsieur Jacques Clavier, Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale, Brest,
Monsieur Philippe Gouletquer, Cadre de Recherche au LERPC IFREMER La Tremblade,

Je remercie tout particulièrement Pierre-Guy Sauriau, Chargé de Recherche CNRS au CREMA L'Houmeau, instigateur du sujet de ce mémoire, pour m'avoir fait confiance depuis plusieurs années jusqu'à l'achèvement de cette thèse.

Je tiens à remercier Monsieur Gérard Blanchard, Professeur à l'Université de La Rochelle, directeur de cette thèse, pour son écoute.

J'adresse mes remerciements à Monsieur Patrick Gentien, directeur du CREMA, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire.

Merci à Monsieur Cédric Bacher, pour m'avoir initiée à la modélisation et aidée à développer un projet de modélisation qui me tenait à cœur.

J'adresse également mes remerciements les plus sincères à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'aboutissement de ces travaux de thèse.

A nos collaborateurs, au LERPC IFREMER La Tremblade et à la station IFREMER de Bouin, Patrick Soletchnik, Olivier Le Moine, Mireille Ryckaert et Joël Haure.

A l'ensemble du personnel, ingénieurs et techniciens,

Au CREMA L'Houmeau, Gaël Guillou, Lucette Joassard, Martine Breret, Françoise Mornet

À la station de Bouin, Max Nourry

Au LERPC et LGP IFREMER la Tremblade, Nicole Faury, Philippe Geairon, Raphaël Brizard, Pascale Malestroït, Jean-Luc Seugnet « mon pilote » durant ces deux ans de prélèvements (mon amarinage est à refaire !!!). Merci à Frédéric Blouin, malheureusement décédé durant cette étude, toujours présent pour m'épauler.

Merci à Stéphanie Bourgeois pour avoir participé lors de son stage d'IUT à compléter les analyses isotopiques.

Merci à mes camarades thésards pour leur sympathie et les bons moments passés ensemble (et en particulier mes joyeux collègues de bureau),

Les très anciens, Pascal, Caro,

Les anciens, François, Aurélien, Fariba,

Les plus tout à fait nouveaux, Vincent, Christine,

Et les nouveaux, Sandie, Benoît, Stéphane.

Bon courage à vous tous.

Merci, à Céline pour, entre autres, ces agréables moments de détente sur son île et à notre joyeuse bande de Oufs des débuts, Stéphane, Stellio, Mélanie, Delphine. A Carole pour sa joie de vivre.

Une pensée toute particulière à Delphine pour son amitié et sa présence depuis plusieurs années maintenant et à Magali, pour m'avoir toujours suivie de très près.

A mes parents, pour m'avoir encouragée tout au long de ces années.

A Eric, amoureuxment, pour m'avoir supportée, réconfortée, encouragée ... un soutien sans faille qui m'a donné des ailes.

L'ensemble de cette étude a été réalisée au CREMA L'Houmeau avec la collaboration du LERPC IFREMER La Tremblade, de la Station IFREMER de Bouin et a bénéficié de collaborations au sein du programme MOREST IFREMER (MORTalité ESTivale de l'huître creuse *Crassostrea gigas*). Cette thèse a été financée grâce à une bourse de trois années du Conseil Général de la Charente Maritime puis d'un contrat d'étude IFREMER et CNRS de 7 mois en 2005.

SOMMAIRE

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
Contexte de l'étude et problématique	1
Site et modèle de l'étude. Caractéristiques de l'environnement littoral des Pertuis Charentais et en particulier du bassin de Marennes-Oléron.	7
1. Les Pertuis Charentais et le bassin de Marennes-Oléron	7
2. L'exploitation ostréicole des Pertuis Charentais	10
3. L'huître <i>Crassostrea gigas</i> et son environnement trophique	13
3.1. Les sources de matière organique disponibles	13
3.2. L'huître : un mollusque filtreur suspensivore	16
L'analyse des isotopes stables comme méthode pour caractériser l'origine des flux de matière organique des zones littorales	20
1. L'expression mathématique de la composition isotopique	20
2. Caractérisation des sources de matière organique	22
<input type="checkbox"/> Composition isotopique du carbone inorganique dissous (CID).	22
<input type="checkbox"/> Cycles biochimiques utilisés au cours de la synthèse de la matière organique.	22
<input type="checkbox"/> Fixation de l'azote par les producteurs primaires	23
3. Relation entre la composition isotopique d'un consommateur et de sa nourriture	25
<input type="checkbox"/> Discrimination entre la composition isotopique du consommateur et sa source de nourriture sur le carbone.	26
<input type="checkbox"/> Discrimination entre la composition isotopique du consommateur et sa source de nourriture sur l'azote.	27
4. Application de l'analyse des isotopes stables (AIS) à l'étude des transferts trophiques dans les systèmes littoraux et le bassin de Marennes-Oléron	29
PARTIE 1. CARACTERISATION HYDROLOGIQUE ET ISOTOPIQUE DU MILIEU NUTRITIONNEL	31

Chapitre 1. Caractérisation de la variabilité saisonnière et interannuelle de la composition isotopique du seston de la baie de Marennes-Oléron : utilisation des isotopes stables du carbone et de l'azote. _____ 32

1. Introduction _____	32
2. Matériels et méthodes _____	35
2.1. Site d'étude _____	35
2.2. La matière particulaire en suspension _____	37
2.3. Phytoplancton et microphytobenthos _____	37
2.4. Mesure de l'azote et du carbone organique particulaire _____	39
2.5. Analyse des isotopes stables _____	39
3. Résultats _____	39
3.1. Paramètres environnementaux _____	39
3.2. Matière particulaire et phytoplancton _____	41
3.3. Composition de la matière organique _____	44
4. Discussion _____	46
4.1. Caractérisation isotopique des sources de matière organique _____	46
4.2. Variabilités saisonnière et interannuelle de la matière organique _____	50

PARTIE 2. PROCESSUS D'INTEGRATION DE LA COMPOSITION ISOTOPIQUE DE LA NOURRITURE _____ 57

Chapitre 2. En combien de temps l'huître *Crassostrea gigas* transplantée de l'estuaire de l'Escaut à Marennes-Oléron acquiert-elle la signature isotopique de son nouvel environnement nutritionnel ? _____ 58

1. Introduction _____	58
2. Matériels et Méthodes _____	62
2.1. Sites d'étude _____	62
2.2. Transplantations et environnement nutritionnel _____	64
2.3. Biométrie _____	64
2.4. Analyses isotopiques _____	65
2.5. Taux de croissance et turnover métabolique _____	65
2.6. Analyses statistiques _____	67
3. Résultats _____	67
3.1. Taux de croissance _____	67
3.2. Analyse des isotopes stables _____	69

3.3. Résultats du modèle	71
4. Discussion	73
4.1. Incorporation tissulaire du carbone et de l'azote	73
4.2. L'environnement nutritionnel	75

**Chapitre 3. Processus d'incorporation de la signature isotopique chez l'huître
Crassostrea gigas en période de gamétogenèse : comparaison entre des huîtres
diploïdes et triploïdes**

1. Introduction	84
2. Matériels et méthodes	87
2.1. Transplantations et environnement nutritionnel	87
<input type="checkbox"/> Marquage isotopique	87
<input type="checkbox"/> Transplantation sur un parc ostréicole	88
<input type="checkbox"/> Le seston	89
2.2. Analyses isotopiques	89
2.3. Taux de croissance et turnover métabolique	91
2.4. Analyses statistiques	92
3. Résultats	92
3.1. Croissance des huîtres diploïdes et triploïdes	92
3.2. Ratios C/N, poids sec et signature isotopique des huîtres diploïdes et triploïdes pendant la période de reproduction	95
<input type="checkbox"/> Evolution temporelle des ratios C/N	95
<input type="checkbox"/> Relation entre les ratios C/N et les poids secs	97
<input type="checkbox"/> Relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ et les poids secs	97
<input type="checkbox"/> Relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et les ratios C/N	101
<input type="checkbox"/> Composition isotopique des huîtres diploïdes et triploïdes	103
3.3. Résultats du modèle	104
4. Discussion	108
4.1. Changement de signatures isotopiques de l'huître : implication de la croissance et du métabolisme	108
4.2. Turnover isotopique des tissus	111
4.3. Discrimination entre les tissus et la nourriture et enrichissement trophique	112
4.4. L'huître : un organisme intégrateur de la variabilité environnementale	113

**PARTIE 3. DYNAMIQUE TEMPORELLE ET SPATIALE DU SIGNAL
ISOTOPIQUE DE L’HUITRE _____ 115**

**Chapitre 4 : Effect of gametogenic cycle on seasonal variations in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of the
Pacific oyster *Crassostrea gigas* tissues: comparison of diploid versus triploid oysters
_____ 116**

1. Introduction _____	117
2. Materials and methods _____	120
2.1. Study area _____	120
2.2. Sample collection _____	122
2.3. Hydrobiological parameter _____	123
2.4. Stable isotope analysis _____	123
2.5. Statistical analyses _____	124
3. Results _____	124
3.1. Environmental conditions and quality of available food sources _____	124
3.2. Comparative changes in oyster biometrics and proximate lipid contents _____	128
3.3. Comparative changes in $\delta^{13}\text{C}$ in diploid and triploid oyster tissues _____	131
3.4. Comparative changes in $\delta^{15}\text{N}$ in diploid and triploid oyster tissues _____	135
3.5. Diploid vs triploid oyster $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ relationships _____	137
3.6. $\delta^{13}\text{C}$ vs C:N ratio in diploid and triploid oyster tissues _____	138
4. Discussion _____	141
4.1. Seasonal changes in sources of particulate organic matter (POM) _____	141
4.2. Stable isotope composition in <i>Crassostrea gigas</i> tissues _____	143
<input type="checkbox"/> Initial <i>versus</i> final stable isotope ratios in oyster tissues _____	143
<input type="checkbox"/> Seasonal changes in stable isotope signature of oyster tissues _____	145
<input type="checkbox"/> Implication of somatic tissue reserves in gametogenetic cycle _____	150

**Chapitre 5. Echelles de variabilité du signal isotopique chez l’huître creuse
Crassostrea gigas des Pertuis Charentais _____ 154**

1. Introduction _____	154
2. Matériels et méthodes _____	157
2.1. Echantillonnage des huîtres des Pertuis Charentais _____	157
2.2. Suivi temporel des huîtres cultivées sur estran (sur table et à plat) _____	157
2.3. Echantillonnage des sources de matière organique _____	158
2.4. Biométrie _____	160

2.5. Analyses isotopiques _____	160
2.6. Analyses statistiques _____	161
3. Résultats _____	162
3.1. Composition de la matière organique particulaire et des producteurs primaires des Pertuis Charentais _____	162
3.2. Typologie à l'échelle des Pertuis Charentais selon la composition isotopique du muscle des huîtres _____	165
3.3. Influence de la position des cultures ostréicoles à l'échelle de la vasière d'Oléron sur la composition isotopique du muscle de l'huître _____	170
3.4. Distribution de la composition isotopique des huîtres à fine échelle selon le type de culture ostréicole _____	172
4. Discussion _____	176
4.1. Identification des sous-systèmes trophiques _____	176
<input type="checkbox"/> Composition isotopique de la matière organique particulaire _____	176
<input type="checkbox"/> Le degré d'omnivorie _____	177
<input type="checkbox"/> Origine des sources de nourriture de l'huître par sous-systèmes trophiques _____	179
4.2. Importance du microphytobenthos dans le régime alimentaire de l'huître _____	182
5. Conclusion : L'huître <i>Crassostrea gigas</i> intégrateur temporel de sous-systèmes trophiques	184

Chapitre 6. Essai de modélisation de la contribution des sources de matière organique au régime alimentaire de l'huître creuse _____ 190

1. Profil trophique temporel pluriannuel des sources disponibles _____	192
2. Profil trophique saisonnier et spatial des sources accessibles _____	198
2.1. Evolution temporelle du régime alimentaire de <i>Crassostrea gigas</i> de Ronce-les-Bains _____	198
2.2. Evolution spatiale du régime alimentaire : contribution des sources phytoplanctoniques et phytobenthiques aux huîtres de la cartographie estivale de 2001 _____	202

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES _____ 207

Conclusion générale _____ 209

Perspectives _____ 211

1. Identification des sources de matière organique dans la colonne d'eau et fonctionnement hydrobiologique des systèmes littoraux _____	211
2. Transferts trophiques de matière organique vers un consommateur primaire _____	213
2.1. Analyse Isotopique des Composés Spécifiques aux faibles niveaux trophiques _____	213

2.3. Suivi des transplantation d'huîtres _____	214
2.4. Modélisation de la composition isotopique de l'huître _____	215

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES _____	217
--	------------

INTRODUCTION GENERALE

Contexte de l'étude et problématique

Les zones littorales, estuariennes ou de baies ouvertes et semi-fermées, constituent des zones de transition entre la terre et la mer. La zone littorale, prolongement de l'environnement marin, présente des caractéristiques particulières qui expliquent pour une large part sa forte productivité et contribuent également à complexifier son étude car 1) la diversité et la variabilité des sources de matière organique et leurs contributions respectives au pool de matière organique qui y transite participent à maintenir à un niveau élevé les flux de matière traversant cet écosystème et 2) la nature détritique de la matière organique, à laquelle se superpose la complexité du réseau trophique, conduit à une grande difficulté d'identification des voies d'utilisation des différentes sources de matière organique par les consommateurs (Knox 1986). Les zones littorales sous influence estuarienne sont aussi associées aux substrats meubles. En effet, la plupart des vastes plateaux continentaux vaseux dans le monde sont liés aux débouchés des rivières en mer (Nybakken 1982). Par conséquent, ces écosystèmes particuliers caractérisés par une plus grande quantité de matières organiques abritent une communauté benthique abondante à forte productivité. De même, ces zones sont aussi des sites privilégiés d'implantation des activités d'élevage conchylicole (Héral et al. 1989).

Le nombre considérable de publications scientifiques concernant l'écologie des réseaux trophiques des systèmes aquatiques résulte de l'identification de la notion fondamentale de dynamique trophique des systèmes initiée par Lindeman (1942) et qui a des prolongements dans l'analyse spatialisée des systèmes (Fry 1999). Plusieurs approches ont été envisagées afin de déterminer ces processus tropho - dynamiques au sein des estuaires et baie littorales (Livingston 2003) :

- Les études classiques qui emploient l'analyse des contenus stomacaux donnent des estimations du pourcentage des diverses sources ingérées par les espèces. Ces estimations peuvent

être biaisées par la présence de proies non assimilées, ou à l’opposé, de proies facilement digérées qui deviennent alors difficilement identifiables ou restent inconnues pour l’observateur. L’analyse des contenus stomacaux procure une résolution taxonomique élevée de la composition du bol alimentaire mais il s’agit cependant d’une mesure instantanée. Elle n’apporte donc des informations fiables que dans le cas d’espèces dont le régime alimentaire est stable dans le temps et l’espace (au contraire d’espèce au régime opportuniste) et si l’analyse est répétée dans le temps par exemple de façon saisonnière. Il s’agit, de plus, d’une méthode chronophage qui est parfois difficilement applicable sur des organismes de petite taille.

- Les modèles mathématiques de capacité trophique (Raillard & Ménesguen 1994), s’ils permettent de prédire les performances de croissance des organismes consommateurs ne sont pas conçus pour prendre en compte les types de nourriture assimilée. Ces modèles occultent la multitude des sources potentielles à considérer. Les sources de matière organique primaire sont le plus souvent réduites à la biomasse phytoplanctonique par le biais des teneurs en chlorophylle *a* et phéopigments de la colonne d’eau. Le caractère détritique de la matière organique et la variabilité des apports rend particulièrement difficile la détermination de son origine et sa quantification. En effet, les différentes sources organiques constituant la base du réseau trophique (microalgues benthiques et pélagique, détritiques, bactéries) sont étroitement associées formant un complexe particulière (Knox 1986). Il est, de plus, souvent difficile de classer les consommateurs primaires en catégories trophiques simples (phytophage, détritivore) se nourrissant sur un composant unique de la matière organique particulière. La plupart des consommateurs primaires sont des omnivores opportunistes (Haines 1976) qui consomment un mélange de microalgues benthiques, de détritiques, de bactéries et de protistes (Le Gall et al. 1997, Dupuy et al. 1999, Dupuy et al. 2000a). Les modèles de réseau trophique basés sur la dynamique des flux d’énergie soulèvent en partie ces écueils en prenant en compte dans un modèle *a priori* l’ensemble des connaissances acquises sur les transferts de matière (Leguerrier et al. 2003, Leguerrier et al. 2004).

Le développement de l’analyse des isotopes stables (AIS), à partir des années 1970, a permis de résoudre la question de l’origine des flux de matière (Haines 1976, Haines & Montague 1979) et particulièrement du devenir des différentes sources de production primaire ainsi que les

liens trophiques, par nature complexes, dans les écosystèmes. Le principe de l'AIS repose sur la conservation de la composition en isotopes stables des sources nutritives au cours des transferts trophiques (Peterson & Fry 1987). L'utilisation de cette méthode a ainsi permis, par exemple, de mettre en évidence la contribution des apports terrestres au réseau trophique de l'estuaire du Mississippi (Hackney & Haines 1980). Ces études permettent également de mettre en évidence le rôle particulier d'une source de nourriture telle que les plantes marines halophytes comme les spartines (Haines 1976, Gleason 1986, Currin et al. 1995) et les microalgues benthiques (Hecky & Hesslein 1995, Riera et al. 1999, Sauriau & Kang 2000) chez les consommateurs primaires.

Les caractéristiques hydrobiologiques et sédimentaires particulières des zones estuariennes leur confèrent une forte productivité biologique qui permet de soutenir une intense production conchylicole (Gouletquer & Héral 1997, Gouletquer & Le Moine 2002). La zone littorale intertidale des Pertuis Charentais et en particulier le bassin de Marennes-Oléron placé sous influence de l'estuaire de la Charente est, en effet, une zone privilégiée de production conchylicole basée de nos jours sur l'exploitation de l'huître japonaise *Crassostrea gigas* (Thunberg). Cependant, la production ostréicole du bassin a connu depuis ces deux dernières décennies une stagnation. L'explication la plus vraisemblable à cette situation est l'augmentation des biomasses d'huîtres en élevage qui excède la capacité trophique du bassin de Marennes-Oléron (Héral et al. 1989). Ce constat a suscité diverses études *in situ* ou expérimentales afin de mieux comprendre les processus impliqués dans l'utilisation et la transformation des matières en suspension par les huîtres (Sornin 1981, Bacher 1989, Riera & Richard 1996, Soletchnik et al. 1996, Barillé et al. 1997, Cognie 2001, Cognie et al. 2003, Leguerrier et al. 2004, Soletchnik et al. 2005b). La biomasse de 100 000 tonnes d'huître *Crassostrea gigas* domine cependant largement celle des autres groupes faunistiques, potentiels compétiteurs trophiques, dans la mesure où elle représente au moins 80 % de la biomasse animale suspensivore du bassin de Marennes-Oléron (Sauriau 1987, 1992).

Dans ce contexte de caractérisation de l'origine des sources de matière organique et des transferts des flux de matière dans le réseau trophique d'une zone littorale à vocation conchylicole, deux interrogations sous-tendent la problématique de ce travail :

- **Comment s'exercent les transferts de matières organiques à la base du réseau trophique via un consommateur primaire suspensivore majeur du système estuarien, l'huître *Crassostrea gigas* ?**

- **Comment s'exercent ces transferts de matière à différentes échelles temporelles et spatiales ?**

Ces questions abordées d'un point de vue du traçage isotopique naturel ont trait à l'écologie trophique de l'huître et à la caractérisation trophodynamique de son environnement. Elle implique une démarche cognitive généralement utilisée pour caractériser les régimes alimentaires et les réseaux trophiques qui est 1) de définir les sources de matière organique potentiellement disponibles pour le consommateur et 2) de comparer la composition isotopique du consommateur à celle de ces sources nutritives afin de caractériser puis si possible quantifier son régime alimentaire.

Ce manuscrit débute par une introduction générale et s'articule ensuite en trois parties :

– **L'introduction générale** positionne le contexte de cette étude et justifie la démarche adoptée dans ce travail. Elle pose les caractéristiques principales de la zone d'étude et du modèle biologique et définit la méthode utilisée.

– **La première partie (chapitre 1)** est relative à la caractérisation isotopique des sources de nourriture disponible dans la colonne d'eau pour les consommateurs primaires. Au-delà de l'identification de celles-ci, un suivi de la variabilité de leurs contributions respectives au pool de matière organique est proposé. Je réexaminerai d'un point de vue du traçage isotopique naturel

l'hypothèse selon laquelle l'échelle de la variabilité de contribution des sources est tout d'abord saisonnière mais également pluriannuelle en raison principalement des conditions climatiques qui régissent, les débits des fleuves, l'ensoleillement et donc la charge particulaire, la production primaire et le devenir de la matière organique. Bien que de tels suivis hydrobiologiques soient réalisés en routine sur le bassin de Marennes-Oléron avec la mise en évidence de leurs échelles de variabilité (Soletchnik et al. 1998, Faury et al. 1999, Struski 2005), ce travail permettra de tester l'hypothèse des " profils trophiques temporels " correspondant à la contribution des diverses sources de nourriture disponibles pour l'huître.

- **La seconde partie (chapitres 2 et 3)** repose sur des expérimentations *in situ*. Elles permettront d'estimer les paramètres liés aux processus d'incorporation de la nourriture par l'huître avec essentiellement 1) la détermination des taux de renouvellement tissulaire et 2) la mise en évidence de la différence isotopique entre les tissus de l'huître et ses sources de nourriture. En effet, l'utilisation du traçage isotopique des transferts de matière par voie trophique s'appuie sur des hypothèses qui n'ont pas systématiquement fait l'objet de vérification chez les animaux marins dont les bivalves. Certaines hypothèses peuvent être contestées du fait de l'avancée dans les techniques analytiques (Gannes et al. 1997, Focken & Becker 1998, Gaye-Siessegger et al. 2004). Je souhaite ainsi, confirmer ou infirmer les différences isotopiques entre l'huître creuse *Crassostrea gigas* et sa source de nourriture sachant qu'il est communément admis dans la littérature que cette différence est de 1‰ sur le carbone et 3,5 ‰ sur l'azote (DeNiro & Epstein 1978, 1981, Vander Zanden & Rasmussen 2001). Le **chapitre 2** aborde les questions relatives aux processus d'acclimatation trophique en s'appuyant sur le transfert d'une population d'huîtres entre deux systèmes, l'estuaire de l'Escaut et le bassin ostréicole sous influence estuarienne de Marennes-Oléron. Le **chapitre 3** soulève l'implication des processus de croissance et des processus métaboliques propres aux organes de l'huître lors d'un épisode physiologique majeur, la reproduction, dans le renouvellement isotopique tissulaire. De plus, la mise en évidence d'un taux de renouvellement isotopique différent selon le rôle fonctionnel des tissus est escompté, ce qui par

conséquent permettrait ainsi de répondre à la question de l'intégration temporelle de la source de nourriture.

- **La troisième partie** intègre à la fois la détermination de la composition isotopique des sources (chapitre 1) et les connaissances acquises sur les processus d'incorporation de la nourriture par l'huître (chapitres 2 et 3) ayant pour conséquence l'acquisition du signal isotopique chez l'huître. Je me suis alors penchée sur la représentativité de la composition isotopique de l'huître *Crassostrea gigas* : reflète-t-elle des transferts de matière identique sur l'ensemble de l'année (**chapitre 4**) ? Comment s'exercent les influences extrinsèques liées à la variabilité environnementale des sources nutritives et intrinsèques en relation avec la physiologie de l'organisme sur la composition isotopique de l'huître ?

Aux termes **du chapitre 5**, sera débattue l'hypothèse que la composition isotopique de l'huître est un indicateur fiable des transferts de matières *via* le premier échelon trophique et permet *in fine* de différencier des sous-systèmes trophiques à l'échelle du bassin ostréicole de Marennes-Oléron.

- Enfin, **le chapitre 6**, portera sur un essai de la quantification des contributions des sources de nourriture à l'alimentation de l'huître *Crassostrea gigas*, en ayant recours à un modèle de mélange statique (Phillips & Gregg 2003).

La conclusion générale synthétisera l'apport de ces travaux de recherche à l'étude de l'origine des flux de matière organique, grâce à l'utilisation de l'huître creuse *Crassostrea gigas*, vue comme tropho – indicateur, c'est-à-dire, un indicateur du fonctionnement spatio-temporel trophique du bassin de Marennes-Oléron puis proposera **des perspectives** à ces travaux.

J'ai choisi de construire chaque chapitre séparément et de les replacer dans un contexte global des recherches scientifiques en cours de sorte qu'il puisse être lu indépendamment.

Site et modèle de l'étude. Caractéristiques de l'environnement littoral des Pertuis Charentais et en particulier du bassin de Marennes-Oléron.

1. Les Pertuis Charentais et le bassin de Marennes-Oléron

Les Pertuis Charentais sont situés au centre de la façade atlantique française (Fig. 1a). L'île d'Oléron protège le bassin de l'influence directe de l'océan Atlantique mais laisse pénétrer les eaux océaniques au nord-ouest par le Pertuis d'Antioche et au sud par le Pertuis de Maumusson (Fig. 1b). La surface du bassin de Marennes-Oléron au sud de l'estuaire de la Charente est d'environ 180 km² dont 60 % sont exondés pendant les basses mers de vives eaux. C'est une baie macrotidale avec un marnage maximal de 6,5 m. Les courants de marées ont une résiduelle orientée du nord vers le sud du bassin (Fig. 1b) avec des temps de résidence estimés de 4 à 10 jours (Bacher 1989) selon les coefficients de marées.

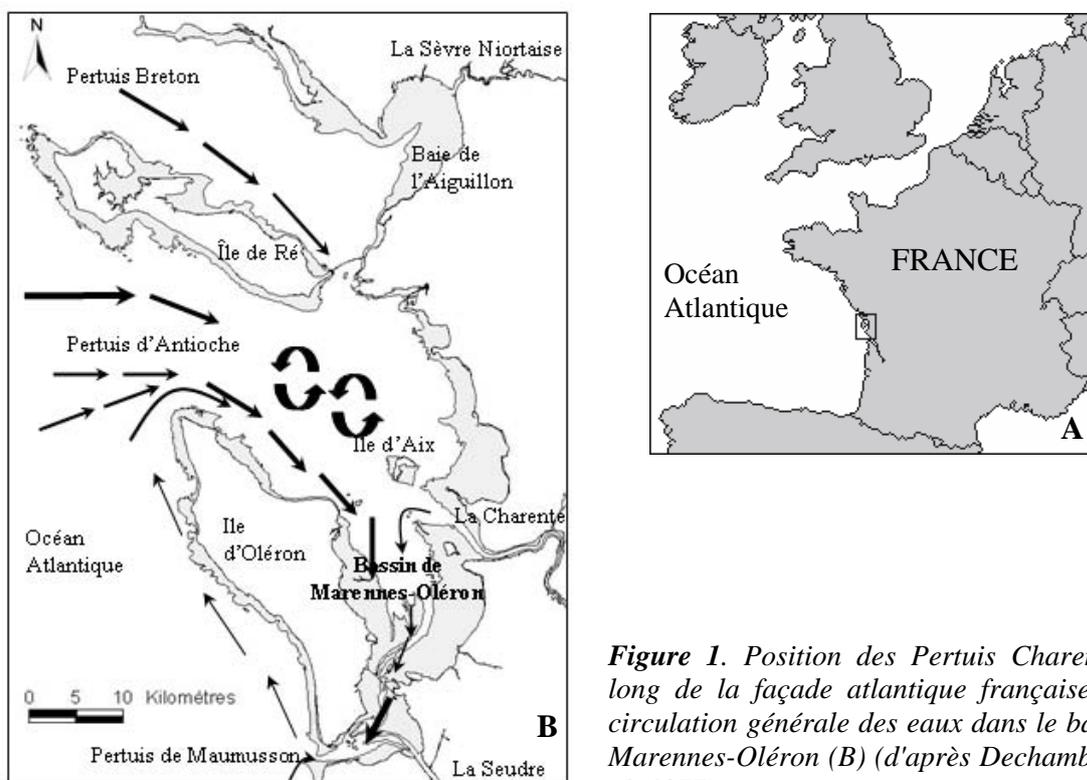


Figure 1. Position des Pertuis Charentais le long de la façade atlantique française (A) et circulation générale des eaux dans le bassin de Marennes-Oléron (B) (d'après Dechambenoy et al. 1977).

Trois rivières débouchent dans les Pertuis Charentais, La Sèvre, La Charente et la Seudre. Les apports d'eau douce dans le bassin de Marennes-Oléron proviennent essentiellement de la Charente avec des débits au minimum de $0 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ et au maximum de $400 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ (Soletchnik et al. 1998, Struski 2005) (Fig. 2). Leur volume annuel, environ 3.10^9 m^3 d'eau, ne représente en fait que $1/200^{\text{ème}}$ à $1/150^{\text{ème}}$ des masses océaniques entrant à chaque marée dans le bassin (Tesson 1973). L'effet des eaux douces sur la salinité du bassin (Fig. 2) est généralement restreint à l'estuaire externe et au centre et est du bassin (Héral et al. 1984, Ravail et al. 1988). Sur la vasière de l'est, la salinité ne descend que rarement en dessous de 30 – 32 ‰, excepté lors de crue importante. Pendant ces périodes de forts débits, les apports d'eau douce provenant de l'estuaire de la Gironde à 40 km au sud de la baie de Marennes-Oléron peuvent également entrer par le Pertuis d'Antioche (Fig. 1) après avoir contournés l'île d'Oléron par l'ouest (Lazure & Jégou 1998).

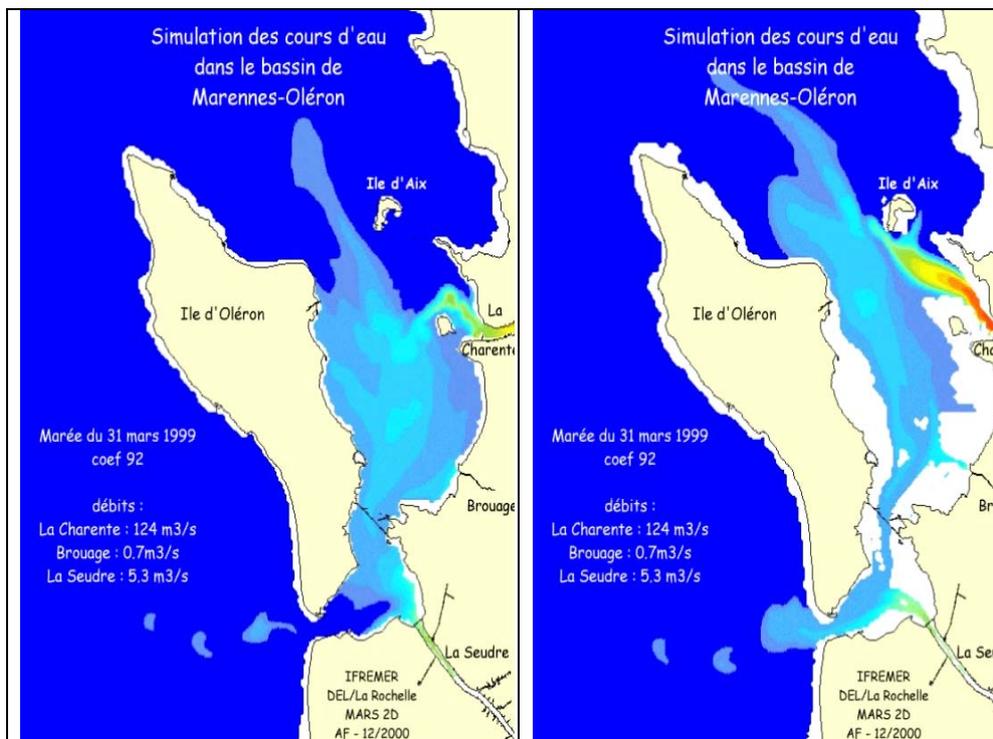


Figure 2. Simulation des apports d'eau douce de la Charente, de la Sèvre et du chenal de Brouage à marée haute (à gauche) et à marée basse (à droite) (IFREMER LERPC L'Houmeau).

A l'entrée des Pertuis Breton et d'Antioche, les sédiments sont plus grossiers et composés d'une majorité de graviers (Fig. 3). A mesure, que l'on se rapproche de l'Anse de l'Aiguillon et du bassin de Marennes-Oléron, les sédiments, plus fins, témoignent d'une sédimentation privilégiée à l'ombre des îles et à l'embouchure des fleuves (Tesson 1973). Le Pertuis de Maumusson est composé de sédiment sableux plus fin. L'environnement sédimentaire meuble du bassin de Marennes-Oléron a été décrit par Hily (1976), Sornin (1981) et Sauriau (1992). Ainsi, il a pu être mis en évidence le caractère dichotomique des faciès sédimentaires entre l'est et l'ouest du Coureau d'Oléron. La grande vasière de l'est du bassin présente des sédiments homogènes composés de vase fine, pure dont la fraction pélitique (particules de diamètre $< 63 \mu\text{m}$) est supérieure à 85 %. Les vasières ouests (côte est de l'île d'Oléron) renferment des types sédimentaires plus variés allant des vases, vases sableuse, sables fins envasés, aux sables fins. Dans le chenal, parcouru par de forts courants, particulièrement au jusant, les sédiments sont plus grossiers. Les affleurements rocheux sont limités principalement au sud de l'île de Ré, au nord et nord-ouest de l'île d'Oléron, à l'estuaire de la Charente et au centre du bassin de Marennes-Oléron.

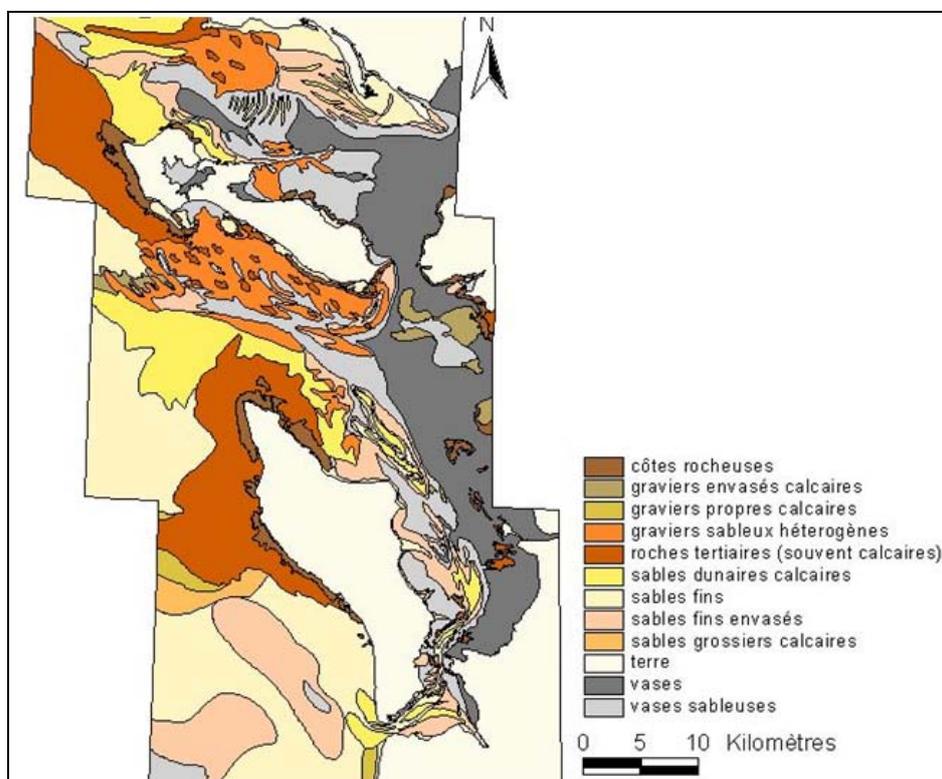


Figure 3. Carte sédimentaire des Pertuis Charentais (SHOM).

La houle du large assure la remise en suspension des sédiments granulaires. Les sédiments cohésifs tels que la vase sont remis en suspension par les clapots induits par les vents locaux et transportés par les courants de marée (Raillard et al. 1994, Raillard & Ménesguen 1994, Bassoullet et al. 2000, Gouleau et al. 2000). Les infrastructures conchylicoles sont également responsables de l'accroissement du taux de sédimentation de la fraction fine (Sornin 1981). La production de fèces et de pseudo-fèces par les huîtres et moules cultivées favorisent également fortement la sédimentation et l'augmentation du taux de matière organique des sédiments (Sornin et al. 1983).

2. L'exploitation ostréicole des Pertuis Charentais

Le bassin de Marennes-Oléron constitue le plus vaste secteur de production conchylicole européen (Gouletquer & Le Moine 2002) (Fig. 4) avec une surface de 2 854 ha. La région Poitou-Charentes assurait, en 2001, 31 % de la production des huîtres creuses consommées en France. Cette activité de production de 62 000 tonnes par an est assurée par près de 3000 exploitations (4500 emplois) qui génèrent un chiffre d'affaires de 160 MEuros (*Observatoire Régional de l'Environnement, Mai 1997*) (Gouletquer & Héral 1997).

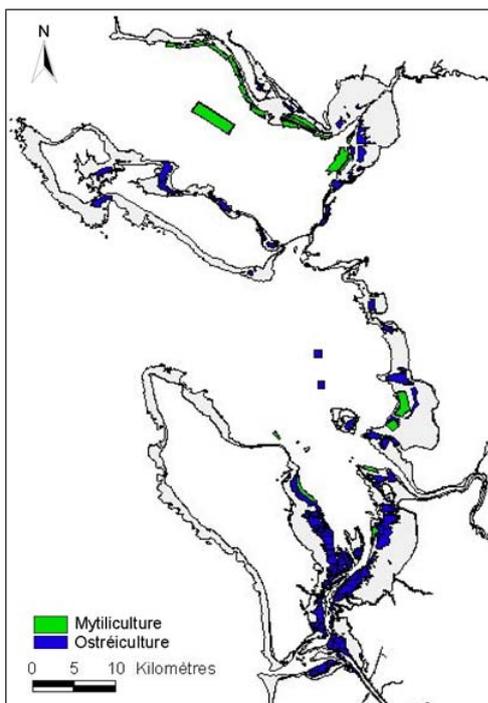


Figure 4. Localisation des sites de production conchylicole des Pertuis Charentais.

Depuis la fin du 19^{ème} siècle, l'ostréiculture a subi plusieurs phases de développement entrecoupées de crises brutales (Héral et al. 1989) comme de 1930 à 1950 avec la succession de périodes très florissantes suivies de périodes de difficultés (captage, survie) (Fig. 5). Les épizooties n'étaient pas nouvelles, mais celles qui décimèrent les cheptels d'huître portugaise *Crassostrea angulata* Lamarck à la fin des années 1960, eurent des conséquences économiques catastrophiques. Le remplacement de *C. angulata* par l'huître japonaise *Crassostrea gigas* (Thunberg) dès 1968 puis massivement au début des années 1970 a permis le renouveau de cette activité.

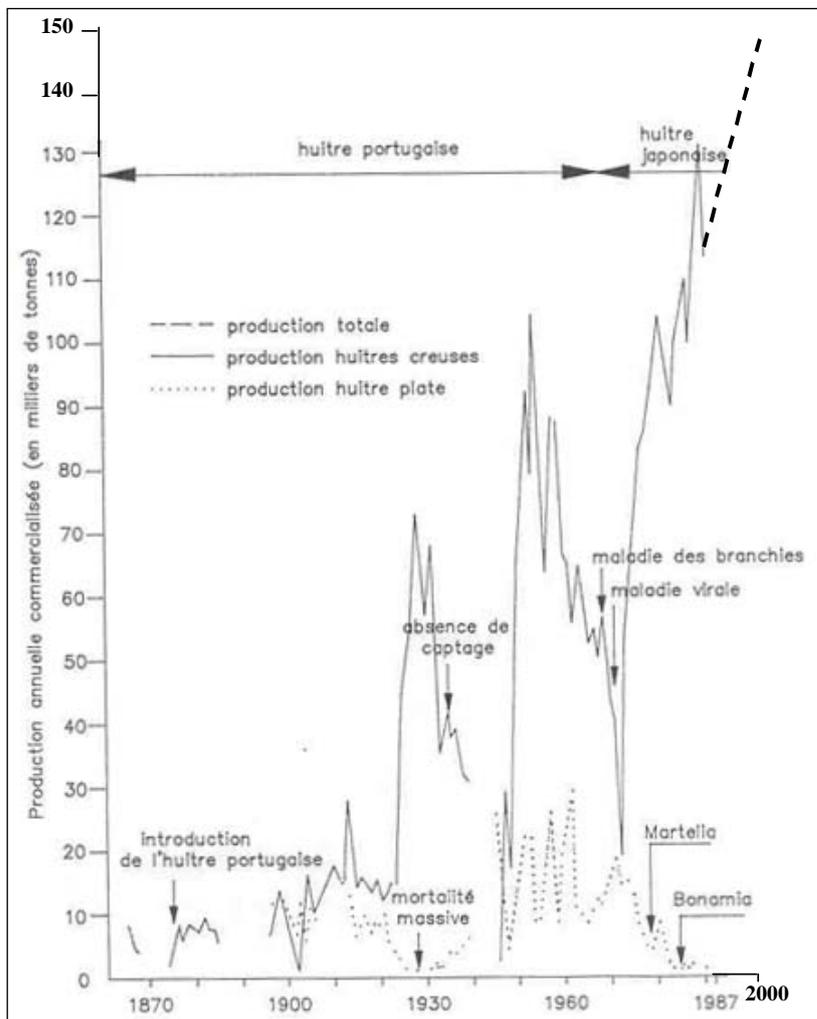


Figure 5. Evolution de la production d'huître en France de 1965 à 2000. L'épizootie de l'huître portugaise *Crassostrea angulata* conduisit à la fin des années 1960 à son remplacement par l'huître japonaise *Crassostrea gigas* (d'après Héral et al. 1989)

Cependant, l'accroissement important de la biomasse en culture se heurte à une nouvelle contrainte liée à la capacité trophique des écosystèmes concernés. Au-delà d'une certaine biomasse en élevage, la production tend à plafonner vers 40 000 tonnes (Fig. 6). La compilation

d'observations historiques a également permis de constater simultanément un déclin du taux de croissance et une augmentation du taux de mortalité hors épizootie (Fig. 7).

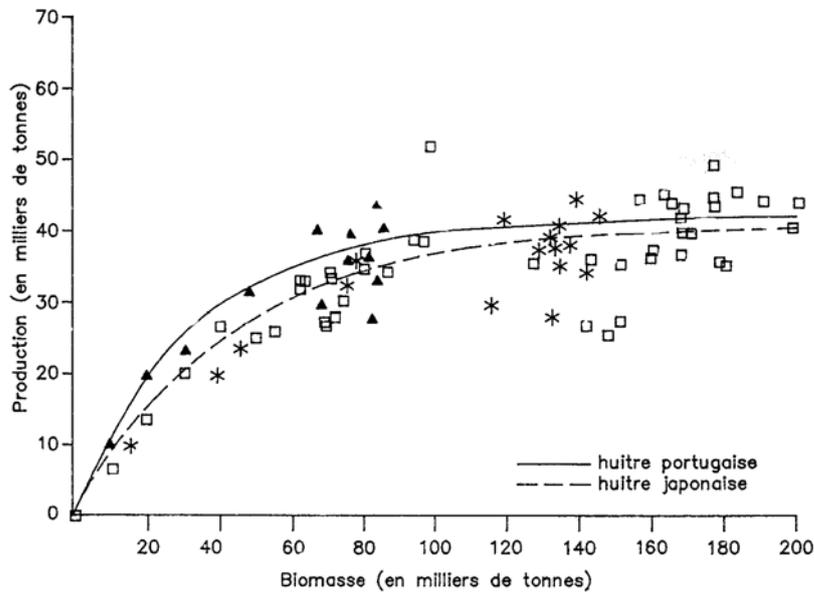


Figure 6. Evolution de la production annuelle en fonction de la biomasse d'huîtres cultivées.

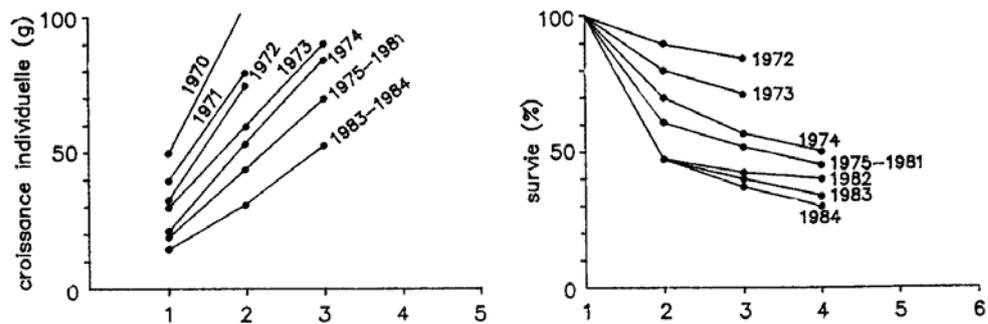


Figure 7. Evolution pluriannuelle des courbes de croissance pondérale de *Crassostrea gigas* et du taux de survie des huîtres dans le bassin de Marennes-Oléron (d'après Héral et al. 1989).

L'estimation de la capacité trophique du bassin de Marennes-Oléron a fait l'objet d'une modélisation du fonctionnement de l'écosystème (Bacher 1989, Raillard 1991, Barillé 1995, Struski 2005) à l'aide de lois mathématiques traduisant les processus physiques et biologiques. La

conception d'un tel modèle a nécessité une connaissance approfondie des principaux maillons qui composent l'écosystème, notamment les producteurs primaires et consommateurs primaires, les microalgues de la colonne d'eau et les bivalves (Raillard & Ménesguen 1994). De même ont dû être intégrées les relations trophiques qui unissent ces principaux maillons, en considérant que la participation des éléments dissous à l'alimentation des huîtres est négligeable.

3. L'huître *Crassostrea gigas* et son environnement trophique

3.1. Les sources de matière organique disponibles

Dans les écosystèmes littoraux et estuariens, les sources de matière organique sont multiples car elles proviennent à la fois des apports allochtones et de la production locale (Pocklington & Tan 1987, Héral et al. 1989) (Fig. 8). Ces sources organiques correspondent à la fois à des formes vivantes et détritiques. En plus de leur hétérogénéité liée à leur origine, la matière organique de ces systèmes se caractérise également par une forte abondance. La production primaire moyenne des zones estuariennes est estimée à $2000 \text{ g Cm}^{-2} \text{ an}^{-1}$ (Knox 1986) en comparaison des $155 \text{ g Cm}^{-2} \text{ an}^{-1}$ des océans (Ryther 1969). Les différentes sources de matière organique des écosystèmes littoraux et estuariens sont le plus souvent caractérisées par une importante variabilité spatiale et temporelle. En effet, cette variabilité est largement conditionnée par un hydrodynamisme qui s'exerce à deux échelles de temps différentes : 1) le cycle de marée qui impose quotidiennement aux zones intertidales une succession de phases d'exondation et de submersion et 2) les échelles inter-annuelle et saisonnière liées aux débits fluviaux qui conditionnent les apports de matériel continental. L'analyse de la base de données hydrologiques RAZLEC (Fauray et al. 1999) permet cependant de mettre en évidence les échelles de variation de chaque paramètre hydrologique. La prépondérance des échelles de variabilité saisonnière et inter-annuelle des paramètres liés à la production primaire (Chl *a*) a ainsi été démontrée (Soletchnik et al. 1998, Struski 2005) et représentent près de 75 % de la variabilité totale des séries temporelles.

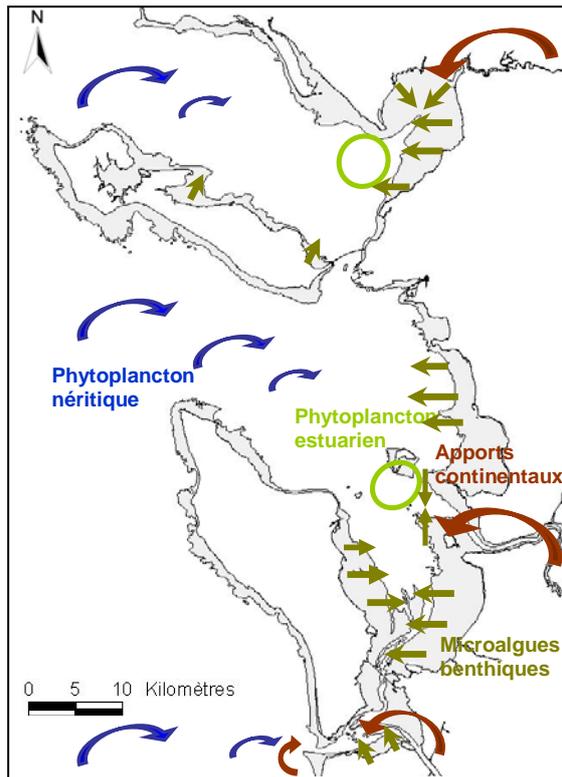


Figure 8. Schéma des apports de matière organique dans les Pertuis Charentais avec : les apports de phytoplanctons néritiques (flèches bleues), de microalgues benthiques (flèches vertes) et continentaux (flèches marrons). Les cercles verts représentent la zone de production du phytoplancton estuarien à l'embouchure des fleuves. La taille des flèches indique la hiérarchie de ces apports.

Les apports allochtones à l'intérieur du système estuarien sont induits par les entrées d'eaux côtières et fluviales. Les eaux côtières entrant par le Pertuis Breton, le Pertuis d'Antioche et en moindre importance par le Pertuis de Maumusson apportent une production primaire néritique au moment des deux périodes de bloom, soit au printemps et à l'automne (Anonyme 2003). Des épisodes de blooms hivernaux, en février et mars, peuvent aussi se déclencher lors de conditions favorables d'éclairement. Ces derniers ont été observés récemment (de 1998 à 2001) et de manière récurrente, par exemple, dans les parties distales des panaches de la Gironde et / ou de la Loire à la fois lors de campagnes océanographiques (Labry et al. 2001) et par l'estimation quantitative de la chlorophylle de surface (Gohin et al. 2003). En période hivernale, un important flux de matériel d'origine continentale est lié aux débits fluviaux plus élevés, les crues de la Charente alimentant principalement le bassin de Marennes-Oléron.

Les principales sources autochtones sont le phytoplancton estuarien produit à l'embouchure des fleuves et le microphytobenthos dans les systèmes à fortes turbidités limitant le développement des macroalgues et halophytes. Cette production phytoplanctonique dépend essentiellement des apports de sels nutritifs associés aux eaux fluviales mais également de la turbidité de ces masses

d'eau (Ravail et al. 1988, Raillard & Ménesguen 1994). La production du microphytobenthos est continue au cours de l'année bien que des biomasses plus importantes soient mesurées au printemps et en automne (Cariou-Le Gall & Blanchard 1995) (Fig. 9). Le microphytobenthos représente les algues unicellulaires qui se développent à la surface des sédiments meubles comme les vasières intertidales (Blanchard & Cariou-Le-Gall 1994). Ce sont principalement des diatomées pennées épipéliques, libres et mobiles, qui peuvent migrer à la surface du sédiment. Elles forment un biofilm de surface lors des périodes d'exondation de jour, pour réaliser la phase claire de la photosynthèse. Leur remise en suspension a été mise en évidence par de nombreux auteurs (de Jonge 1985, de Jonge & Van Beusekom 1992, Zurburg et al. 1994, de Jonge & Van Beusekom 1995), lesquels invoquent deux types de mécanismes pour expliquer la remise en suspension : les vagues générées par le vent et les courants tidaux. S'y ajoutent les interactions maintenant reconnues avec les organismes benthiques découlant de leur activité de bioturbation (Orvain 2002).

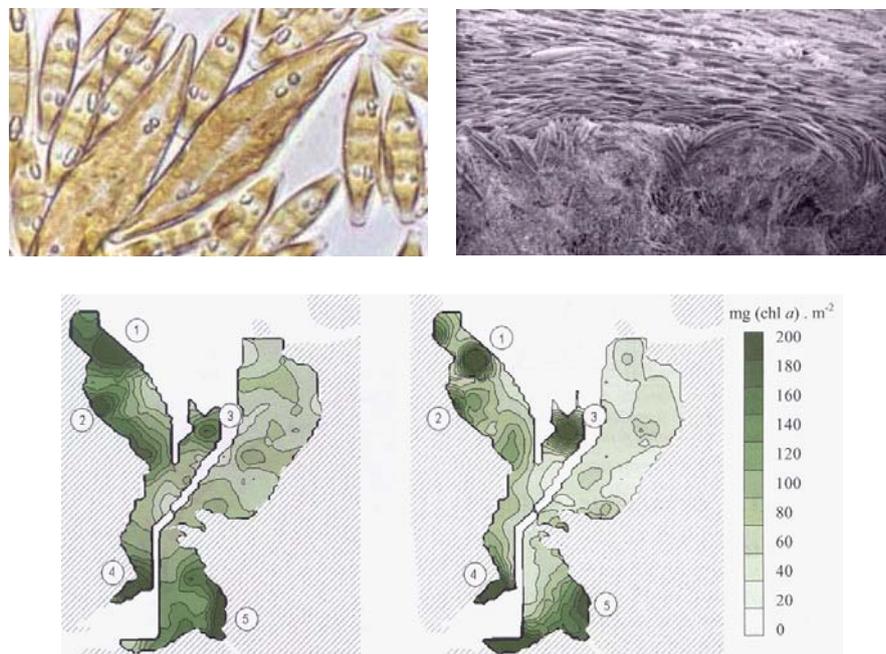


Figure 9. Photos du microphytobenthos des vasières intertidales en microscopie optique (photo de gauche) et en microscopie électronique (photos de droite, D. Gouleau) montrant la constitution d'un biofilm en surface. Cartes krigées de la biomasse de chlorophylle a contenue dans le premier centimètre supérieur du sédiment (Guarini et al. 1998) en juin 1995 (gauche) et en janvier 1996 (droite). Les chiffres de 1 à 5 identifient des zones de production microphytobenthique persistantes.

Dans les milieux littoraux et estuariens, la part du matériel en décomposition est souvent prépondérante au sein du pool de matière organique. La matière organique apportée par les fleuves est majoritairement de nature détritique et provient des débris organiques de la végétation terrestre ainsi que de la production primaire des cours d'eau (Kemp et al. 1990). Par ailleurs une proportion de la production primaire (phytoplancton, macroalgue) produite localement transite également par la voie détritique. L'incorporation de la matière détritique au sein des réseaux trophiques tient au développement d'une communauté bactérienne associée aux processus de décomposition (Kemp et al. 1990). Les bactéries semblent représenter un maillon trophique majeur entre producteur et consommateur primaire dans les zones littorales (Crosby et al. 1990, Langdon & Newell 1990).

3.2. L'huître : un mollusque filtreur suspensivore

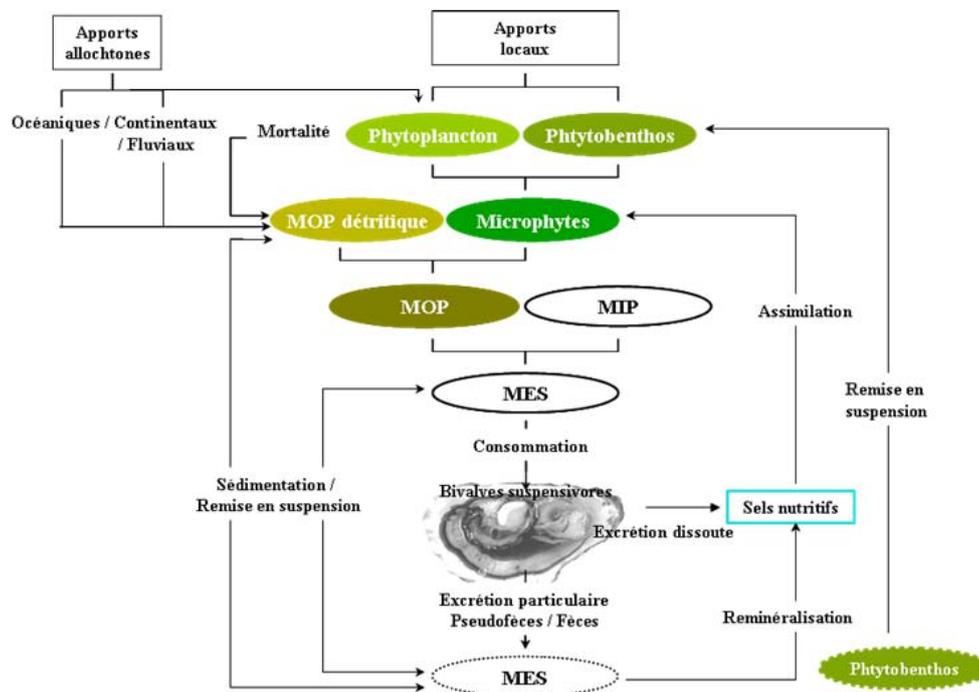


Figure 10. Diagramme simplifié des relations bivalves / matières en suspension dans un modèle d'écosystème conchylicole (modifié d'après Cognie 2001)

Les bivalves filtreurs représentent souvent la composante majeure de la biomasse des écosystèmes littoraux (Dame 1996). Les mollusques sessiles sont contraints à tolérer les conditions environnementales de leur habitat et en particulier leurs caractéristiques trophiques. La disponibilité des divers types de nourriture pour une huître peut ainsi varier selon les périodes de l'année et selon sa localisation sur le littoral, sa position dans la colonne d'eau, sa situation sur l'estran et, par conséquent, son temps d'immersion (Ruesink et al. 2003). Une espèce comme l'huître *Crassostrea sp.* peut donc utiliser des sources nutritives différentes selon les contraintes spatiales et temporelles qui caractérisent son habitat (Berg & Newell 1986, Dame 1996).

Dans ces zones littorales, le seston représente l'ensemble des particules en suspension dans l'eau (la matière particulaire totale MPT somme de la matière organique particulaire MOP et de la matière inorganique particulaire MIP) accessible aux mollusques filtreurs suspensivores (Fig. 10) et offre une gamme très large de particules nutritives potentielles différentes de par leur origine, leur taille, leur qualité et quantité (Dame 1996, Gosling 2003). L'importance du phytoplancton dans la nutrition de l'huître est bien connue (Pastoureaud et al. 1995), mais paradoxalement la production en phytoplancton du bassin de Marennes-Oléron est faible car elle est limitée par une forte turbidité (Héral et al. 1984, Raillard & Ménesguen 1994, Zurburg et al. 1994). *Crassostrea gigas* retient les particules entre 5 et 100 μm (Shumway et al. 1985, Barillé et al. 1993). Or, dans cette classe de taille, plusieurs types de particules vivantes se distinguent, parmi lesquelles les protistes flagellés, dinoflagellés et ciliés, qui constituent un groupe complexe et hétérogène de micro-organismes unicellulaires. Les protistes hétéro/mixotrophes, qui consomment une part importante de la production bactérienne et phytoplanctonique, jouent ainsi un rôle clef dans les écosystèmes littoraux (Le Gall et al. 1997, Dupuy 1999, Dupuy et al. 1999, Dupuy et al. 2000a, Dupuy et al. 2000b). Il a également été montré chez un autre bivalve suspensivore comme la moule *Geukensia alterniflora*, adaptée à une nourriture de plancton vivant et de bactéries libres, qu'elle est également capable de se nourrir de détritits de *Spartina alterniflora* lorsque cette nourriture est disponible sous forme de particules suffisamment petites à hauteur de 80 % de son régime alimentaire (Peterson et al. 1985, Peterson et al. 1986, Kreeger et al. 1988). Des mesures similaires en laboratoire et *in situ*, pour des huîtres prélevées dans les marais à spartines, indiquent que l'huître américaine

Crassostrea virginica s'alimente également de débris de *Spartina alterniflora* (Peterson et al. 1985, Crosby et al. 1989, Crosby et al. 1990, Langdon & Newell 1990).

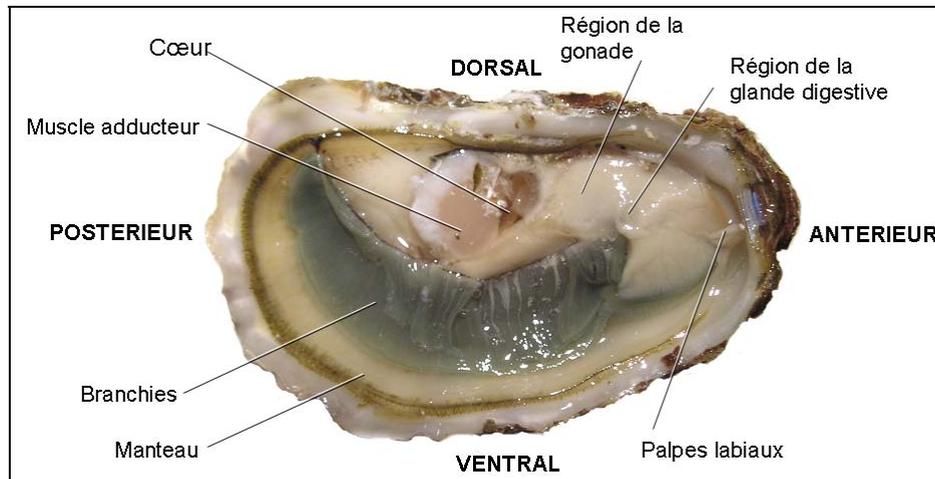


Figure 11. Anatomie de l'huître creuse *Crassostrea gigas*

L'huître, dont l'anatomie est détaillée figure 11, pompe de l'eau dans le milieu environnant avec une intensité qui est fonction du taux d'activité des branchies. L'efficacité de rétention des particules apparaît donc à ce niveau comme un mécanisme important faisant intervenir la taille des particules et conditionne l'ensemble du processus. Avant d'être ingérée (pénétration par la bouche dans le système digestif), une partie du matériel particulaire, trié par les palpes labiaux, est rejetée sous forme de pseudofèces dans un mucus. Ici s'opère une sélection au sein du matériel particulaire, qui se traduit par une ingestion préférentielle de la fraction organique. Les quantités ingérées sont donc sous la dépendance d'une efficacité de sélection. La partie non assimilée du matériel ingéré est ensuite rejetée sous forme de fèces, qui résultent des processus de digestion, en fonction d'une efficacité d'absorption (ou d'assimilation), mais aussi du temps de transit intestinal et du volume stomacal (Barillé 1995). Le reliquat correspondant à la différence entre fraction assimilée et les dépenses métaboliques, estimées par la respiration est utilisé pour la production de soma, de gonades et de sécrétions (coquille, mucus). L'ensemble de ces processus est résumé dans la figure 12.

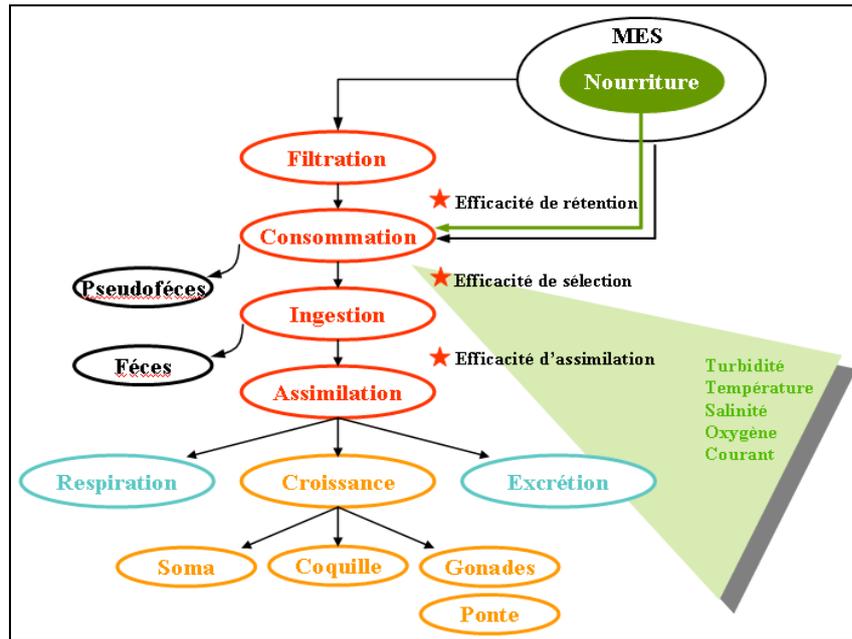


Figure 12. Schéma conceptuel du modèle écophysiologique de l'huître *Crassostrea gigas* (modifié d'après Barillé et al. 1997, Pouvreau 1999)

L'analyse des isotopes stables comme méthode pour caractériser l'origine des flux de matière organique des zones littorales

Ce volet expose les fondements de l'analyse des isotopes stables (AIS), en rappelant dans un premier temps la notion d'isotope et l'expression mathématique de la composition isotopique. L'AIS repose sur l'étude des variations de composition en isotopes stables qui sont autant d'informations sur les processus biologiques sous-jacents. Son application à l'étude des réseaux trophiques repose sur **l'existence de compositions isotopiques caractéristiques des différents groupes de producteurs primaires**, et sur la **conservation de cette composition isotopique au cours des transferts trophiques**.

1. L'expression mathématique de la composition isotopique

Les isotopes sont des éléments chimiques possédant le même nombre d'électrons et de protons, mais un nombre différent de neutrons, ce qui détermine un nombre de masse particulier à chaque isotope. La plupart de ces éléments ont des isotopes stables dont l'un des isotopes est toujours nettement majoritaire par rapport aux autres. Par exemple, pour le carbone et l'azote, l'abondance naturelle moyenne de ^{12}C est 98,89 % et de ^{13}C est 1,11 %, de ^{14}N est 99,63 % et de ^{15}N est 0,37 ‰. Les variations de masse entre les formes isotopiques d'un même élément entraînent des différences pour certaines propriétés physico-chimiques telles que la densité, le volume molaire, la vitesse de réactions enzymatiques, etc. Les isotopes lourds réagissent plus lentement que les isotopes légers dans les réactions chimiques et d'équilibre. Ceci se traduit par un fractionnement et donc un rapport des isotopes stables différent selon les composés, différence qui peut être détectée par un spectromètre de masse de rapport isotopique.

La mesure de la composition isotopique en carbone ou azote de la matière organique est effectuée par spectrométrie de masse de rapport isotopique à flux continu couplée à des analyses

élémentaires (Lajtha & Michener 1994, Peterson 1999). Le spectromètre de masse de rapport isotopique mesure la composition isotopique de gaz purs, obtenus grâce au passage des échantillons dans l'analyseur élémentaire. Les fractions à analyser sont préalablement lyophilisées, décalcifiées, puis broyées. Dans l'analyseur élémentaire, placé en amont du spectromètre, le carbone et l'azote organiques des échantillons solides sont convertis en CO₂ et N₂ par oxydation à l'oxygène dans une atmosphère d'hélium. Les gaz issus de cette combustion sont séparés dans une colonne de chromatographie gazeuse intégrée dans l'analyseur élémentaire, poussés par un flux d'hélium et ionisés dans le spectromètre. Lors du passage du flux d'ions dans un champ électromagnétique, la différence de masse entre isotope conduit à des trajectoires différentes, permettant ainsi leur séparation. Les ions ainsi séparés finissent leurs courses dans des collecteurs réglés pour collecter les masses molaires 44, 45 et 46 pour le CO₂ ou 28, 29 et 30 pour le N₂. L'arrivée des ions génère un signal électrique dépendant de la quantité d'ions dans chaque collecteur. Les variations des abondances isotopiques naturelles sont très faibles. Leurs mesures ne doivent donc pas être affectées par les fluctuations de l'électronique. Elles ne sont donc pas exprimées en valeurs absolues mais en valeurs relatives.

Les compositions isotopiques des échantillons sont comparées à celles de références internationales normalisées par l'Agence Internationale de l'Energie Atomique à Vienne et choisies dans le réservoir terrestre le plus abondant de l'élément mesuré. Pour le carbone, il s'agit du V-PDB (Pee-Dee Belemnite), rostre de bélemnite fossile (*Belemnita americana*) provenant de la Pee Dee Formation aux Etats-Unis. Les teneurs isotopiques en azote sont, quant à elles, exprimées par rapport à l'azote atmosphérique N₂ (Mariotti 1983). Ce principe de mesure introduit l'utilisation de l'unité relative delta (δ) (unité : ‰), différence relative de rapport isotopique entre l'échantillon et la référence :

$$\delta^A X = ((R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1) * 10^3 (\text{‰})$$
, avec A la masse atomique de l'isotope lourd de l'élément X et R = ¹³C/¹²C pour le carbone et ¹⁵N/¹⁴N pour l'azote.

2. Caractérisation des sources de matière organique

L'identification des sources est essentielle pour estimer leurs contributions aux transferts de matière organique. Il a été observé de grandes variations de la composition isotopique naturelle entre les différents groupes de producteurs primaires, ce qui permet de les discriminer clairement (Stephenson & Lyon 1982, Tan & Strain 1983, Fry & Sherr 1984, France 1995b, Riera 1998, Riera et al. 1999). La composition isotopique des producteurs primaires sur le carbone dépend essentiellement de deux facteurs (Lajtha & Marshall 1994), la composition isotopique du carbone inorganique fixé et le type de biosynthèse utilisé C₃, C₄ et CAM pour fixer les éléments minéraux. Sur l'azote, la composition isotopique est surtout liée à la forme d'azote fixé.

□ Composition isotopique du carbone inorganique dissous (CID).

Les plantes terrestre utilisent le CO₂ atmosphérique, avec un $\delta^{13}\text{C}$ constant d'environ -7 ‰, pour synthétiser une matière organique de composition isotopique voisine de -28 ‰ sur le carbone. Un fractionnement isotopique équivalent se retrouve chez les organismes phytoplanctoniques océaniques des régions tempérées dont le mécanisme de photosynthèse identique, utilise le carbone inorganique dissous (CID) dont le $\delta^{13}\text{C}$ est égal à 0 ‰. Leur $\delta^{13}\text{C}$ est alors proche de -21 ‰ (Sackett & Moore 1966). La composition isotopique de l'ensemble de la végétation aquatique est conditionnée par la composition isotopique du CID. Le CID montre des rapports isotopiques très variables depuis les eaux douces fluviales avec un $\delta^{13}\text{C}$ compris entre -5 et -15 ‰, jusqu'aux eaux marines où sa valeur est proche de 0 ‰ (Tan & Strain 1983).

□ Cycles biochimiques utilisés au cours de la synthèse de la matière organique.

Le caractère plus ou moins fractionnant des enzymes utilisées au cours de la synthèse de la matière organique peut également engendrer de fortes variations de la composition isotopique. Lors de la photosynthèse, deux types principaux sont classiquement considérés en fonction de l'enzyme utilisée pour la fixation initiale du carbone : 1) celui de la ribulose – 1, 5 – biphosphate (RuBP)

carboxylase pour le cycle en C₃ de Calvin et 2) celui qui utilise la phosphoenolpyruvate (PEP) carboxylase pour le cycle en C₄ de Hatch – Slack. Des études *in vitro* menées à l'échelle des enzymes ont montré un fractionnement maximum de -29 ‰ (Lajtha & Marshall 1994) de la RuBP alors que le fractionnement isotopique entre le CO₂ dissous et le carbone organique algal est de l'ordre de 6 ‰ dans le cas des organismes photosynthétiques en C₄ utilisant la PEP.

□ Fixation de l'azote par les producteurs primaires

Comme pour le carbone, la signature $\delta^{15}\text{N}$ des producteurs primaires couvre une large gamme et dépend de la signature de la source azotée inorganique utilisée (Waser et al. 1998) et du fractionnement lors de la fixation. Les sources d'azote utilisées par les végétaux sont variées (azote atmosphérique, ammonium, nitrates, urée) et de nombreux processus sont susceptibles d'affecter la signature des sources inorganiques : processus microbien de nitrification, dénitrification, apports anthropiques. Le fractionnement isotopique dépend de la croissance algale et de la nature du substrat utilisé (Lajtha & Marshall 1994).

Par la combinaison de ces mécanismes, les producteurs primaires des milieux terrestres, dulçaquicoles, océaniques ou des marais maritimes ont le plus souvent des signatures isotopiques en carbone clairement distinctes, dans une large gamme de variations des $\delta^{13}\text{C}$ entre -40 et -5 ‰. La connaissance des $\delta^{13}\text{C}$ permet donc d'estimer leurs contributions respectives au pool de matière organique particulaire des milieux littoraux. Dans les systèmes estuariens, les $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique particulaire attribuée aux apports terrestres sont généralement compris entre -31 et -26 ‰ (Hackney & Haines 1980, Tan & Strain 1983, Simenstad & Wissmar 1985, Conkright & Sackett 1986, Cai et al. 1988, Faganeli et al. 1988, Riera & Richard 1997, Middelburg & Nieuwenhuize 1998). A l'opposé, la matière organique particulaire marine dominée par le phytoplancton montre un $\delta^{13}\text{C}$ plus enrichi variant de -22 à -19 ‰ (Fontugne & Duplessy 1981, Gearing et al. 1984, France 1995b, Savoye et al. 2003). Cependant, certaines sources de matière ne peuvent être différenciées sur la base d'un simple isotope. C'est le cas de la production primaire

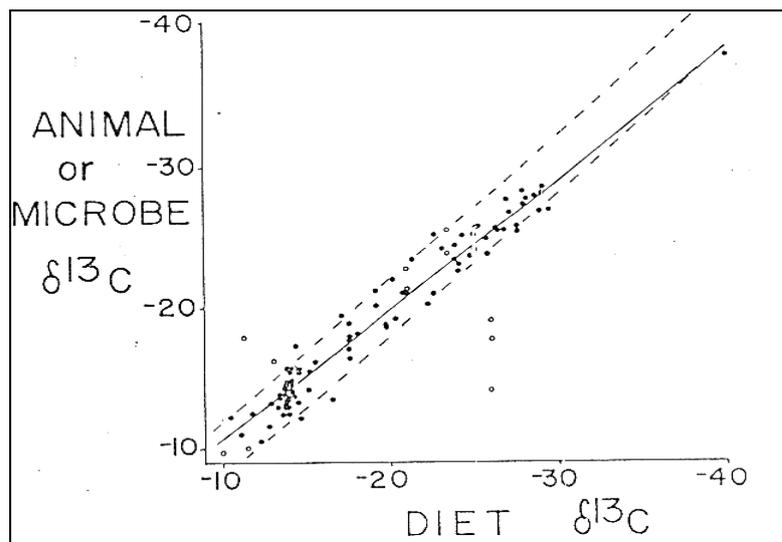
des zones intertidales avec les macroalgues, le microphytobenthos et les phanérogames marines. Elle peut alors être facilement discriminée des autres producteurs primaires grâce à l'utilisation combinée des ratios isotopiques du carbone et de l'azote voir du soufre (Peterson et al. 1985, Peterson et al. 1986, Fry 1988, Currin et al. 1995, Machás & Santos 1999, Kharlamento et al. 2001). Les valeurs des $\delta^{13}\text{C}$ sont autour de -20 ‰ pour les macroalgues et entre -18 et -13 ‰ pour le microphytobenthos et plus enrichie pour les phanérogames marines (Haines 1976, Kwak & Zedler 1997, Riera et al. 1999, Yokoyama & Ishihi 2003, Cook et al. 2004). Les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ s'échelonnent de 4 à 6 ‰ pour le phytoplancton et le phytobenthos alors que celles des macroalgues et phanérogames marines sont de l'ordre de 10 ‰.

La composition isotopique des producteurs primaires reflète les conditions environnementales. A l'intérieur d'un bassin estuarien, le gradient entre l'estuaire et la mer ouverte agit fortement sur la concentration et sur la composition isotopique des sources inorganiques. Les processus de nitrification et de dénitrification microbien présents dans les systèmes estuariens influencent largement les formes d'azote disponibles pour les végétaux et, en particulier, le phytoplancton. De plus, l'activité photosynthétique des microalgues et par conséquent leur demande en nutriment, diffère selon leur capacité de renouvellement cellulaire, leurs stades de croissance (phase de latence, exponentielle et sénescence) ou de décomposition et les cycles de succession spécifique. Les origines et les processus d'incorporation des formes inorganiques fixées signent la composition isotopique des producteurs primaires. L'apport de différents producteurs primaires à la colonne d'eau contribue également à la variabilité isotopique de pool de matière organique en suspension. De plus, il est difficile d'isoler le phytoplancton des autres particules (bactéries, protistes, détritiques). On entrevoit alors dans quelle mesure un suivi temporel fin de la composition isotopique de la matière particulaire organique en suspension dans la colonne d'eau peut constituer un outil puissant de traçage de l'origine des sources au pool de matière organique.

3. Relation entre la composition isotopique d'un consommateur et de sa nourriture

Divers travaux ont révélé qu'un animal ou un microorganisme hétérotrophe présente une composition isotopique très proche de celle de sa nourriture (DeNiro & Epstein 1978, Estep & Dabrowski 1980, DeNiro & Epstein 1981, Fry & Arnold 1982). Alors que les processus métaboliques modifient la composition biochimique des éléments assimilés, la composition isotopique naturelle est généralement préservée et peut donc servir de traceur. Il existe toutefois une légère différence entre l'animal et sa nourriture, le consommateur étant généralement enrichi en isotope lourd par rapport à sa nourriture, bien qu'il existe une certaine incertitude de part et d'autre de l'isoline 1 : 1 (Fig. 13).

Figure 13. Relation entre un organisme et son régime alimentaire. Les valeurs sont obtenues pour des animaux et des microorganismes. Ces données résument des études réalisées in situ et en laboratoire dans lesquelles le régime alimentaire ou la source de carbone organique est connue (DeNiro & Epstein 1978, Fry & Sherr 1984).



Les isotopes d'un même élément ont les mêmes propriétés chimiques, mais la différence de masse, qui dépend du nombre de neutrons dans le noyau de l'atome, engendre des propriétés cinétiques légèrement différentes. Les isotopes d'un même élément participent aux mêmes réactions chimiques mais la vitesse de réaction ou les concentrations à l'équilibre thermodynamique seront plus ou moins grandes selon qu'il s'agit des isotopes légers ou lourds. En définitive, toutes les réactions biochimiques impliquées dans les processus d'incorporation de la

nourriture sont susceptibles d'induire un fractionnement. A l'échelle de l'organisme, l'ensemble de ces fractionnements (Hobson & Clark 1994b, Yokoyama et al. 2005) est masqué et contenu dans une « différence isotopique apparente » entre les tissus du consommateur et le régime alimentaire. Je choisirai donc d'utiliser, selon les recommandations de Pearson et al. (2003), le terme différence, discrimination consommateur - nourriture ($\Delta \delta^{13}\text{C}$ et $\Delta \delta^{15}\text{N}$) ou enrichissement trophique à la place du terme fractionnement généralement utilisé.

- Discrimination entre la composition isotopique du consommateur et sa source de nourriture sur le carbone.

De Niro & Epstein (1978) ont analysé les relations entre la signature isotopique de la nourriture et celle des consommateurs à plusieurs échelles : corps entier de l'animal, tissus et enfin fractions biochimiques (protéines, lipides et glycogène). L'analyse a été menée sur 13 espèces d'animaux (des arthropodes aux vertébrés supérieurs) élevées en laboratoire avec des aliments de composition isotopique connue et constante. La composition isotopique de l'ensemble du corps de l'animal reflétait la composition isotopique de leur nourriture, avec un enrichissement moyen en ^{13}C de $0,8 \pm 1,1\%$. Le $\delta^{13}\text{C}$ du corps de l'animal fournit donc une information sur le $\delta^{13}\text{C}$ de la nourriture. En contrepartie, le carbone provenant de la nourriture qui est perdu par respiration est, selon la loi des équilibres de masse, très légèrement appauvri en ^{13}C . A l'échelle des fractions biochimiques, la composition en isotopes du carbone des protéines est proche de celle de la nourriture tandis que celle des lipides est significativement appauvrie en éléments lourds. Ces différences résultent des processus d'anabolisme. Peu d'acides aminés sont synthétisés *de novo* dans les tissus du prédateur. La majeure partie des acides aminés provient de la nourriture et ceux-ci ne subissent donc que peu de transformations métaboliques : leur composition isotopique est conservative. Au contraire, les voies de néosynthèses lipidiques sont nombreuses et des fractionnements isotopiques peuvent se produire lors de certaines étapes de cette synthèse. Si certains acides gras essentiels sont issus exclusivement de la nourriture, d'autres acides gras sont synthétisés *de novo* à partir des autres fractions biochimiques. La multiplication des étapes métaboliques dans la synthèse *de novo* des lipides contribue à les appauvrir en ^{13}C . Ainsi, les

relations entre la composition isotopique en carbone des tissus analysés séparément et celle de la nourriture dépendent de la composition biochimique de ces tissus : les tissus les moins gras ont une composition isotopique proche de celle de la nourriture.

De Niro & Epstein (1977, 1978) ont jeté les bases de l'étude isotopique des réseaux trophiques, en montrant la transmission de la signature isotopique en carbone le long des chaînes trophiques. Les résultats de cette étude fondatrice ont encouragé de nombreuses AIS en laboratoire et/ou en milieu naturel, qui ont fourni des mesures isotopiques pour de nombreux couples prédateurs-proies. Une des critiques majeures de l'AIS concernait la signification de la différence isotopique entre l'animal et sa nourriture, établit en laboratoire, sur un nombre limité d'espèces. Post (2002) et Mc Cutchan et al (2003) ont mené des études statistiques à partir des compositions isotopiques de, respectivement, 107 et 111 couples prédateurs-proies recensés dans la littérature. Les valeurs moyennes d'enrichissement isotopique sur le carbone estimées par les deux études sont similaires avec $0,39 \pm 1,3 \text{ ‰}$ pour Post (2002) et $0,5 \pm 1,3 \text{ ‰}$ pour Mc Cutchan et al. (2003), et d'autre part du même ordre que celle trouvée expérimentalement par De Niro & Epstein (1978). L'étude statistique de Vander Zanden & Rasmussen (2001) recense 42 valeurs de « fractionnement » isotopique estimés à partir de 22 études *in situ* et en laboratoire sur 20 espèces aquatiques marines et d'eau douce. Les auteurs estiment en moyenne un enrichissement en ^{13}C de $0,5 \pm 1,2 \text{ ‰}$. Il existe cependant une différence entre les herbivores et carnivores avec $-0,4 \pm 1,1 \text{ ‰}$ et $0,9 \pm 1,0 \text{ ‰}$ respectivement. On considère toutefois traditionnellement qu'au cours d'une transition trophique prédateur - proie, l'enrichissement en isotope lourd ^{13}C est faible, mais qu'il peut exister des différences spécifiques.

- Discrimination entre la composition isotopique du consommateur et sa source de nourriture sur l'azote.

Des études similaires (DeNiro & Epstein 1981, Minagawa & Wada 1984) ont été menées sur le devenir de la signature $\delta^{15}\text{N}$ dans les réseaux trophiques. Si les producteurs primaires montrent des signatures très variables, les consommateurs, zooplancton, poissons et oiseaux dans l'étude de Minagawa & Wada (1984) montrent un enrichissement en ^{15}N en moyenne similaire à

chaque niveau trophique. Le $\delta^{15}\text{N}$ permet de suivre uniquement le devenir des protéines (contrairement au $\delta^{13}\text{C}$) de la proie au prédateur, puisqu'il s'agit des seuls constituants biochimiques comportant de l'azote. Le pas d'enrichissement unitaire en ^{15}N est de $3,4 \pm 1,1\text{‰}$ (DeNiro & Epstein 1981). La balance isotopique est conservée par l'appauvrissement en ^{15}N des produits d'excrétion azotée. L'analyse de la composition isotopique de l'excrétion ammoniacale de poissons guppys en laboratoire a conduit à la conclusion que l'enrichissement en ^{15}N du prédateur était compensé par l'excrétion préférentielle de ^{14}N au cours de la transamination et désamination des protéines (Minagawa & Wada 1984). L'étude statistique de Post (2002) sur 56 couples prédateurs proies aboutit à un enrichissement trophique en ^{15}N d'une valeur moyenne similaire ($3,4 \pm 0,98 \text{‰}$) à celle des études de De Niro & Epstein (1981). Post (2002) n'observe aucune différence significative entre herbivores et carnivores. Par contre, Mc Cutchan et al. (2003) estiment la valeur de l'enrichissement trophique à $2,0 \pm 1,8 \text{‰}$ sur 83 couples proies-prédateurs et détectent des différences de fractionnements trophiques selon le type d'alimentation (invertébrés, végétaux, alimentation à haute teneur protéique). L'étude statistique de Vander Zanden & Rasmussen (2001) sur les organismes aquatiques estime un enrichissement trophique en ^{15}N de $2,9 \pm 1,8 \text{‰}$ et montre des différences significatives selon le régime alimentaire avec $2,5 \pm 2,5 \text{‰}$ chez les herbivores et $3,2 \pm 0,4 \text{‰}$ chez les carnivores.

Puisque la composition isotopique des prédateurs peut être prédite par la composition isotopique de la nourriture, la principale source naturelle de variabilité de composition isotopique dans l'environnement se situe à la base des réseaux trophiques, au niveau des producteurs primaires (Lajtha & Michener 1994).

Les incertitudes sur cette différence isotopique consommateur - nourriture intimement liée à l'espèce et à son mode de nutrition m'ont conduit à mettre en place des expérimentations dans le but de mesurer précisément cette différence isotopique chez l'huître en condition naturelle et selon les tissus. Avec pour objectif de retracer les flux trophiques entre les producteurs primaires et le consommateur suspensivore, l'huître, il apparaît évident d'étudier le devenir des isotopes du carbone et de l'azote lors de cette transition trophique.

4. Application de l'analyse des isotopes stables (AIS) à l'étude des transferts trophiques dans les systèmes littoraux et le bassin de Marennes-Oléron

L'AIS présente donc l'avantage de fournir une mesure de la matière organique réellement assimilée et incorporée dans les tissus d'un consommateur en milieu naturel. La composition isotopique des sources se transmet le long de la chaîne alimentaire et signe, à chaque niveau trophique, la provenance du carbone. Les ratios isotopiques révèlent ainsi l'utilisation par l'animal d'une source spécifique parmi de nombreuses sources nutritives potentielles, et reflète le niveau de sélectivité plus ou moins prononcé de son alimentation. Inversement, ils peuvent rendre compte de la capacité d'une espèce à utiliser des sources de matière organique de natures et d'origines différentes et ainsi de mettre en évidence la diversité de son alimentation (Fry et al. 1987). De plus, l'enrichissement en ^{15}N des organismes à chaque niveau trophique permet de positionner un organisme dans le réseau trophique. La combinaison des deux indicateurs permet de fournir, par conséquent, une identification des flux majeurs dans le réseau trophique. Dans les écosystèmes littoraux et malgré leur complexité, l'AIS s'est révélée concluante (Hackney & Haines 1980, Fry et al. 1984, Canuel et al. 1995, Bouillon et al. 2000, Bouillon et al. 2002, Doi et al. 2005).

En particulier pour l'huître des Pertuis Charentais, les travaux récents de Riera & Richard (1996, 1997) et Riera (1998) ont permis de caractériser les multiples sources de matière organique présentes le long d'un gradient continent – océan de l'estuaire de la Charente à l'île de Ré et d'évaluer leurs voies privilégiées d'utilisation au sein du réseau trophique. Riera & Richard (1997) et Riera (1998) ont mis en évidence un gradient de composition isotopique marqué par un enrichissement progressif en ^{13}C , depuis les eaux douces fluviales de la Charente jusqu'aux eaux océaniques de la pointe de l'île de Ré. Ils ont également mis en évidence la capacité de l'huître *Crassostrea gigas* à s'alimenter à partir 1) d'une matière organique d'origine terrestre lorsque l'huître vit dans des habitats soumis à de forts apports de ce type ou lorsque la contribution des microalgues au pool de matière organique est extrêmement réduite (Riera & Richard 1997), 2) du

microphytobenthos lorsque l'huître est située à proximité d'une vasière intertidale génératrice de microphytobenthos et 3) de phytoplancton marin à l'extrême ouest de l'île de Ré.

Riera & Richard (1997) ont également pour la première fois mis en concordance l'évolution temporelle de la composition isotopique de la matière organique particulaire avec celle de l'huître (animal entier) durant la même période et examiné la notion de temps d'intégration de la composition isotopique. Cependant, cette démarche préliminaire nécessite d'être approfondie grâce à une description fine des processus de renouvellement isotopique tissulaire qui conduit à l'intégration temporelle des sources de nourriture.

**PARTIE 1. CARACTERISATION HYDROLOGIQUE ET
ISOTOPIQUE DU MILIEU NUTRITIONNEL**

Chapitre 1.

**Caractérisation de la variabilité saisonnière et interannuelle de
la composition isotopique du seston de la baie de Marennes-
Oléron : utilisation des isotopes stables du carbone et de l'azote.**

Chapitre 1. Caractérisation de la variabilité saisonnière et interannuelle de la composition isotopique du seston de la baie de Marennes-Oléron : utilisation des isotopes stables du carbone et de l'azote.

1. Introduction

Les difficultés à caractériser l'origine de la matière organique augmentent progressivement des systèmes marins ouverts (Michener & Schell 1994) où l'unique source de matière organique est le phytoplancton (McConnaughey & McRoy 1979), jusqu'aux systèmes de plus en plus complexes tels que les lacs (Grey et al. 2001), les rivières (Raikow & Hamilton 2001), les systèmes côtiers et les estuaires (Peterson et al. 1985, Kwak & Zedler 1997, Cloern et al. 2002). En effet, dans un estuaire, le pool de matière organique dans la colonne d'eau résulte d'un mélange de diverses sources incluant des apports allochtones, comme la matière organique d'origine continentale, le phytoplancton marin, et des apports autochtones, comme le phytoplancton produit localement ainsi que la production des vasières intertidales avec le microphytobenthos mais également les débris de macrovégétaux, macroalgues et plantes marines.

L'utilisation des isotopes stables a permis d'identifier ces sources et les processus de mélange de la matière organique au sein des environnements côtiers et estuariens (Simenstad & Wissmar 1985, Cifuentes et al. 1996). Les ratios isotopiques du carbone permettent de discriminer la matière organique d'origine terrestre appauvrie en ^{13}C de la matière organique d'origine marine plus enrichie. Ces ratios ont été largement utilisés dans l'étude des sources de matière organique estuarienne (Fry & Sherr 1984, Gearing et al. 1984). Cependant, les contributions relatives de chacune de ces sources continentale et marine, ont été plus précisément estimées grâce à de nombreuses études suivant un gradient entre l'amont et l'aval des estuaires (Shultz & Calder 1976, Cai et al. 1988, Cifuentes et al. 1988, Riera & Richard 1996, Middelburg & Nieuwenhuize 1998,

De Brabandere et al. 2002). Toutefois, il reste souvent difficile d'élucider les processus biochimiques et géochimiques complexes qui s'exercent au sein des estuaires (Mariotti et al. 1984, De Brabandere et al. 2002), surtout si le pool de matière organique est constitué par plus de deux sources (Middelburg & Nieuwenhuize 1998, Cloern et al. 2002). Il convient donc de combiner l'analyse isotopique à d'autres mesures qui permettront de décrire les processus, de réduire les ambiguïtés sur l'origine des sources et l'évolution de celles-ci et par conséquent de valider ou d'invalider l'hypothèse de la contribution d'une de ces sources au pool de matière organique estuarien (Fry & Sherr 1984). Les isotopes stables peuvent être associés aux ratios C/N (Thornton & McManus 1994, Middelburg & Nieuwenhuize 1998, Hellings et al. 1999, Cloern et al. 2002), POC/Chl *a* (Cifuentes et al. 1988) ou à l'utilisation de biomarqueurs organiques (Canuel et al. 1995, Goñi et al. 2003).

Cette étude s'attachera à caractériser l'origine et le devenir de la matière organique au sud de la baie de Marennes-Oléron grâce à de multiples indicateurs de la composition de la matière organique (seston, matière organique particulaire, chloropigments, C/N, POC/Chl *a*), à une description du peuplement de microalgues couplés à l'analyse de la composition isotopique de la matière organique. En effet, la description de la dynamique du peuplement de microalgues dans la colonne d'eau permettra d'affiner la caractérisation biochimique du pool de matière organique. Celui-ci se compose de phytoplancton produit localement, de phytoplancton néritique et / ou océanique advecté mais également de microalgues benthiques remises en suspension. La participation des peuplements microalgaux benthiques à la production de la colonne d'eau est un phénomène fréquemment recensé dans la littérature (Shaffer & Sullivan 1988, de Jonge & Van Beusekom 1992, 1995), mais quantifier la contribution de ces différentes sources de microalgues à la colonne d'eau reste une difficulté. L'une des approches les plus fréquemment utilisée est la distinction des microalgues benthiques des microalgues pélagiques par une approche taxonomique. Les microalgues sont subdivisées en différentes catégories selon leur affinité avec les environnements benthiques ou pélagiques (Lucas et al. 2001). La majeure partie des microalgues benthiques est constituée de diatomées pennées, mais ceci n'implique pas que toutes les diatomées

pennées présentes dans la colonne d'eau proviennent du compartiment benthique (Guarini et al. 2004). Nous utiliserons donc dans cette étude, un critère typologique afin de mieux discriminer les microalgues benthiques. A chaque espèce est attribuée une affinité pour le compartiment benthique ou pélagique selon la répartition généralement admise dans la littérature (Drebes 1974, Sournia 1986, Ricard 1987).

La baie de Marennes-Oléron est l'une des plus importantes régions ostréicoles d'Europe (Gouletquer & Le Moine 2002). Ce bassin ostréicole est caractérisé par une turbidité élevée (Héral et al. 1984) qui limite la production primaire phytoplanctonique (Raillard & Ménesguen 1994, Zurburg et al. 1994). Cette production primaire est principalement soutenue par les apports en nutriments du fleuve Charente (Ravail et al. 1988) situé à l'est de la baie. Cependant, une part considérable de la chlorophylle *a* présente dans la colonne d'eau est attribuée à la remise en suspension du microphytobenthos, principalement des diatomées benthiques, produit à la surface des vasières intertidales (Prou et al. 1994, Zurburg et al. 1994, Guarini et al. 1998) qui représentent 60 % de la superficie du bassin de Marennes-Oléron. Les travaux de Galois et al. (1996), Riera (1998), Richard et al. (1997) et Riera et Richard (1996) ont permis de caractériser les pools de matières organiques et leurs compositions isotopiques, selon un gradient Charente/mer ouverte mais il n'existe aucune autre étude isotopique sur le bassin de Marennes-Oléron exceptées celles de Kang et al. (1999) et Sauriau & Kang (2000) pour le sud du bassin. La configuration géographique en « fond de baie » et les particularités hydrobiologiques qui s'y exercent, marée, courant résiduel nord – sud (Héral et al. 1984, Soletchnik et al. 1998), en font pourtant une zone à fort intérêt pour la culture de l'huître (Soletchnik et al. 1998, Dègrémont et al. 2005).

Notre étude s'inscrit donc dans une démarche scientifique globale qui tend à clarifier la dynamique des flux de matière organique des systèmes aquatiques complexes en 1) discriminant les différentes sources organiques puis 2) en caractérisant les échelles de variation de leurs contributions relatives au pool de matière organique. La baie de Marennes-Oléron est un excellent modèle pour ce type de problématique. L'ensemble des paramètres biochimiques, isotopiques et de

description des communautés microalgales, mesuré selon un cycle biannuel et un pas de temps bimensuel nous permettrons de comprendre la variabilité hydrobiologique du sud de la baie de Marennes-Oléron.

2. Matériels et méthodes

2.1. Site d'étude

La baie de Marennes-Oléron est située sur la côte atlantique au nord de l'estuaire de la Gironde (Fig. 14). Elle a une superficie de 180 Km² dont 110 Km² de zones intertidales et est bordée au nord par l'estuaire de la Charente, au sud par celui de la Seudre et à l'ouest par l'île d'Oléron. Des deux rivières se déversant dans la baie, la Charente est la plus importante avec un débit de 0 à 470 m³ s⁻¹ (Ravail et al. 1988, Struski 2005) alors que la Seudre n'a qu'un débit de 0 à 40 m³ s⁻¹ (Soletchnik et al. 1998). Les eaux marines entrent dans la baie par le Pertuis d'Antioche au nord et le Pertuis de Maumusson au sud. Pendant les périodes de forts débits de l'estuaire de la Gironde, les eaux peu salines peuvent entrer dans la baie à la fois par le Pertuis de Maumusson et le Pertuis d'Antioche. De plus, la période de janvier à mars 2002 est caractérisée par des débits fluviaux en moyenne de 593 ± 277 m³s⁻¹ pour la Gironde et de 49 ± 16 m³s⁻¹ pour la Charente en comparaison de la même période en 2003 à laquelle les débits sont deux fois plus élevés (Fig. 15). Le temps de résidence des masses d'eau varie entre 4 à 10 jours sous l'influence des vents et des régimes tidaux (Raillard & Ménesguen 1994). L'amplitude maximale des marées est de 6,5 m. Localement les courants de marée contribuent au mélange des masses d'eau et à une forte turbidité quelle que soit la saison (Héral et al. 1984, Zurburg et al. 1994). Sous l'action des vents et clapots, l'érosion des vases intertidales de la baie de Marennes-Oléron (Raillard et al. 1994) contribue à la remise en suspension du biofilm microalgal (Guarini et al. 1998). La moyenne des salinités de la baie varie entre 28 et 33 (Soletchnik et al. 1998).

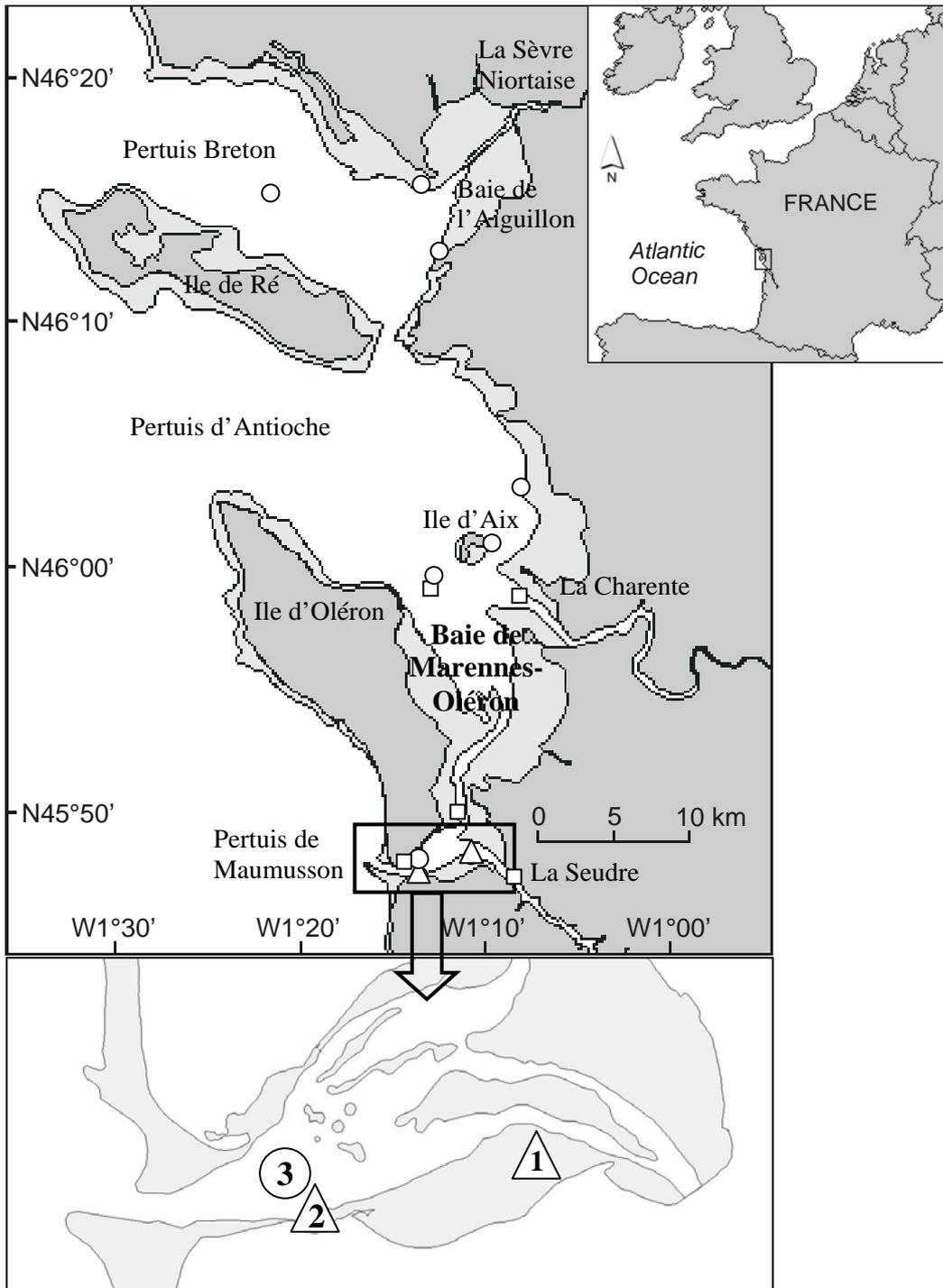


Figure 14. Situation géographique de la baie de Marennes-Oléron et des stations d'échantillonnage 1 : vasière de Ronce-les-Bains, 2 : plage sableuse de l'Embellie (triangles), 3 : stations d'échantillonnage du phytoplancton, Auger REPHY. Les stations REPHY des Pertuis Charentais sont représentées par des cercles et les stations RAZLEC de Marennes-Oléron par des carrés (Voir le détail chapitre 6).

2.2. La matière particulaire en suspension

Les échantillons d'eau ont été prélevés sur le site ostréicole de l'estran sablo-vaseux de Ronce-les-Bains et la plage sableuse de l'Embellie située près du Pertuis de Maumusson (Fig. 14) dans le but d'établir une comparaison entre ces deux stations selon la nature du sédiment et l'éloignement aux entrées d'eaux marines. Les échantillons d'eau ont été collectés deux fois par mois de mars 2002 à décembre 2003 pendant les deux premières heures du flot. Cette méthode d'échantillonnage a été choisie afin de prendre en considération la remise en suspension maximale du microphytobenthos de l'estran. La salinité et la température ont été mesurées *in situ*. Cinq litres d'eau de surface ont été échantillonnées puis pré-filtrées sur un filet en nylon de vide de maille de 100 μm afin d'ôter le zooplancton et les débris végétaux. La matière particulaire totale en suspension (MPT) a été déterminée après filtration sur filtres calcinés Whatman GF/C puis séchage à l'étuve 24 heures à 60°C. La matière inorganique particulaire (MIP) a été mesurée après calcination des filtres 4 heures à 450°C. La matière organique particulaire (MOP) en suspension a été déduite par différence entre la MPT et la MIP. La chlorophylle *a* a été extraite à l'acétone après filtration sur filtres Whatman GF/C selon la méthode de Holm-Hansen & Riemann (1978) et sa concentration a été mesurée avec un fluorimètre à la longueur d'onde de 665 nm. Un dernier échantillon d'eau a été filtré sur filtre préalablement calciné Whatman GF/C puis congelé jusqu'à l'analyse isotopique de la matière organique particulaire.

2.3. Phytoplancton et microphytobenthos

Le microphytobenthos a été prélevé par raclage des 5 premiers millimètres du sédiment à marée basse. Les microalgues pures ont été extraites du sédiment grâce à leur migration ascendante à marée basse selon la méthode de Paterson & Crawford (1986). Le sédiment a été étalé régulièrement dans un plateau sur 1 cm d'épaisseur puis recouvert de trois filets en nylon de vide de maille de 100 μm . Le plateau a été placé à température ambiante et exposé à la lumière naturelle. Le lendemain, les diatomées épipéliques ont migré (à l'heure de la marée basse). Le filet

supérieur, sur lequel se trouvent les diatomées épipéliques, a été rincé par de l'eau de mer filtrée sur filtre GF/C afin de collecter les microalgues.

Le phytoplancton a été échantillonné à la station REPHY de Auger, située au sud de la Baie de Marennes-Oléron (Fig. 14). Cette station fait partie du réseau de surveillance IFREMER REPHY que nous utiliserons afin de décrire la dynamique des communautés phytoplanctoniques (Gailhard et al. 2002). Le REPHY (REseau de surveillance du PHYtoplancton) a été créé par l'IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer) en 1984 afin de surveiller les changements des communautés phytoplanctoniques et les événements toxiques pouvant affecter la santé humaine. Les organismes microalgaux vivants ont été identifiés de la classe à l'espèce et comptés (nombre de $c\ l^{-1}$). Les échantillons d'eau REPHY ont été prélevés à 0,5 et 1 m sous la surface, deux fois par mois et chaque semaine durant les périodes de risque toxique (de mai à juin) avec une bouteille NISKIN (Model 1010 - Vol 2.5 l). Deux litres d'eau ont été nécessaires à l'identification taxonomique. Les échantillons microalgaux ont été conservés dans une solution de lugol (0,1 %). 10 ml ont été placés dans la chambre à phytoplancton 4 heures afin que les microalgues sédimentent. L'échantillon a été ensuite identifié et les cellules microalgales comptées à l'aide d'un microscope inversé (Olympus IMT 2, Olympus, Japan), muni de deux lentilles 20X et 40X.

A chaque espèce phytoplanctonique est attribuée une typologie écologique en relation avec son affinité pour le compartiment pélagique ou benthique (Drebes 1974, Sournia 1986, Ricard 1987). La biomasse phytoplanctonique pélagique néritique est constituée majoritairement par des diatomées avec les genres *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Leptocylindrus*, *Thalassiosira*, *Pseudonitzschia*, *Asterionella* et par des dinoflagellés avec les genres *Gymnodinium*, *Prorocentrum* et *Scrippsiella*; les diatomées benthiques sont représentées majoritairement par les genres *Thalassionema*, *Fragilaria*, *Paralia*, *Plagiogramma*, *Navicula* et dans de moindres proportions par *Raphoneis*, *Pleurosigma*, *Gyrosigma*, *Synedra*, *Triceratium*, *Diploneis*, *Thalassonema*, *Biddulphia*, *Bacillaria*, *Actinoptychus*, *Melosira* et *Grammatophora*.

2.4. Mesure de l'azote et du carbone organique particulaire

Les filtres chargés de matière particulaire ont été acidifiés avec des vapeurs d'acide HCl 2N afin d'ôter les carbonates puis conservés congelés jusqu'à analyse (Richard et al. 1997, Lorrain et al. 2003). La matière particulaire a été récupérée en grattant la surface du filtre et placée dans des capsules d'étain. Tous les prélèvements d'une même station ont été analysés successivement avant de procéder à l'analyse des échantillons d'une nouvelle station. La teneur en azote et carbone organique particulaire est réalisé sur un analyseur élémentaire EuroEA3024 (Eurovector, Milan, Italie) couplé au spectromètre de masse.

2.5. Analyse des isotopes stables

Les ratios isotopiques du carbone et de l'azote de la matière particulaire ont été mesurés par spectrométrie de masse de rapport isotopique à flux continu (CF-IRMS) un utilisant un spectromètre de masse IsoPrime (Micromass, Manchester, U.K.). La précision de 10 analyses consécutives est inférieure à 0,15 ‰ pour les ratios isotopiques du carbone et de l'azote. Les données sont exprimées en δ ‰ par rapport aux standards conventionnels, le rostre de bélemnites fossile pour le carbone et l'azote atmosphérique N₂ pour l'azote :

$\delta^A X = ((R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1) * 10^3$ (‰), avec A la masse atomique de l'isotope lourd de l'élément X et R = ¹³C/¹²C pour le carbone et ¹⁵N/¹⁴N pour l'azote.

3. Résultats

3.1. Paramètres environnementaux

L'année 2003 est marquée par des températures de l'air nettement supérieures à la moyenne des données mensuelles pendant 9 mois de l'année. Une différence maximale de 4 °C est observée en août alors que l'année 2002 présente un hiver et automne plus doux et un été plus frais que la normale sur 32 années (Fig. 15a).

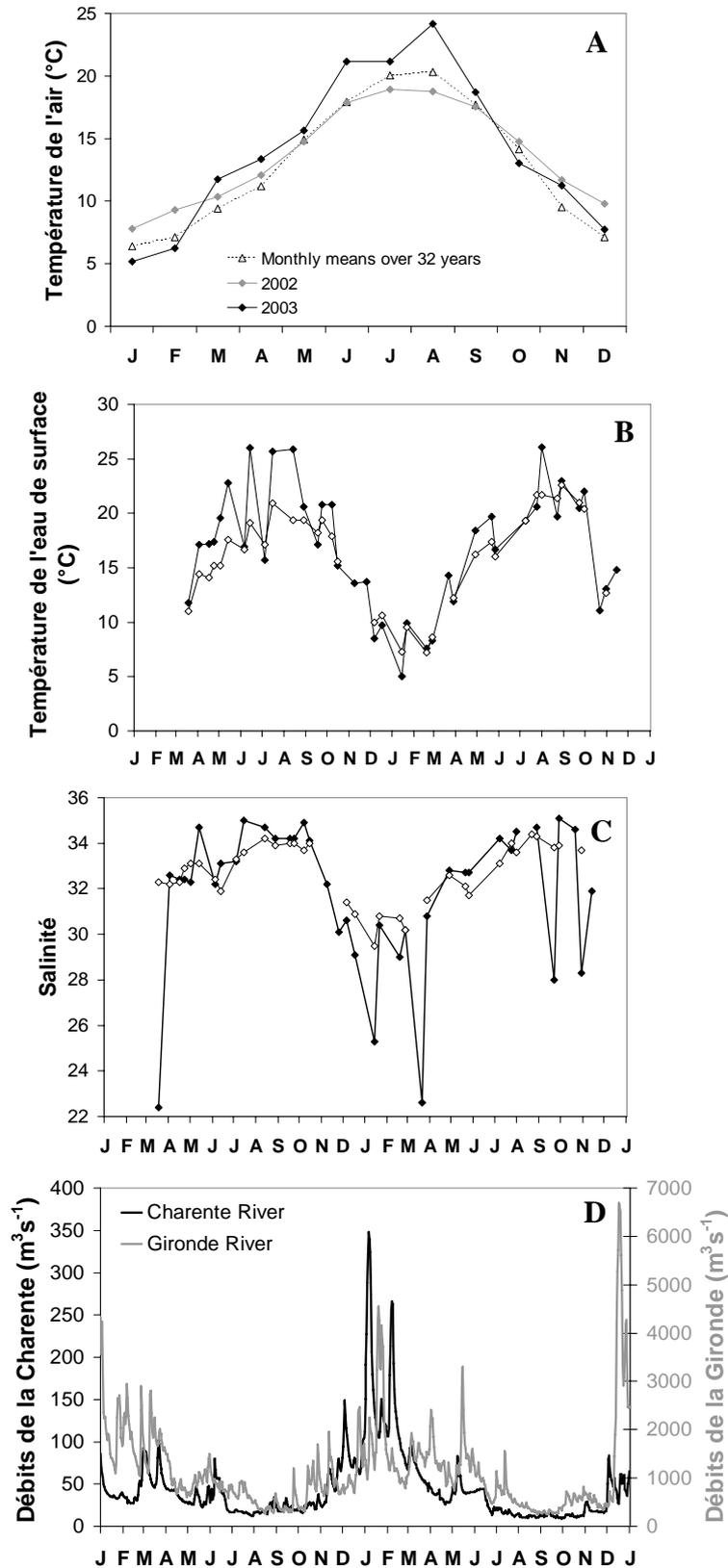


Figure 15. Moyennes mensuelles de la température de l'air de 1972 à 2005, et des années 2002 et 2003 (Données Météo France, La Rochelle, « Le Bout Blanc ») (a), températures de l'eau de surface (SST °C) de mars 2002 à décembre 2003 (vasière de Ronce-les-Bains : losanges noirs, plage sableuse d'Embellie : losanges blancs) (b), salinité (c) et débits des fleuves ($m^3 s^{-1}$) de janvier 2002 à janvier 2004 (d).

L'eau de surface en flot prélevée à la station de l'Embellie a généralement une température plus basse que celle prélevée à la station de Ronce-les-Bains avec des écarts de plus de 5°C en été 2002 et 2003 (Fig. 15b). Cette dernière étant une station aux caractéristiques de vasière intertidale, accumulant l'énergie thermique dans le sédiment pendant l'émersion et la redistribuant à l'eau dès les premiers instants du flot, soit lors du prélèvement hydrologique.

La salinité avoisine 32,5 au printemps, 34,5 en été et automne et 30 en hiver (Fig. 15c). La station de Ronce-les-Bains a généralement une salinité plus élevée que la station de l'Embellie du printemps à l'automne, cependant nous avons pu remarquer des salinités particulièrement basses comprises entre 22 et 28 à Ronce-les-Bains en hiver en correspondance avec les périodes maximales de débits des fleuves Charente et Gironde (Fig. 15d).

3.2. Matière particulaire et phytoplancton

Il existe une nette distinction entre la station de Ronce-les-Bains avec des valeurs de matière en suspension fluctuant entre 109 et 721 mg l⁻¹ et la station de l'Embellie avec des valeurs comprises entre 14 et 342 mg l⁻¹ (Fig. 16a). La fraction organique reste également plus faible à la station de l'Embellie avec des valeurs entre 5 et 60 mg l⁻¹ (Fig. 16b). Il est à noter une forte augmentation de la matière particulaire organique pour les deux stations en 2003, avec une moyenne de 33 ± 14 mg l⁻¹ en 2002 à 52 ± 20 mg l⁻¹ en 2003 à Ronce-les-Bains et de 15 ± 10 mg l⁻¹ en 2002 à 31 ± 13 mg l⁻¹ en 2003 à l'Embellie. Cette évolution annuelle ne se répercute pas sur les concentrations en chloropigments. Les valeurs de phéopigments et chlorophylle *a* sont relativement stables pour la station de l'Embellie en comparaison de Ronce-les-Bains (Fig. 16c, d).

Le nombre de cellules phytoplanctoniques montre une saisonnalité marquée (Fig. 17). Lors des printemps 2002 et 2003, il atteint respectivement 1,8 et 1,3 10⁶ cel l⁻¹ essentiellement dû aux blooms de la diatomée *Skeletonema costatum* (Fig. 17a). Il apparaît clairement que la production phytoplanctonique s'échelonne de mars à octobre en 2002 et de mars à novembre en 2003 (Fig. 17a) et qu'elle correspond à trois blooms phytoplanctoniques annuels, printanier (forte production de *Skeletonema costatum* Fig. 17a), estival et automnal (Fig. 17b). L'abondance phytoplanctonique annuelle est représentée par 80 taxons et majoritairement par des diatomées pélagiques et par des

dinoflagellés (Fig. 17b). Les dinoflagellés apparaissent principalement en juillet et août de ces deux années. L'année 2003 est marquée par une production phytoplanctonique nettement supérieure à 2002 avec 1,6 fois plus de cellules microalgales produites. Les microalgues benthiques représentent sur ces deux années une moyenne mensuelle de 7000 ± 5000 cel l^{-1} . Les microalgues benthiques sont majoritaires dans la colonne d'eau en dehors des périodes de forte productivité phytoplanctonique, bien que leur nombre reste faible, en décembre, janvier et février et ponctuelle de février à juillet 2003. Elles représentent alors jusqu'à 64 % de l'abondance microalgale de la colonne d'eau (Fig. 17c).

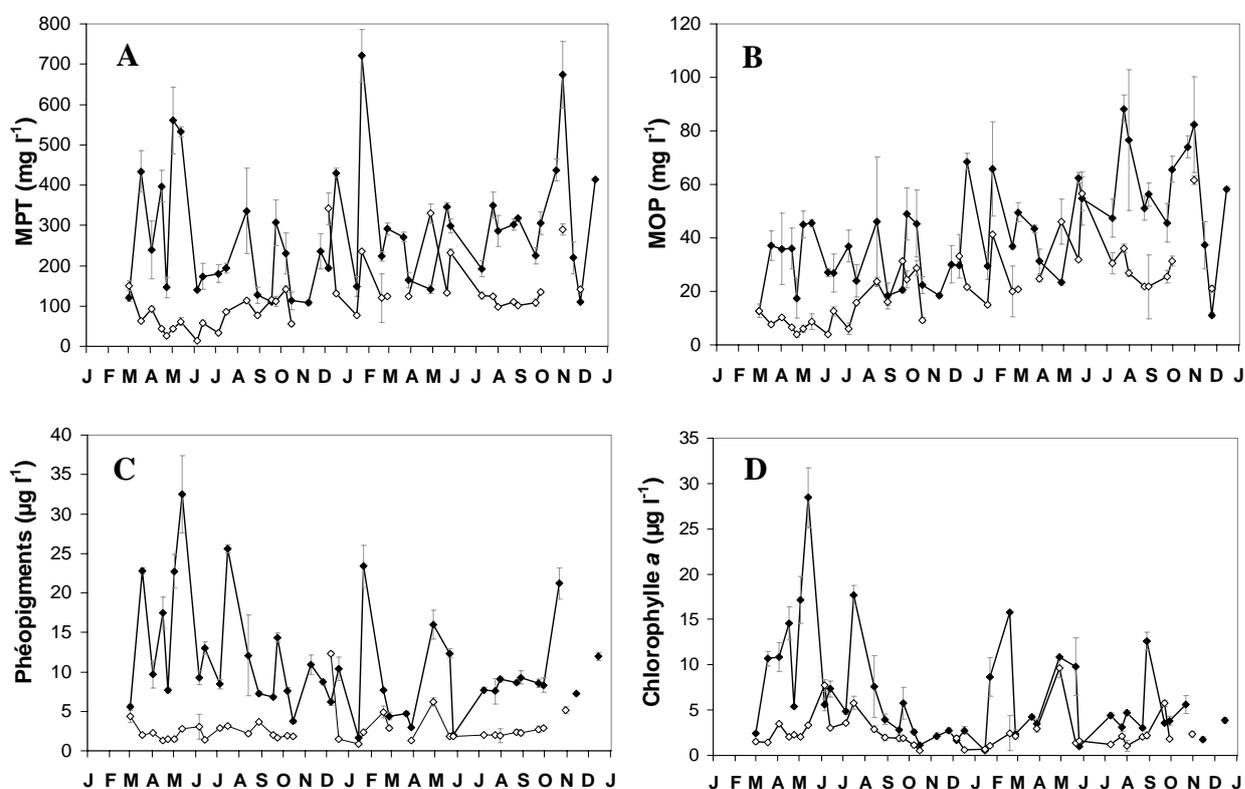


Figure 16. Evolution saisonnière de la matière particulaire en suspension de mars 2002 à décembre 2003 sur la vasière de Ronce-les-Bains (losanges noirs) et la plage sableuse de l'Embellie (losanges blancs). (a) matière particulaire en totale (MPT) (mg l^{-1}), (b) matière organique particulaire en suspension (SPOM) (mg l^{-1}), (c) phéopigments (μg l^{-1}), (d) chlorophylle a (μg l^{-1}).

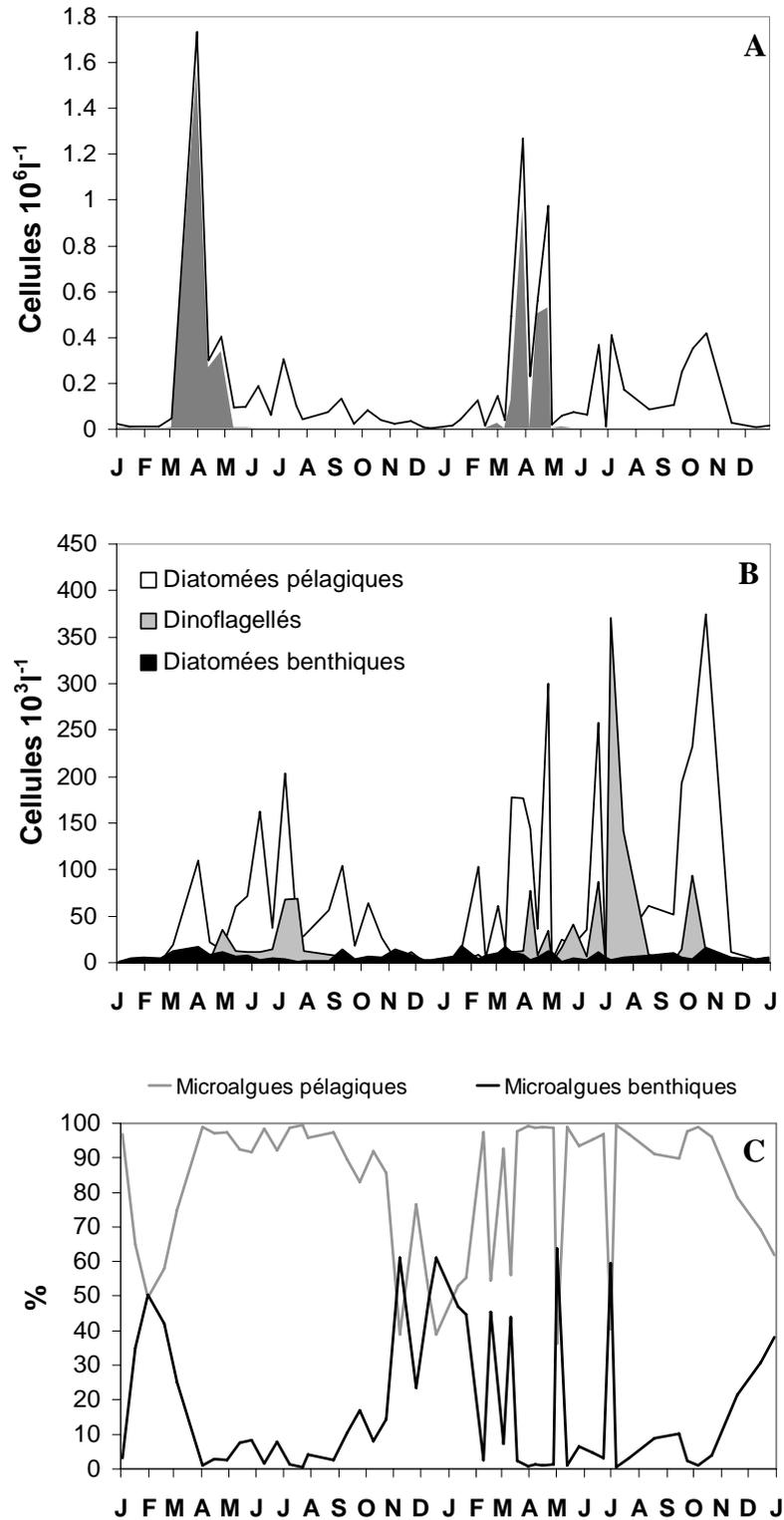


Figure 17. Evolution saisonnière des communautés phytoplanctoniques de janvier 2002 à décembre 2003 (Voir détails dans le matériels et méthodes). (a) abondance phytoplanctonique totale et abondance des diatomées *Skeletonema costatum* (hachures noires), (b) classification de l'abondance phytoplanctonique excepté la diatomée *Skeletonema costatum*, (c) contribution des microalgues pélagiques et benthiques à l'abondance phytoplanctonique de la colonne d'eau.

3.3. Composition de la matière organique

Un cycle saisonnier très net apparaît pour le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique particulaire en suspension (MOPS) ainsi qu'une nette variabilité interannuelle pour chacun des deux sites Ronces-Bains et Embellie (Fig. 18a). Le printemps 2002 est caractérisé par des appauvrissements en ^{13}C de la MOPS avec des $\delta^{13}\text{C}$ de l'ordre de -23 ‰ pour la station de Ronces-les-Bains et -25 ‰ pour la station de l'Embellie. Durant l'été et l'automne, la composition isotopique s'enrichit en ^{13}C pour atteindre des $\delta^{13}\text{C}$ de -21 ‰ à Ronces-les-Bains et -20 ‰ à la station de l'Embellie. La MOPS hivernale à la station de Ronces-les-Bains s'appauvrit de nouveau en ^{13}C avec des $\delta^{13}\text{C}$ de -22 ‰. Ponctuellement l'été et l'automne 2003 (de juillet à septembre à Ronces-les-Bains et de janvier à mai et de juillet à septembre à l'Embellie) sont marqués par une MOPS très enrichie en ^{13}C avec des valeurs moyennes des $\delta^{13}\text{C}$ atteignant en moyenne -14 ‰.

La composition en isotopes stables de l'azote montre également pour les deux stations une nette évolution saisonnière avec un enrichissement de la MOPS au printemps et été 2002 et été 2003 avec des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de 6 ‰ (Fig. 18a). De l'automne à l'hiver à Ronces-les-Bains et de l'automne au printemps à l'Embellie, la MOPS est appauvrie en ^{15}N avec des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ variant de 4 à 5 ‰. En mars 2003, la MOPS à la station de Ronces-les-Bains s'appauvrit ponctuellement atteignant des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de 3 ‰.

L'évolution du ratio POC/Chl *a* est très tranchée entre 2002 et 2003 (Fig. 18b). Il est inférieur à 200 (Cifuentes et al. 1988) en 2002 et atteint 800 en 2003. Au printemps 2003 à la station de Ronces-les-Bains il est à noter un groupe de valeurs inférieures à 200. Un ratio POC/Chl *a* élevé peut résulter de la dégradation de la matière organique si la chlorophylle *a* est décomposée avec un plus fort taux que le carbone organique total. Si cette dégradation apparaît, elle entraîne un ratio C/N bas impliquant un matériel d'origine contenant principalement du phytoplancton ou de la matière organique riche en végétaux colonisés par les bactéries (Cifuentes et al. 1988).

Les valeurs de C/N s'échelonnent entre 6 et 11 à la station de Ronces-les-Bains et de 5 à 13 à l'Embellie (Fig. 18d). Des C/N élevés caractérisent le printemps 2002 ainsi que l'été et l'automne 2003 à Ronces-les-Bains et le printemps, l'été et l'automne 2003 à l'Embellie.

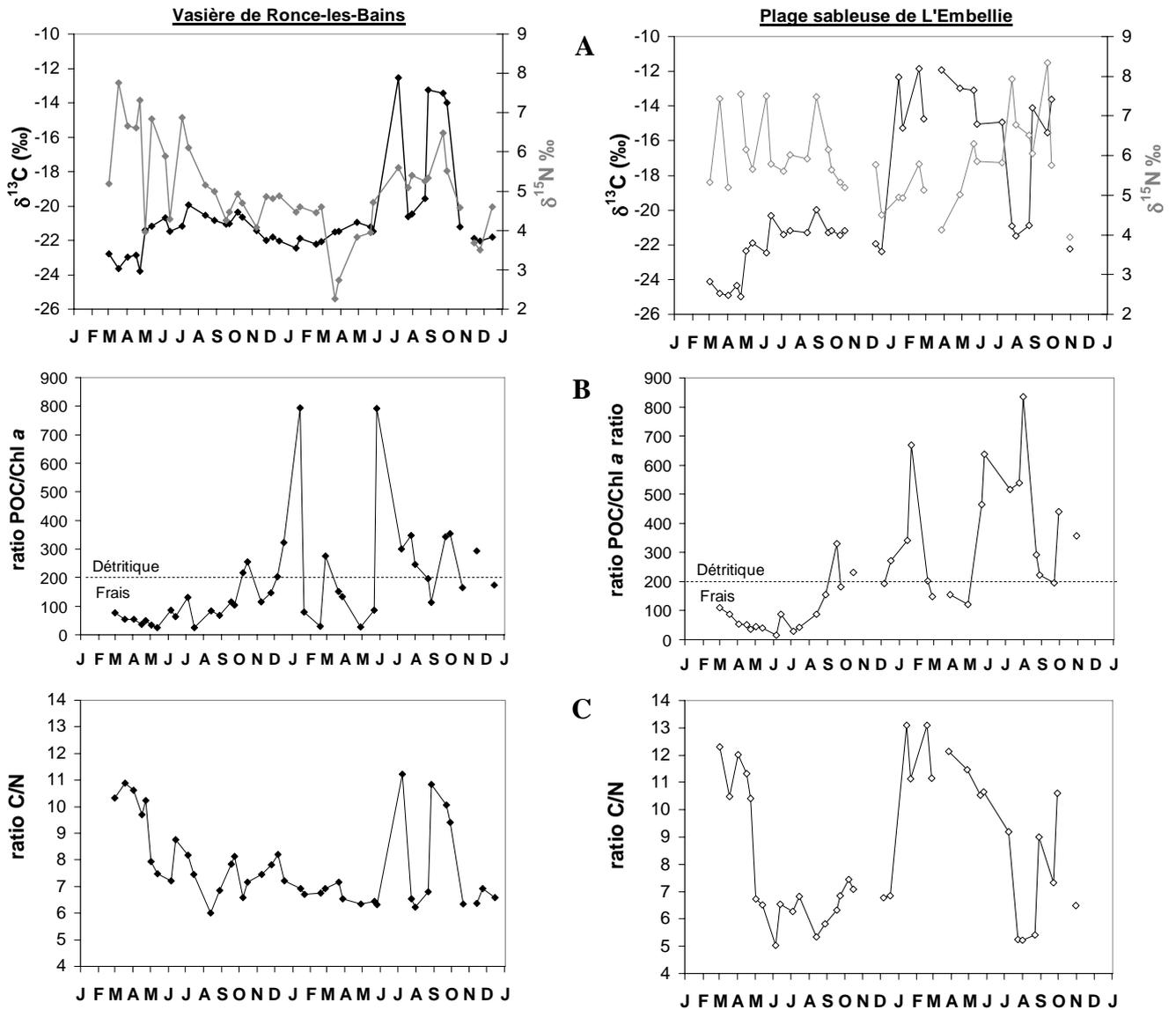


Figure 18. Profils saisonniers de mars 2002 à décembre 2003 de la matière organique particulaire en suspension sur la vasière de Ronce-les-Bains et la plage sableuse de l'Embellie. (a) $\delta^{13}\text{C}$ (‰) (noir) et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) (gris), (b) ratio POC/Chl a (les pointillés indiquent un ratio POC/Chl a égal à 200 ; Voir détail dans le texte), (c) rapport C/N.

4. Discussion

4.1. Caractérisation isotopique des sources de matière organique

Il est maintenant admis de distinguer, dans une baie littorale comme Marennes-Oléron influencée par des estuaires, les apports de matière organique d'origine 1) allochtone comme les apports néritiques et continentaux charriés par le fleuve Charente principalement, et les apports de matière organique d'origine 2) autochtone comme le phytoplancton produit localement au sein du bassin de Marennes-Oléron, ainsi que la biomasse produite au niveau des vasières intertidales, le microphytobentos mais également la biomasse issue de la dégradation des zostères et spartines et plus sporadiquement au niveau des rares estrans rocheux, des macroalgues (Richard et al. 1997, Pigeot et al. in press).

Les apports allochtones se résument principalement au sein du bassin de Marennes-oléron aux apports continentaux provenant de la Charente (Riera & Richard 1996) et de l'estuaire de la Gironde par le Pertuis de Maumusson (Fontugne & Jouanneau 1987). Ces eaux charrient la végétation riparienne en décomposition située dans une gamme de valeur assez étroite pour le $\delta^{13}\text{C}$ entre -32 ‰ et -28 ‰ et plus large pour le $\delta^{15}\text{N}$ entre 2 et 6 ‰ (Riera & Richard 1997, Riera 1998, Vouvé 2000). Le système fluvial de la Charente génère par ses apports de sels nutritifs une production phytoplanctonique locale (Ravail et al. 1988, Raillard & Ménesguen 1994) dont la composition isotopique est difficile à caractériser du fait du mélange des cellules microalgales avec des détritiques. Cette composition isotopique peut être indirectement estimée grâce à l'analyse du $\delta^{13}\text{C}$ du carbone inorganique dissous CID en eau douce et au fractionnement existant avec le phytoplancton. Il a été montré que le $\delta^{13}\text{C}$ du CID de la Charente varie entre -8 et -13 ‰ pour l'automne 1990 et l'automne 1991 (Richard et al. 1997). Considérant le fractionnement entre le CID et le phytoplancton déterminé par Tan & Strain (1983), la composition isotopique du phytoplancton des eaux fluviales de la Charente serait comprise entre -35 et -31 ‰. Les valeurs du pool de matière organique en suspension à l'embouchure de l'estuaire de la Charente est de l'ordre de -28 ‰ sur le carbone et 6 ‰ sur l'azote (Richard et al. 1997). Middelburg & Nieuwenhuize

(1998) ont trouvé également des compositions isotopiques de matière organique inférieures à -26 ‰ dans le haut estuaire de l'Escaut. Salomons & Mook (1981) et plus récemment Thornton & McManus (1994) et Hellings et al. (1999) ont mesuré des compositions isotopiques continentales de $\delta^{13}\text{C}$ respectivement de -28 ‰, -27 à -31 ‰ et -28 ‰.

Les apports océaniques provenant de l'atlantique peuvent entrer dans le bassin de Marennes-Oléron principalement par le Pertuis d'Antioche mais également par le Pertuis de Maumusson. Cependant, les résultats du REPHY montrent que ces apports sont relativement faibles en comparaison de la biomasse phytoplanctonique produite localement dans les Pertuis Charentais et le bassin de Marennes-Oléron. De plus, l'analyse de la composition en microalgues phytoplanctoniques n'a pas montré la présence d'espèces spécifiques du milieu océanique excepté certaines espèces du genre *Chaetoceros* (Ricard 1987) mais, au contraire, une prédominance d'espèces phytoplanctoniques néritiques.

Les apports autochtones sont caractéristiques d'une baie avec de larges vasières intertidales. Il semble cependant difficile d'identifier clairement la composition isotopique du phytoplancton pélagique pur du fait des mélanges de sources de matière organique par remise en suspension du sédiment et des apports allochtones. Notre étude offre cependant une fenêtre temporelle de juin à octobre 2002 avec 1) des blooms phytoplanctoniques successifs (Fig. 17a, 4b), 2) une large dominance de la biomasse phytoplanctonique pélagique (Fig. 17c), 3) un ratio POC/Chl *a* inférieur à 200 indiquant une matière organique constituée essentiellement de matière fraîche ou peu dégradée (Fig 18b) et 4) un C/N bas impliquant un matériel d'origine contenant principalement du phytoplancton ou de la matière organique riche en végétaux colonisés par les bactéries (Fig. 18c). Les valeurs isotopiques enrichies de la MOPS sur cette période (Fig. 18a) permettent donc de conclure que la majeure partie du pool de matière organique est constituée par du phytoplancton pélagique pur pendant cette période de juin à octobre 2002. La composition isotopique sera donc calculée sur les valeurs isotopiques correspondant à cette période à la station de l'Embellie afin de minimiser l'enrichissement isotopique sur le carbone dû à la contribution du microphytobenthos remis en suspension sur l'estran sablo-vaseux de Ronce-les-Bains. La valeur isotopique du phytoplancton néritique pur approche donc $-21 \pm 0,5$ ‰ sur le carbone et $6 \pm 0,7$ ‰

sur l'azote. Middelburg & Nieuwenhuize (1998) obtiennent des valeurs semblables en aval de l'estuaire de l'Escaut avec -20,1 ‰, de même que Cifuentes et al. (1988) en aval de l'estuaire du Delaware et Richard et al. (2001) avec -20 ‰ à l'entrée du Pertuis Breton.

Le microphytobenthos est une importante source autochtone produite tout au long de l'année (Guarini et al. 1998) dans un environnement dominé par les vasières intertidales et les activités ostréicoles favorisant son développement. Il présente un enrichissement élevé en ^{13}C avec une composition isotopique des microalgues benthiques collectées sur la vasière de Ronce-les-Bains comprise entre -12,9 et -16,5 ‰ (Fig. 19). Des valeurs similaires ont été rapportées par Haines (1976) dans les marais des côtes de la Géorgie et par Riera & Richard (1996) pour les vasières de l'est de Marennes-Oléron. De nombreuses études ont mis en évidence que la production microphytobenthique intertidale pouvait largement contribuer à la biomasse phytoplanctonique (Guarini et al. 2004). Ces microalgues sont remises en suspension par les vagues et les courants de marée, lesquels entraînent également une partie du sédiment superficiel composé de matière organique en décomposition appauvrie en ^{13}C . Notre étude montre que la biomasse microphytobenthique est présente dans la colonne d'eau tout au long des deux années d'échantillonnage (Fig. 17) mais également que la contribution de la biomasse microphytobenthique excède rarement la contribution de la biomasse microalgale pélagique (Fig. 17b, c). D'autres producteurs primaires des vasières intertidales présentent également des valeurs enrichies sur le carbone mais également sur l'azote :

1) Les spartines ont des valeurs isotopiques proche du microphytobenthos (Riera et al. 1999, Vouvé 2000) mais leur faible distribution géographique, restreinte à un schorre à spartines peu étendu à l'est du bassin de Marennes-Oléron et quelques sites sur la côte est d'Oléron, leur confère une faible participation à l'ensemble du pool de matière organique particulaire de la baie de Marennes-Oléron (Pigeot et al. in press).

2) Les zostères sont aussi une source autochtone à prendre en considération car un important herbier à *Zostera noltii* se développe sur l'estran sablo-vaseux de la cote est de l'île d'Oléron (Guillaumont 1991, Pigeot et al. in press). Leur composition isotopique est très enrichie

en ^{13}C avec une valeur de $\delta^{13}\text{C}$ de -11 ‰ mais également enrichie en ^{15}N avec des $\delta^{15}\text{N}$ de 10 ‰ (Kang et al. 1999, Boschker et al. 2000, Vouvé 2000).

3) Les algues vertes avec les entéromorphes et les ulves ont des compositions isotopiques sur le carbone de -16,5 ‰ et -11,1 ‰ et sur l'azote de 9,8 ‰ et 10,2 ‰, respectivement (Riera et al. 1996). Elles se développent sur la même aire géographique de la vasière de l'île d'Oléron (Sauriau & Pigeot, com. pers.) que les zostères mais également abondamment sur les tables des parcs ostréicoles.

4.2. Variabilités saisonnière et interannuelle de la matière organique

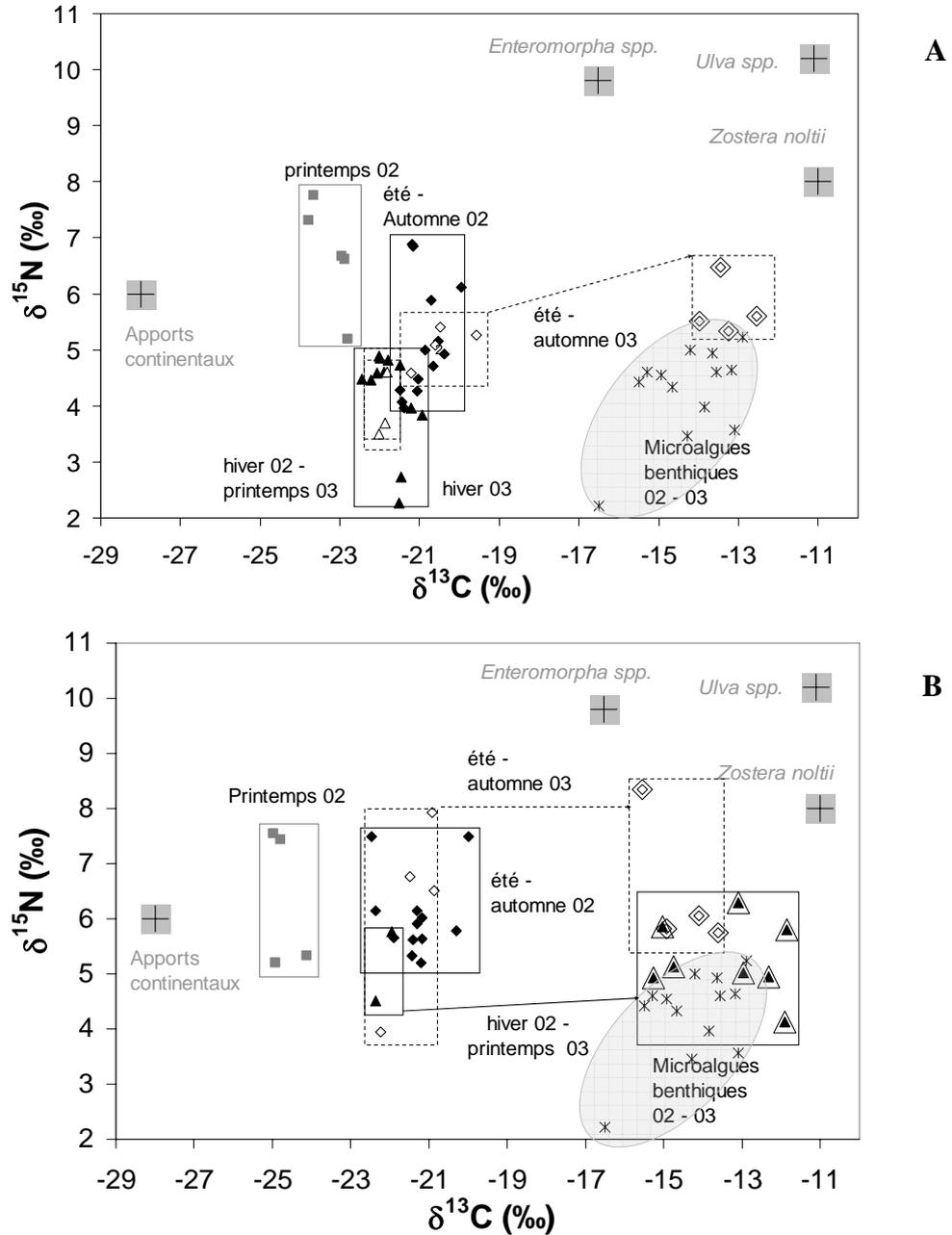


Figure 19. $\delta^{13}\text{C}$ (‰) et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de la matière organique particulaire et des producteurs primaires sur la vasière de Ronce-les-Bains (A) et la plage de l'Embellie (B). Les flèches joignent des groupes de données échantillonnées à la même saison mais avec des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ différentes. Les triangles et losanges entourés soulignent les valeurs isotopiques enrichies en ^{13}C .

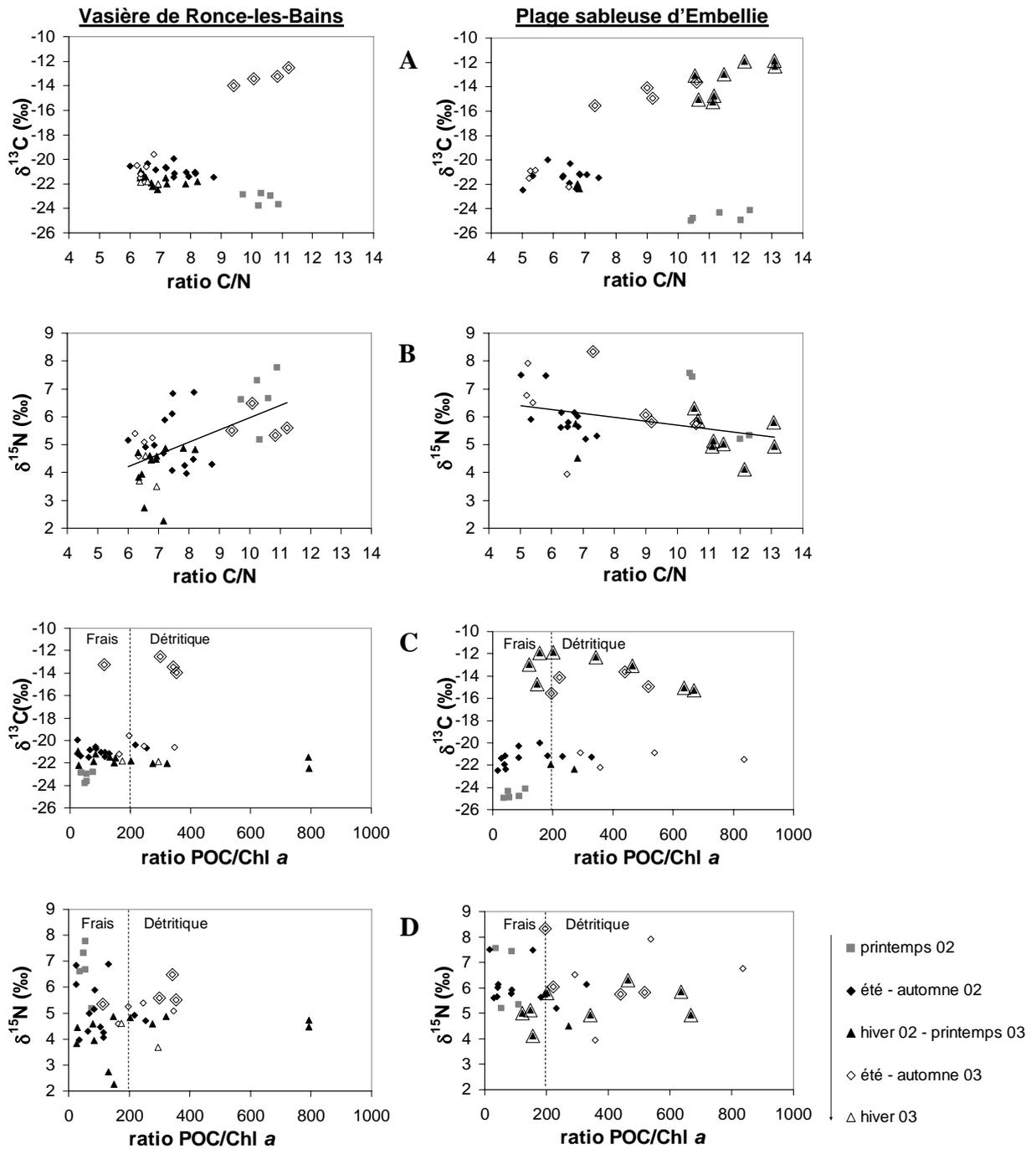


Figure 20. Relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ ‰ et les $\delta^{15}\text{N}$ ‰ et les rapports C:N (a, b) et POC:Chl a (c, d) avec un seuil (en pointillé) à 200 du rapport POC:Chl a (Voir détails dans le texte). Les triangles et losanges entourés soulignent les valeurs isotopiques enrichies en ^{13}C .

La composition biochimique, isotopique et taxonomique de la matière particulaire en suspension nous informe sur le mélange complexe des différentes sources, de leur origine mais également de leur dégradation.

Le diagramme dual $\delta^{15}\text{N}$ (‰) *versus* $\delta^{13}\text{C}$ (‰) (Fig. 19) permet de dégager clairement des saisons marquées par des contributions de sources différentes en 2002 et 2003 pour les stations de Ronce-les-Bains (Fig. 19a) et de l'Embellie (Fig. 19b). Cette saisonnalité a été identifiée grâce aux variations en $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ de la MOPS, C/N et POC/Chl *a* (Fig. 20). Voici l'exemple de la station de Ronce-les-Bains :

- printemps 2002 ($\delta^{13}\text{C} \approx -23,2$ ‰, $\delta^{15}\text{N} \approx 6,7$ ‰, C/N $\approx 10,4$, POC/Chl *a* ≈ 54)
- été-automne 2002 ($\delta^{13}\text{C} \approx -20,9$ ‰, $\delta^{15}\text{N} \approx 5,1$ ‰, C/N $\approx 7,5$, POC/Chl *a* ≈ 101)
- hiver 2002-printemps 2003 ($\delta^{13}\text{C} \approx -21,8$ ‰, $\delta^{15}\text{N} \approx 4,2$ ‰, C/N $\approx 6,9$, POC/Chl *a* ≈ 253)
- été-automne 2003 ($\delta^{13}\text{C} \approx -20,5$ ‰, $\delta^{15}\text{N} \approx 5,1$ ‰, C/N $\approx 6,5$, POC/Chl *a* ≈ 238)
- hiver 2003 ($\delta^{13}\text{C} \approx -21,9$ ‰, $\delta^{15}\text{N} \approx 3,9$ ‰, C/N $\approx 6,6$, POC/Chl *a* ≈ 234).

Le diagramme $\delta^{13}\text{C}$ *versus* C/N ratio permet de discriminer le printemps 2002, le diagramme $\delta^{15}\text{N}$ *versus* C/N ratio affine l'interprétation en dissociant les étés-automnes 2002 et 2003 de l'hiver 2002-printemps 2003 et de l'hiver 2003 (Fig. 20a, b). Le diagramme $\delta^{15}\text{N}$ *versus* POC/Chl *a* permet de discriminer les étés-automnes 2002 et 2003 de l'hiver 2002-printemps 2003 et de l'hiver 2003 (Fig. 20d). Le printemps 2002 est donc caractérisé par une MOPS très appauvrie en ^{13}C et enrichie en ^{15}N avec un ratio C/N élevé caractéristique d'une contribution accrue des apports continentaux au pool de matière organique. D'après Middelburg & Nieuwenhuize (1998), la matière organique d'origine estuarienne est appauvrie en ^{13}C et ^{15}N avec un C/N élevé ($\delta^{13}\text{C} = -26$ ‰, $\delta^{15}\text{N} = 3,5$ ‰, C/N = 21). Le ratio POC/Chl *a* inférieur à 200 implique que la MOPS est composée essentiellement de matériel végétal frais non décomposé. Or, la matière organique du printemps 2002 est majoritairement constituée de phytoplancton estuarien avec une prédominance de diatomées pélagique *Skeletonema costatum* en relation avec les apports fluviaux modérés des

fleuves Charente et Gironde (Fig. 15d) ainsi que les blooms de fins d'hiver décrits par Labry et al. (2001) dans le Golfe de Gascogne.

La MOPS des étés-automne 2002 et 2003 est caractérisée par des compositions isotopiques enrichies en ^{13}C et appauvries en ^{15}N ce qui suppose une contribution du phytoplancton pélagique. Considérant par ailleurs le ratio POC/Chl *a* inférieur à 200, le pool de matière organique est dominé par une biomasse phytoplanctonique pure. De plus, la contribution du phytoplancton pélagique est nettement supérieure à la contribution du microphytobenthos à la colonne d'eau sur cette même période.

Durant l'hiver 2002-printemps 2003 et l'hiver 2003, la composition isotopique de la MOPS s'appauvrit à nouveau en ^{13}C du fait d'un accroissement des apports continentaux comme le suggèrent les débits fluviaux deux fois plus forts en 2003 qu'en 2002 (Fig. 15d). Les ratios POC/Chl *a* montrent cette fois-ci une grande variabilité indiquant la contribution accrue de matériel détritique terrestre. De plus des $\delta^{15}\text{N}$ appauvris s'échelonnant de 2,3 à 4,9 ‰ révèlent également la signature typique de détritiques terrestres (Mariotti et al. 1984, Middelburg & Nieuwenhuize 1998). Le phytoplancton participant au pool de matière organique est majoritairement constitué de microphytobenthos remis en suspension avec jusqu'à 63 % de la biomasse phytoplanctonique (Fig. 17c). Une proportion supérieure (jusqu'à 89 %) est donnée par Guarini et al. (2004) pour le bassin de Marennes-Oléron mais le critère taxonomique utilisé par ces auteurs qui considèrent que l'ensemble des diatomées pennées constitue le microphytobenthos, surestime probablement la proportion réelle des espèces benthiques remises en suspension.

L'année 2003 est marquée par des compositions isotopiques de la matière particulaire en suspension très enrichies. Cette caractéristique implique une contribution différente des sources au pool de matière organique du bassin de Marennes-Oléron entre ces deux années. Les diagrammes $\delta^{13}\text{C}$ versus C/N et $\delta^{13}\text{C}$ versus POC/Chl *a* (Fig. 20a, c) à la station de Ronce-les-Bains et de l'Embellie permettent de discriminer clairement cette matière organique particulaire avec des C/N élevés et un ratio POC/Chl *a* généralement supérieur à 200. Les valeurs de MOPS très enrichies en ^{13}C apparaissent précocement à la station de l'Embellie au printemps 2003, puis plus tardivement à

Ronce-les-Bains (Fig. 19b). Il semble aussi d'après les résultats d'analyses isotopiques sur la MOPS de l'ensemble du bassin de Marennes-Oléron (données non présentées) que ce résultat soit généralisable à l'ensemble des stations hydrobiologiques analysées (Fig. 14) sauf pour le Pertuis Breton qui n'est pas impliqué. Ceci suppose une « contamination » de l'Embellie par la MOPS du bassin de Marennes-Oléron suivant le sens de circulation nord-sud des masses d'eau décrite par Dechambenoy et al. (1977) puis une « contamination » plus tardive de Ronce-les-Bains. De telles valeurs n'ont jamais été montrées jusqu'à présent du fait certainement de périodes d'échantillonnage saisonnières et d'un pas de temps d'échantillonnage plus lâche (Feuillet-Girard et al. 1994, Kang et al. 1999). L'échantillonnage bimensuel envisagé pour cette étude a permis de mettre en exergue des évènements ponctuels dans des zones de vasière intertidale telles que Ronce-les-Bains. Les compositions isotopiques très enrichies sur le carbone impliquent de toute évidence une contribution accrue d'une source enrichie en ^{13}C . En effet, les valeurs élevées de matière particulaire totale et organique en 2003, ainsi que des ratios POC/Chl *a* supérieurs à 200, attestent d'une remise en suspension importante de la surface des sédiments et par conséquent du microphytobenthos. Cette remise en suspension se joue à l'échelle des estrans du bassin de Marennes-Oléron. Mais la contribution du microphytobenthos ($\delta^{13}\text{C} = -14,3 \text{ ‰}$; $\delta^{15}\text{N} = 4,3 \text{ ‰}$) au pool de matière organique n'explique pas à elle seule des compositions isotopiques très enrichies entre -14 et -12,5 ‰ à Ronce-les-Bains et entre -15,5 et -11,9 ‰ à Embellie. Fenton & Ritz (1988) montrent d'après une étude réalisée en laboratoire que la composition isotopique de macroalgues durant leur décomposition s'enrichit en ^{13}C de l'ordre de 0,5 à 1,2 ‰. La décomposition du microphytobenthos à la surface des vasières pourrait être accrue par les températures élevées de 2003. Cette hypothèse n'est toutefois pas complètement satisfaisante compte tenu de l'existence dès le 14 janvier 2003 à l'Embellie de MOPS détritiques très enrichie en ^{13}C . De plus, comment expliquer par la seule présence du microphytobenthos les signatures isotopiques également enrichies en ^{15}N entre 5,3 à 6,5 ‰ à Ronce-les-Bains et 4,1 et 8,3 ‰ à Embellie. En revanche, une contribution d'autres producteurs intertidaux, les entéromorphes, les ulves et surtout les zostères (Fig. 19) s'avère être l'explication la plus plausible. Cette production primaire intertidale contribuerait au pool de matière organique sous une forme particulière résultant des processus de

décomposition. Il a d'ailleurs été montré, dans le cas des zostères, par Mateo & Romero (1996) que les feuilles sénescents plutôt que des fragments de zostères dégradées par les bactéries pouvaient contribuer au pool de matière organique. La dégradation foliaire est plus importante en été comme l'a montré Mateo & Romero (1996) grâce à des expérimentations *in situ* sur des posidonies. Wiedermeyer & Schwamborn (1996) ont également mis en évidence que des zostères en décomposition étaient présentes sous forme particulière dégradée dans la colonne d'eau du Kiel fjord en Allemagne en montrant que ce matériel contribuait pour 0,5 à 6,5 % au régime alimentaire d'un filtreur suspensivore, la moule *Mytilus edulis*. De plus, il a été montré que durant les périodes estivales (Vizzini et al. 2003) ou aux fortes intensités lumineuses (Abal et al. 1994, Grice et al. 1996) la composition isotopique avait tendance à s'enrichir d'autant plus en ^{13}C du fait d'une demande accrue en carbone lors de forte productivité des zostères.

**PARTIE 2. PROCESSUS D'INTEGRATION DE LA
COMPOSITION ISOTOPIQUE DE LA NOURRITURE**

Chapitre 2.

**En combien de temps l'huître *Crassostrea gigas* transplantée
de l'estuaire de l'Escaut à Marennes-Oléron acquiert-elle
la signature isotopique de son nouvel environnement
nutritionnel ?**

Chapitre 2. En combien de temps l'huître *Crassostrea gigas* transplantée de l'estuaire de l'Escaut à Marennes-Oléron acquiert-elle la signature isotopique de son nouvel environnement nutritionnel ?

1. Introduction

Les isotopes stables en tant que biomarqueurs géographiques ont démontré leur pertinence pour caractériser les cycles migratoires. Ils fournissent une information intégrée dans le temps et peuvent être reliés directement aux régions géographiques (Hobson 1999, Webster et al. 2002). Les isotopes stables ont l'avantage d'être incorporés directement du régime alimentaire aux tissus de l'animal et ainsi de marquer, dans les tissus nouvellement constitués, l'empreinte des conditions environnementales du site. Les rapports des isotopes stables du soufre ($\delta^{87}\text{S}$), de l'oxygène ($\delta^{18}\text{O}$) du deutérium (δD), du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et de l'azote ($\delta^{15}\text{N}$) sont ainsi largement utilisés.

L'analyse des rapports isotopiques repose sur un corpus d'hypothèses qu'il est nécessaire de préciser :

1- Les producteurs primaires sont caractérisés par des rapports isotopiques du carbone et de l'azote distincts. Les ratios isotopiques des plantes ont une gamme de valeur très large en raison des différentes voies de photosynthèse qui permettent par exemple de discriminer les végétaux en C_3 des végétaux en C_4 mais également en raison des processus de fixation des différentes formes d'azotes et de carbone minéral (Lajtha & Marshall 1994). Il en résulte une matière organique produite dans les environnements marins beaucoup plus enrichie en ^{13}C que dans les environnements terrestres.

2- Si l'on se place préférentiellement au niveau des consommateurs primaires, il existe une difficulté supplémentaire à prendre en compte très marquée à cet échelon trophique : la variabilité

temporelle des producteurs primaires (France 1995a, Cloern et al. 2002, Weiguo et al. 2003). Post (2002) a cependant montré que la composition isotopique tissulaire des mollusques filtreurs, comme les unionidés ou les moules zébrées, considérés comme des organismes intégrateurs, était égale à la moyenne des variations saisonnières de la source considérée sur la saison de croissance des organismes. La composition isotopique de ces organismes filtreurs au comportement alimentaire peu sélectif reflèterait au mieux la composition isotopique de la matière de l'échelon primaire.

3- Les rapports isotopiques des éléments sont globalement conservés dans les réseaux trophiques entre les producteurs primaires et les consommateurs. Cependant comme le soulignent Pearson et al. (2003), toutes les réactions biochimiques impliquées dans les processus d'incorporation de la nourriture sont susceptibles d'induire un fractionnement. A l'échelle de l'organisme, l'ensemble de ces fractionnements est masqué et contenu dans une « différence isotopique apparente » entre les tissus du consommateur et le régime alimentaire. Nous choisirons donc d'utiliser le terme de différence ou (discrimination en anglais) consommateur - nourriture ($\Delta \delta^{13}\text{C}$ et $\Delta \delta^{15}\text{N}$) à la place du terme fractionnement généralement utilisé. La composition isotopique en carbone d'un animal reflète celle de sa nourriture avec un écart d'environ 1 ‰ (DeNiro & Epstein 1978). Le $\delta^{15}\text{N}$ de l'animal reflète celui de sa nourriture mais au contraire du carbone, l'animal est généralement beaucoup plus enrichi en ^{15}N avec une différence entre l'animal et sa nourriture de 3,5 ‰ (DeNiro & Epstein 1981, Macko et al. 1982). Les premiers travaux de DeNiro et Epstein (1978, 1981) en laboratoire ont montré que l'enrichissement généralement admis entre l'animal et sa nourriture dépendait étroitement des processus métaboliques lors de la synthèse des différents tissus. Par exemple Stephenson et al. (1986) montrent un appauvrissement en ^{13}C de la composition isotopique des tissus de homard nourrit avec un régime alimentaire riche. Ils attribuent cette signature isotopique à une augmentation des composés lipidiques dans les tissus du homard en accord avec la composition isotopique appauvrie en ^{13}C des lipides (DeNiro & Epstein 1977). Cependant les récentes études statistiques (Vander Zanden & Rasmussen 2001, Post 2002, McCutchan et al. 2003) permettent de conclure qu'au cours d'une transition trophique consommateur – nourriture, l'enrichissement en ^{13}C est négligeable.

L'enrichissement en ^{15}N est en partie régi par l'excrétion préférentielle de ^{14}N et la forme sous laquelle l'azote est excrété (Minagawa & Wada 1984, Vanderklift & Ponsard 2003). L'enrichissement en ^{15}N semble également dépendre de la qualité de la nourriture et du régime alimentaire du consommateur (Adams & Sterner 2000, McCutchan et al. 2003, Vanderklift & Ponsard 2003, Robbins et al. 2005).

4- Les animaux, qui se déplacent entre plusieurs zones géographiques dont les réseaux trophiques sont isotopiquement distincts, peuvent retenir l'information de leur précédente zone de nourrissage sur des périodes qui dépendent du renouvellement tissulaire des organes considérés (Tieszen et al. 1983, Hobson & Clark 1993). Certains tissus tels que ceux composés de kératine ont un métabolisme peu actif qui reflète le lieu où le tissu a été synthétisé (Mizutani et al. 1990). D'autres tissus au métabolisme actif comme le sang ou la glande digestive seront une source d'information du régime alimentaire du consommateur si toutefois le temps d'intégration de la nouvelle nourriture est pris en compte (Hobson & Clark 1993). Fry & Arnold (1982), Hesslein et al. (1993) ont montré que ces processus d'intégration de la nouvelle source de nourriture dépendaient du turnover métabolique mais également de la croissance des tissus des consommateurs.

De nombreux exemples sont maintenant connus en écologie terrestre pour retracer l'origine des populations humaines anciennes (Fernández et al. 1999, Dupras & Schwarcz 2001), les voies migratoires aviaires (Hobson et al. 1999, Rubenstein & Hobson 2004), de papillons (Rubenstein & Hobson 2004). De même, les exemples en écologie marine sont maintenant connus pour les poissons en zones estuariennes (Doucett et al. 1999, McCarthy & Waldron 2000, Riera et al. 2000a, Bardonnet & Riera 2005) ou les mammifères marins (Kurle & Worthy 2002) en milieu océanique.

Or les études sont peu ou pas documentées pour les organismes benthiques comme les mollusques bivalves alors que certaines espèces sessiles, utilisées pour l'élevage, comme *Crassostrea gigas*, subissent malgré elles des déplacements lors de leurs transplantations entre différentes zones de culture. Ces transplantations ont cours traditionnellement au sein de la production ostréicole et ont pour but l'ensemencement en naissain d'autres bassins ostréicoles,

l'engraissement des adultes, l'affinage ou le simple stockage avant commercialisation au cours du cycle de production (Gouletquer & Le Moine 2002).

L'huître, filtreur suspensivore des milieux estuariens avec un régime alimentaire mixte, oscille entre la phytophagie et la détritivorie (Langdon & Waldock 1981, Langdon & Newell 1990, Barillé et al. 1993, 1997, Hsieh et al. 2000, Gosling 2003). L'écologie trophique et le régime alimentaire en partie détritivore de l'huître ont été peu étudiés d'un point de vue isotopique. A notre connaissance, seuls sont disponibles les travaux au sein du bassin de Marennes-Oléron (Riera & Richard 1996, 1997, Riera 1998), de la baie de l'Aiguillon (Riera et al. 1999) et de l'Escaut (Riera et al. 2000b, 2002) ainsi que l'étude de Hsieh et al. (2000) dans une baie de Taiwan sur l'huître *Crassostrea gigas*.

Mais aucune de ces études n'a abordée les questions relatives aux modifications de signatures isotopiques suite à la transplantation des huîtres entre zone de culture. Pourtant, l'utilisation des isotopes stables dans le cas des moules méthanotrophes des zones d'infiltration d'hydrocarbures (marge continentale du Golfe du Mexique) transplantées a permis de montrer tout l'intérêt de la méthode pour estimer le turnover des tissus et caractériser l'écologie trophique des habitats (Dattagupta et al. 2004). La condition *sine qua non* de cette méthode repose sur l'utilisation de deux sites avec des signatures isotopiques des sources de nourriture significativement différentes (Dattagupta et al. 2004).

La présente étude s'appuie donc sur l'opportunité qu'offre l'estuaire de l'Escaut avec un marquage isotopique sur le ^{15}N exceptionnellement élevé sur les suspensivores et l'huître en particulier (Riera et al. 2000b). Grâce à la transplantation de ces huîtres marquées entre deux sites estuariens (l'estuaire de l'Escaut et le bassin de Marennes-Oléron), il sera possible de caractériser les processus d'incorporation tissulaire de la composition isotopique des sources nutritives et ainsi de comprendre l'acclimatation trophique des huîtres *Crassostrea gigas* transplantées.

Pour ce faire, l'acquisition de la nouvelle signature sera suivie de façon simultanée sur le carbone et l'azote pour différents organes de l'huître, les branchies, la glande digestive, le manteau et le muscle. Un modèle basé sur le temps d'intégration de la composition isotopique nous permettra ensuite de mettre en évidence la part de la croissance et du turnover métabolique

impliqués dans le renouvellement tissulaire du carbone et de l'azote (Tieszen et al. 1983, Hesslein et al. 1993).

2. Matériels et Méthodes

2.1. Sites d'étude

L'estuaire de l'Escaut est alimenté par la rivière de l'Escaut dont les apports d'eau douce sont nettement plus faibles que les échanges tidaux (Middelburg & Nieuwenhuize 1998). Il en résulte un long temps de résidence des eaux dans l'estuaire de l'ordre de deux ou trois mois (Soetaert & Herman 1995) ainsi qu'un gradient de salinité entrant jusqu'à 100 km en amont de l'embouchure de l'estuaire (Fig. 21). Cet estuaire peut être divisé en trois zones : marine qui s'étend jusqu'à 40 Km à l'intérieur de l'estuaire, saumâtre de 40 à 97 Km et fluviale de 97 à 160 Km. Il représente une des plus larges aires intertidales d'Europe de l'ouest (De Brabandere et al. 2002).

La baie de Marennes-Oléron (Fig. 21) est localisée au centre de la façade atlantique française et est protégée par deux îles, l'île de Ré et l'île d'Oléron. Les eaux marines entrent dans la baie par le Pertuis d'Antioche au nord. Ces eaux marines ont un taux de résidence dans la baie compris entre 5 et 10 jours (Raillard & Ménesguen 1994). La baie de Marennes-Oléron est une baie macrotidale de 180 km² dont 60 % de la surface sont exposés pendant les marées de vives-eaux. Les apports d'eau douce résultent principalement de la Charente (les débits sont au minimum de 10 m³ s⁻¹ et au maximum de 400 m³ s⁻¹ (Soletchnik et al. 1998). Pendant ces périodes de forts débits, des apports d'eau douce provenant de l'estuaire de la Gironde à 40 km au sud de la baie de Marennes-Oléron peuvent entrer par le Pertuis d'Antioche après avoir contourné l'île d'Oléron par l'ouest (Lazure & Jégou 1998).

Avec une production annuelle de 40 x 10³ tonnes d'huître creuse *Crassostrea gigas*, la baie de Marennes-Oléron est le plus important site de production en Europe.

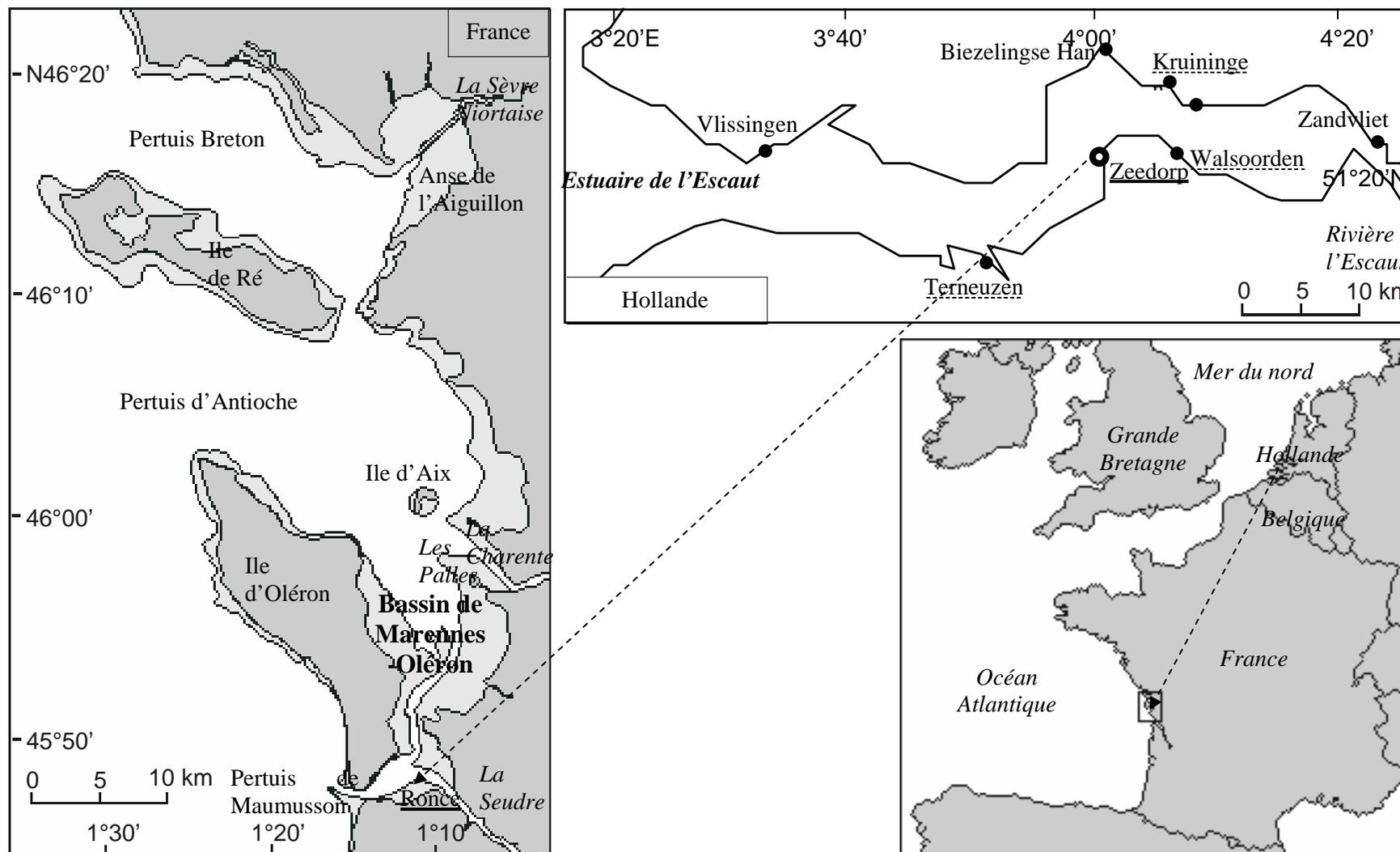


Figure 21. Situation géographique des sites de pré-échantillonnage et d'échantillonnage à Zeedorp dans l'estuaire de l'Escaut (Pays-Bas) et du site de transplantation des huîtres à Ronce-les-Bains dans le bassin de Marennes-Oléron (France). La flèche indique la transplantation.

2.2. Transplantations et environnement nutritionnel

Un pré-échantillonnage a été réalisé en mars 2003 sur la côte sud de l'estuaire de l'Escaut, avec pour objectif de vérifier la signature isotopiques des huîtres sauvages en plusieurs stations (Kruiningen $\delta^{13}\text{C}$: $24,8 \pm 0,3$ ‰ ; $\delta^{15}\text{N}$ = $21,1 \pm 0,1$ ‰ ; Terneuzen $\delta^{13}\text{C}$ = $21,9 \pm 0,1$ ‰ ; $\delta^{15}\text{N}$ = $18,2 \pm 0,1$ ‰ ; Walsoorden $\delta^{13}\text{C}$ = $24,5 \pm 0,1$ ‰ ; $\delta^{15}\text{N}$ = $21,8 \pm 0,3$ ‰ ; Zeedorp $\delta^{13}\text{C}$ = $24,3 \pm 0,3$ ‰ ; $\delta^{15}\text{N}$ = $21,0 \pm 0,3$ ‰. Le site de Zeedorp, légèrement en amont de la zone « saumâtre » décrite par De Brabandere et al. (2002), a été sélectionné. Il présente des valeurs très enrichies en ^{15}N mais également appauvrie en ^{13}C . De plus, son accessibilité sur la rive gauche de l'estuaire de l'Escaut et la présence d'un banc d'huître très important ont confirmé ce choix. 300 huîtres ont été prélevées le 20 avril 2003 puis transportées à basse température dans une glacière et replacées dans deux poches à huître sur les estrans de Marennes-Oléron à Ronce-les-Bains. Des taux de mortalité faibles ont été observés (< 6 %). Les huîtres ont été échantillonnées selon le pas de temps suivant : T0 le 24 avril 2003 puis T0 + 2, 8, 34, 41, 49, 65, 85, 174, 220 jours. Les huîtres échantillonnées ont subi un jeûne de 24 heures dans de l'eau de mer filtrée et oxygénée puis ont été congelées.

2.3. Biométrie

Les huîtres ont été maintenues congelées (-20 °C) afin de les disséquer facilement par organes : branchies, glande digestive, manteau et muscle. Chaque organe a été lavé à l'HCl 10 % et rincé brièvement deux fois à l'eau déminéralisé puis congelé et lyophilisé. Le poids sec de chaque organe a été mesuré (n = 5 huîtres) afin de déterminer le taux de croissance par organe et également de calculer la signature isotopique d'une huître entière selon la formule pondérée suivante :

$$\delta_{i\text{ huître}} = \frac{\sum_{i=1}^{n_{\text{org}}} \delta_{i\text{ org}_i} \times W_{i\text{ org}_i}}{\sum_{i=1}^{n_{\text{org}}} W_{i\text{ org}_i}}$$

avec $W_{i\text{ org}}$ le poids sec de chaque organes au moment de l'échantillonnage, $\delta_{i\text{ org}}$ la signature isotopique de chaque organe au moment de l'échantillonnage et n_{org} égal à 5. Dans l'absolu, un calcul rigoureusement exact devrait considérer un bilan en masse en ^{13}C et ^{15}N . En réalité, l'erreur

d'approximation ($< 1.10^{-4} \text{ ‰}$) commise en utilisant les unités δ est, pour la gamme de valeurs observées sur le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$, négligeable en regard de la précision des mesures (0,15 ‰). Ceci explique pourquoi la formulation des équations en unité δ est toujours utilisée et ce, par exemple, pour les calculs des modèles de mélange (Phillips & Gregg 2001).

Les échantillons d'eau sont collectés bimensuellement sur l'estran de Ronce-les-Bains pendant les deux premières heures du flot. La matière particulaire totale a été obtenue par filtration sur filtres calcinés Whatman GF/C séchés 24 heures à 60 °C (Chapitre 1 pour plus de détails).

2.4. Analyses isotopiques

La glande digestive, les branchies, le manteau ainsi que les gonades ont été réduites en une fine poudre tandis qu'une fine partie du muscle a été découpée au scalpel puis placée à l'intérieur des capsules d'étain pour analyse.

Les ratios isotopiques du carbone et de l'azote des tissus de trois huîtres et de la matière particulaire ont été mesurés par spectrométrie de masse de rapport isotopique à flux continu (CF-IRMS) en utilisant un spectromètre de masse IsoPrime (Micromass, Manchester, U.K.) relié à un analyseur élémentaire EuroEA3024 (Eurovector, Milan, Italie). La précision de 10 analyses consécutives est inférieure à 0,15 ‰ pour les ratios isotopiques du carbone et de l'azote. Les données sont exprimées en $\delta \text{ ‰}$ par rapport aux standards conventionnels, le rostre de bélemnites fossile pour le carbone et l'azote atmosphérique N_2 pour l'azote :

$$\delta^A\text{X} = ((R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1) * 10^3 (\text{‰}),$$
 avec A la masse atomique de l'isotope lourd de l'élément X et $R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$ pour le carbone et ${}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$ pour l'azote.

2.5. Taux de croissance et turnover métabolique

Les changements de la composition isotopique de l'huître sont une fonction de la croissance et ont été modélisés grâce à l'équation développée par Hesslein et al. (1993) puis reprise par Dalsgaard & John (2004). La première étude permettait d'estimer les modifications des

isotopes stables du carbone, de l'azote et du soufre, la seconde d'estimer l'incorporation des acides gras utilisés comme marqueur trophique chez de jeunes lançons.

$$(1) \quad \delta_t = \delta_f + (\delta_0 - \delta_f) \left(\frac{W_0}{W_t} \right)$$

avec δ_t la valeur $\delta^{13}\text{C}$ des tissus au moment de l'échantillonnage. δ_f est la valeur isotopique des tissus à l'équilibre avec la nouvelle nourriture (bassin de Marennes-Oléron) et δ_0 avec l'ancienne nourriture (estuaire de l'Escaut). W_t est le poids sec de l'huître au moment de l'échantillonnage et W_0 , le poids initial de l'huître. Le taux de croissance des huîtres k (j^{-1}) a été calculé pendant les phases de croissance de chaque organe selon une loi de croissance exponentielle comme déjà montré par Deslous-Paoli et Héral (1988) sur les huîtres de Marennes-Oléron. (fig. 21).

$$(2) \quad W_t = W_0 e^{kt}$$

Ce taux de croissance k est inséré dans l'équation (1)

$$(3) \quad \delta_t = \delta_f + (\delta_0 - \delta_f) e^{-kt}$$

Hesslein et al. (1993) appliquent une fonction simple pour décrire le métabolisme de remplacement tissulaire des isotopes du carbone. Nous retenons cette formulation,

$$(4) \quad \delta_t = \delta_f + (\delta_0 - \delta_f) e^{-mt}$$

avec m le turnover du carbone tissulaire de l'huître. Les équations 3 et 4 sont ajoutées afin que le renouvellement tissulaire de « dilution » par la croissance de l'animal ainsi que le turnover métabolique soient pris en compte dans le modèle

$$(5) \quad \delta_t = \delta_f + (\delta_0 - \delta_f) e^{-(k+m)t}$$

Le turnover métabolique, le seul paramètre inconnu, est estimé par régression non linéaire. Connaissant k et m , l'intervalle de temps des tissus de l'huître pour atteindre le point central entre l'état initial et à l'équilibre (en anglais doubling time), i.e. $(\delta_0 + \delta_f) / 2$, est égal à

$$(6) \quad t = \frac{\ln 2}{m + k}$$

2.6. Analyses statistiques

Les régressions non linéaires sont réalisées par l’algorithme de Marquardt-Levenberg du module non-linéaire de SigmaPlot 1.02 et les tests statistiques de comparaison de moyennes (test de Student) sur Minitab 10.2[®].

3. Résultats

3.1. Taux de croissance

Les taux de croissance ont été calculés pendant les périodes de croissance de l’animal, soit deux périodes de forte croissance pour les branchies, la glande digestive et l’huître entière et une période de croissance plus faible pour le manteau et le muscle tout au long de l’expérimentation (Tableau 1, Fig. 22). Les taux de croissance tissulaire sont de 4 à 9 fois plus élevés pour les branchies et la glande digestive que pour le manteau et le muscle. Ils s’échelonnent de 0,002 pour le muscle, 0,003 pour le manteau à 0,012 pour les branchies et enfin 0,019 pour la glande digestive (Tableau 1).

Tableau 1. *Modèle de croissance exponentielle permettant d’estimer le taux de croissance k (j^{-1}) et le poids sec initial W_0 pour chaque tissu et l’huître entière ($n = 45$)*

	k			W_0			r^2	P
Branchies	0,012	±	0,004	0,015	±	0,034	0,30	0,001
Glande digestive	0,019	±	0,003	0,011	±	0,024	0,49	0,001
Manteau	0,003	±	0,001	0,060	±	0,006	0,25	0,001
Muscle	0,002	±	0,001	0,093	±	0,009	0,11	0,050
<i>Huître entière</i>	<i>0,012</i>	±	<i>0,030</i>	<i>0,406</i>	±	<i>0,073</i>	<i>0,37</i>	<i>0,001</i>

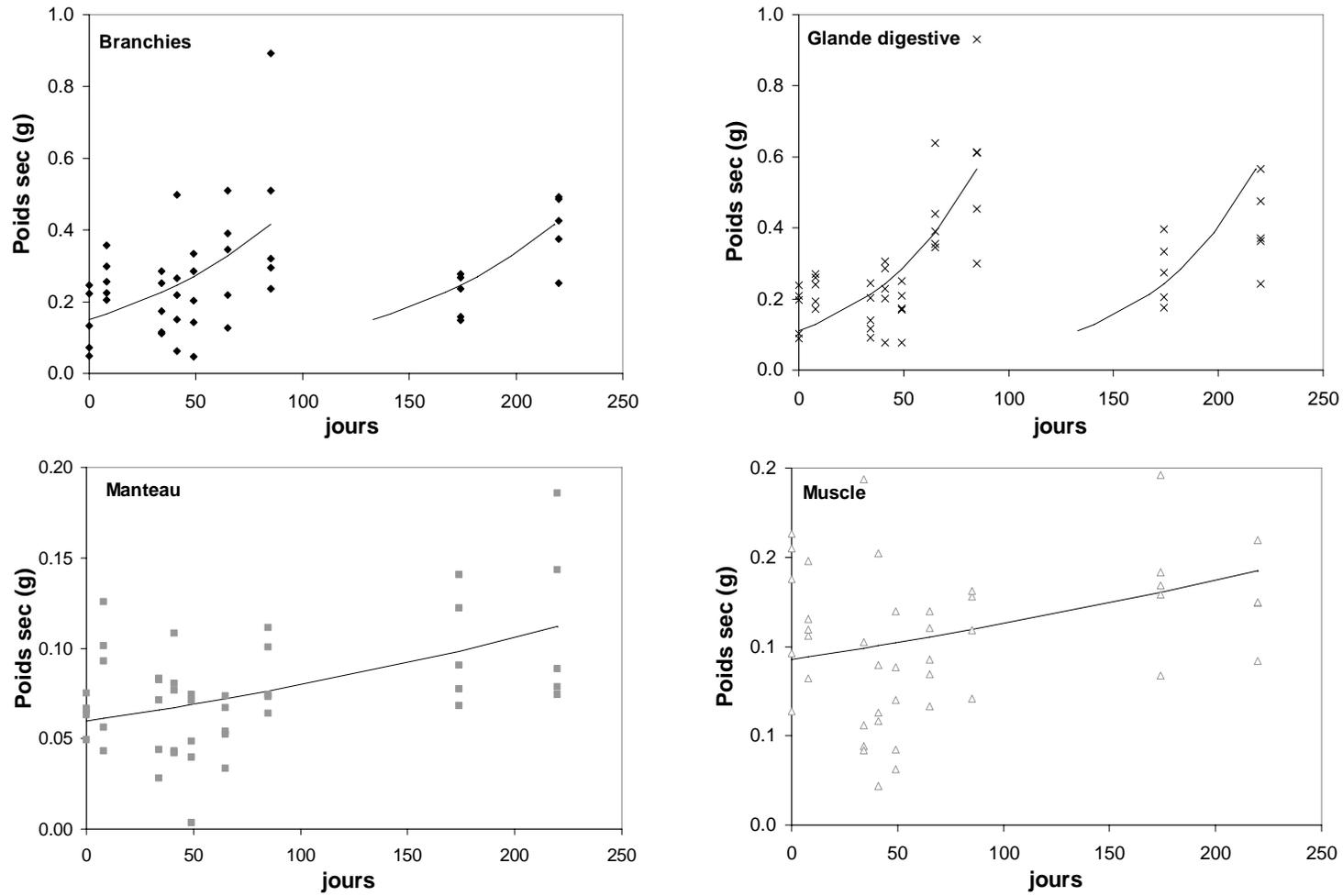


Figure 22. Poids secs des tissus ($n = 5$) des huîtres et ajustement par un modèle de croissance exponentielle (voir Tableau 1 pour le détail).

3.2. Analyse des isotopes stables

Quel que soit le tissu considéré et *a fortiori* l'animal entier, il existe une différence très significative entre les valeurs isotopiques en début et fin d'expérimentation, comprises entre 4 et 6 ‰ sur le carbone et entre 8 et 12 ‰ sur l'azote (Tableau 2). La composition isotopique des tissus au début de l'expérimentation reflète l'environnement nutritionnel du site hollandais tandis que les valeurs enrichies sur le carbone et appauvries sur l'azote à la fin de l'expérimentation soit 220 jours après la transplantation, reflètent l'environnement nutritionnel du sud de la baie de Marennes-Oléron (Tableau 2).

Tableau 2. Valeur du $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (moyenne \pm écart-type, $n = 3$) de chaque organe et de l'huître entière au début (δ_0) et à la fin de l'expérimentation (δ_f). P la probabilité du test de Student comparant les moyennes des δ_0 et δ_f .

		δ_0	δ_f	$\delta_f - \delta_0$	P
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Branchies	-24,9 \pm 0,2	-19,4 \pm 0,2	5,5	< 0,001
	Glande digestive	-26,1 \pm 0,2	-19,6 \pm 0,2	6,5	< 0,001
	Manteau	-24,4 \pm 0,6	-19,6 \pm 0,2	4,8	0,005
	Muscle	-24,0 \pm 0,0	-19,7 \pm 0,5	4,3	0,041
	<i>Huître entière</i>	-24,0 \pm 0,3	-19,6 \pm 0,2	5,4	< 0,001
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Branchies	21,5 \pm 0,3	9,5 \pm 0,6	-12,0	0,001
	Glande digestive	20,6 \pm 0,4	8,6 \pm 0,3	-12,0	< 0,001
	Manteau	20,7 \pm 0,5	11,2 \pm 1,2	-9,5	0,006
	Muscle	21,5 \pm 0,6	13,9 \pm 0,9	-7,7	0,001
	<i>Huître entière</i>	21,1 \pm 0,4	9,9 \pm 0,6	-11,2	< 0,001

Il existe une tendance des valeurs des compositions isotopiques du carbone et de l'azote de la glande digestive et des branchies à s'enrichir en ^{13}C et à s'appauvrir en ^{15}N (Fig. 23). Il n'existe pas de relation significative entre le ratio C/N des organes et la composition en isotopes stables du carbone (Fig. 24) ce qui permet d'écarter l'hypothèse d'un appauvrissement en ^{13}C sous l'influence d'une augmentation des teneurs tissulaires en composés lipidiques très appauvris en ^{13}C (Murphy & Abrajano 1994). En particulier la dispersion est extrêmement faible pour le muscle, avec un C/N en moyenne de $3,3 \pm 0,1$, et plus forte pour les autres organes avec des C/N de $4,2 \pm 0,5$, $4,7 \pm 0,5$ et $5,0 \pm 0,7$ respectivement pour le manteau, les branchies et la glande digestive.

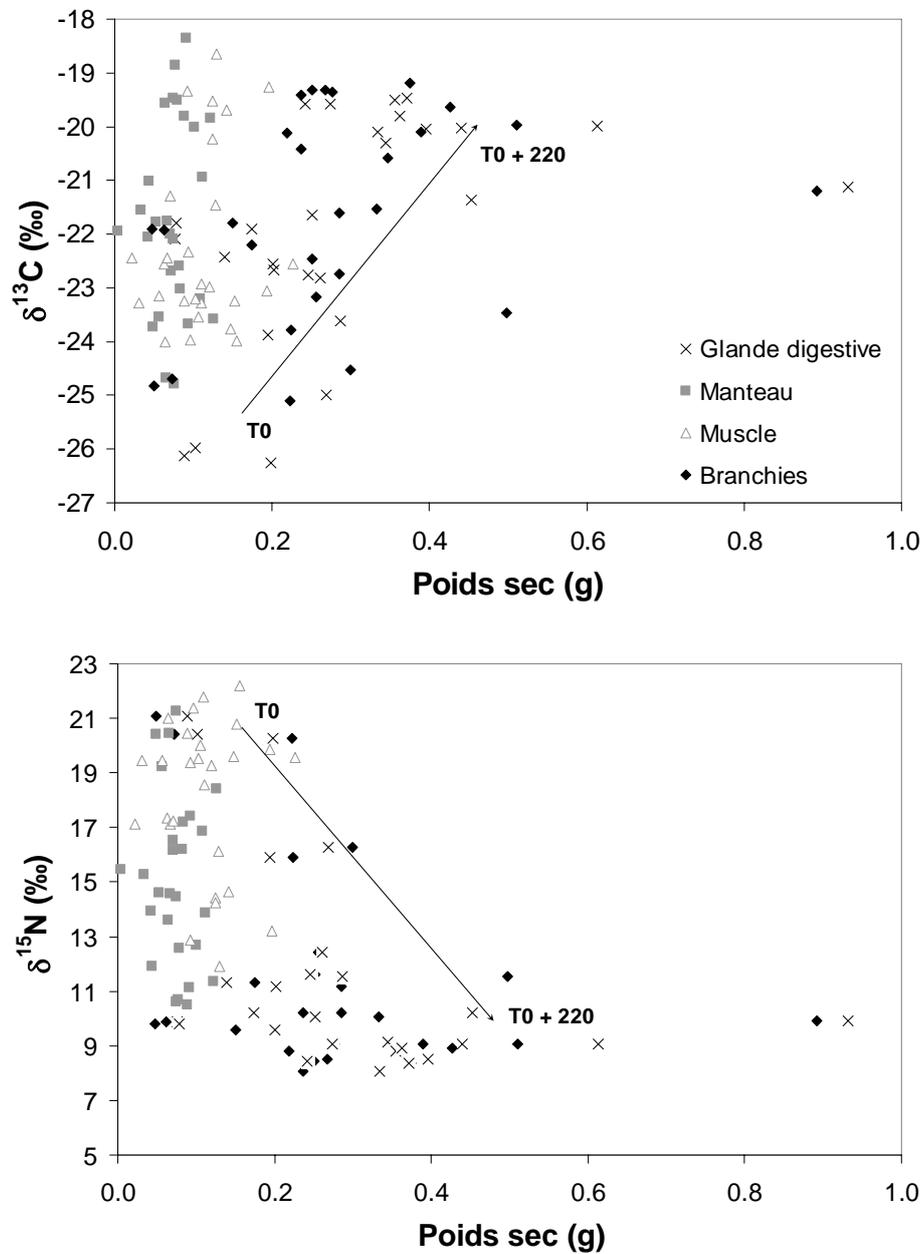


Figure 23. Relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) et le poids sec (g) des tissus des huîtres ($n = 27$). La flèche indique l'évolution des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ en fonction du poids sec au cours du temps.

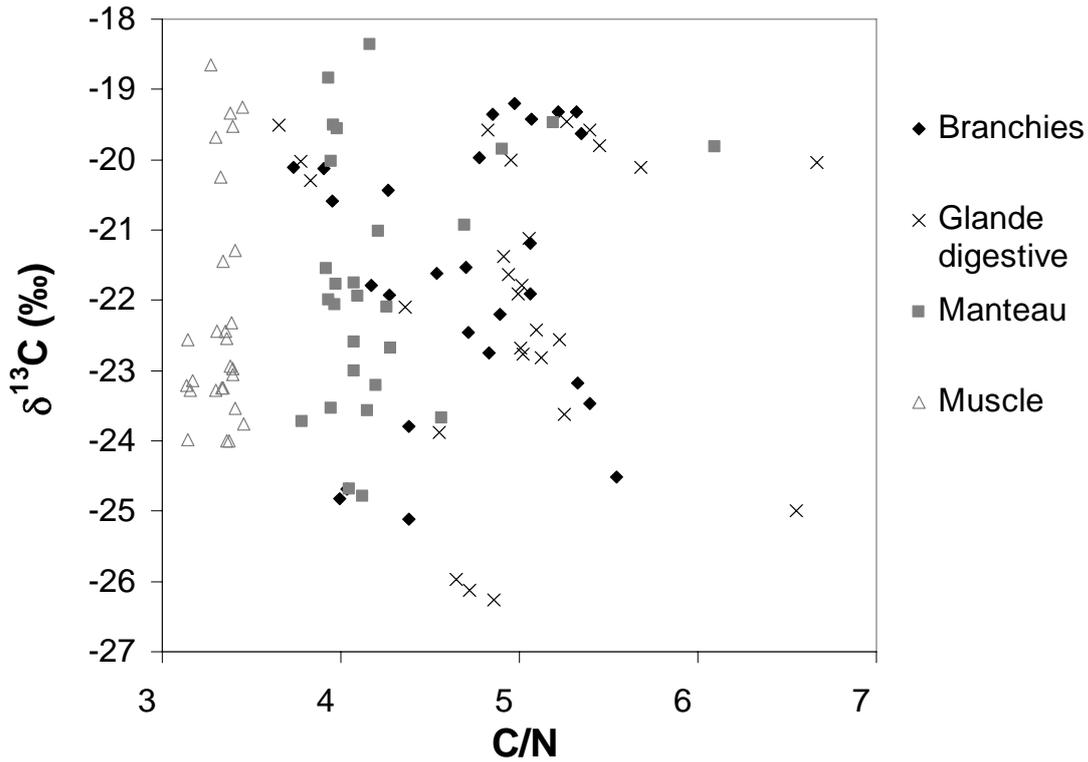


Figure 24. Relation entre le $\delta^{13}\text{C}$ (‰) et le ratio C/N des tissus des huîtres, les branchies, la glande digestive, le manteau et le muscle ($n = 27$).

3.3. Résultats du modèle

Tableau 3. Résultats du modèle : estimation des turnover des tissus des huîtres ($k + m$) résultant des meilleurs ajustements du modèle exponentiel négatif avec les valeurs observées ($k + m \pm \text{écart-type}$), et la composition isotopique initiale à T_0 $\delta_0 (\pm \text{écart type})$ et à l'équilibre $\delta_{eq} (\pm \text{écart type})$. ($n = 27$)

	Tissues	$k + m$	δ_0	δ_{eq}	r^2	P	Demi-vie (jours)
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Branchies	$0,017 \pm 0,002$	$-24,8 \pm 0,2$	$-19,1 \pm 0,3$	0,93	0,001	40
	Glande digestive	$0,023 \pm 0,004$	$-25,7 \pm 0,4$	$-19,7 \pm 0,3$	0,89	0,001	30
	Manteau	$0,012 \pm 0,002$	$-24,4 \pm 0,3$	$-18,8 \pm 0,5$	0,79	0,001	56
	Muscle	$0,008 \pm 0,003$	$-24,1 \pm 0,3$	$-19,1 \pm 0,9$	0,88	0,001	87
	<i>Huître</i>	$0,016 \pm 0,002$	$-24,8 \pm 0,2$	$-19,3 \pm 0,3$	0,93	0,001	43
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Branchies	$0,044 \pm 0,005$	$21,0 \pm 0,4$	$9,8 \pm 0,3$	0,96	0,001	16
	Glande digestive	$0,059 \pm 0,009$	$20,1 \pm 0,5$	$9,1 \pm 0,3$	0,94	0,001	12
	Manteau	$0,016 \pm 0,003$	$20,1 \pm 0,5$	$10,9 \pm 0,6$	0,88	0,001	43
	Muscle	$0,004 \pm 0,003$	$21,3 \pm 0,5$	$7,4 \pm 7,6$	0,83	0,001	173
	<i>Huître</i>	$0,034 \pm 0,004$	$20,5 \pm 0,5$	$10,1 \pm 0,4$	0,94	0,001	20

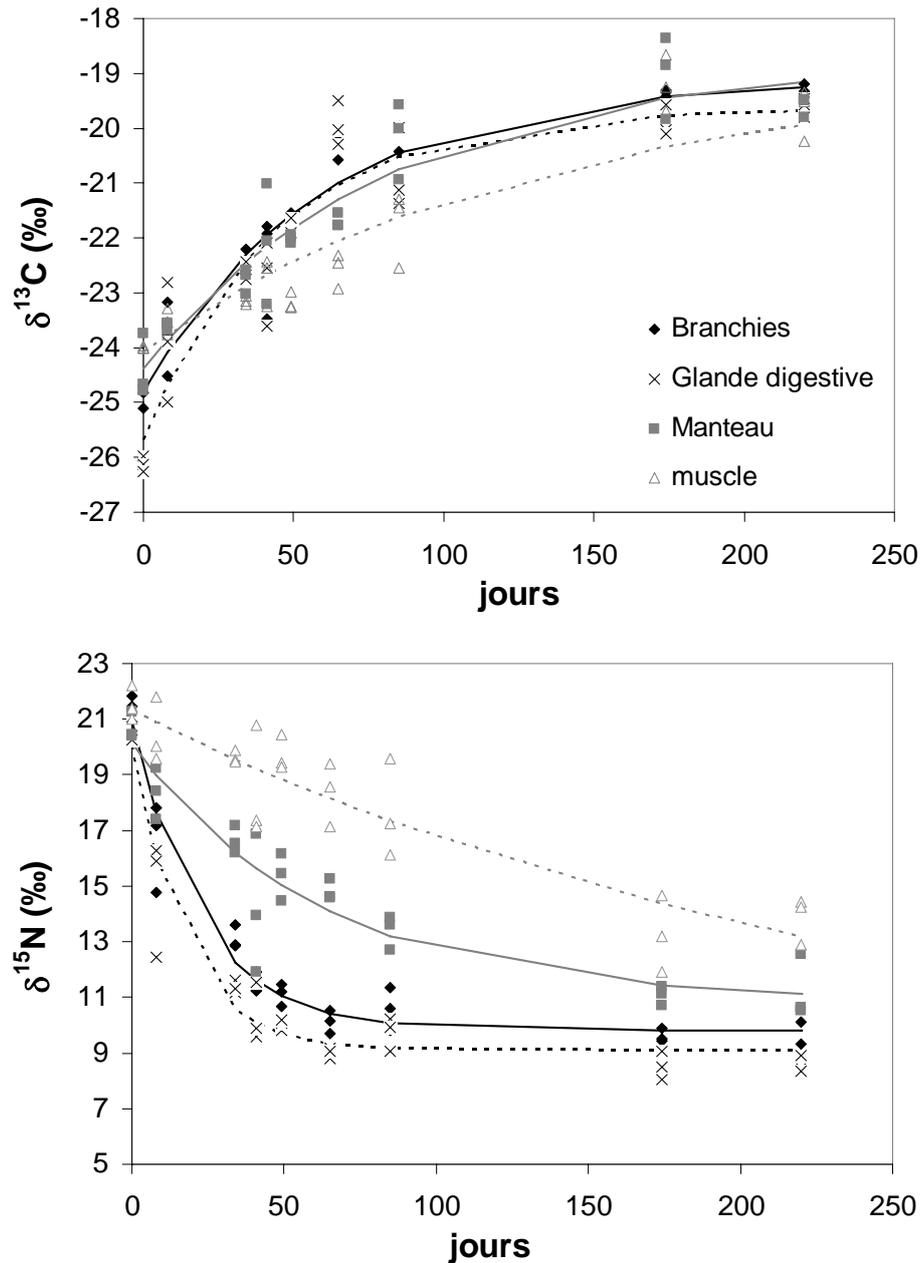


Figure 25. Evolution de la composition isotopique des huîtres après leurs transplantations. Les valeurs observées sont modélisées par régression non linéaire (voir tableau 3 pour le détail).

Les données ont été ajustées avec un modèle intégrant à la fois la croissance des organes et le turnover métabolique (équation 5). Les corrélations entre les valeurs observées et calculées sont toutes très hautement significatives (Tableau 3). Le taux de renouvellement $k + m$ a été ainsi calculé pour chaque tissu et pour l'huître entière (Tableau 3, Fig. 25). Pour le carbone, $k + m$ varie entre 0,008 pour le muscle et 0,023 pour la glande digestive. Pour l'azote, $k + m$ oscille entre 0,004 pour le muscle et 0,059 pour la glande digestive. Cependant pour le muscle l'erreur standard associée à $k + m$ est très

élevée avec $0,008 \pm 0,003$ pour le carbone et $0,004 \pm 0,003$ pour l'azote. Pour le carbone, la demi-vie de la glande digestive, des branchies et du manteau s'échelonne entre 30 à 56 jours et de l'ordre 90 jours pour le muscle. Pour l'azote, le renouvellement tissulaire de la glande digestive, des branchies et du manteau a une demi-vie de 12 à 43 jours et d'environ 170 jours pour le muscle. Les taux de renouvellement tissulaire calculés pour l'huître entière sont intermédiaires avec une demi-vie de 43 jours pour le carbone et 20 jours pour l'azote.

4. Discussion

4.1. Incorporation tissulaire du carbone et de l'azote

Comme décrit par Hesslein et al. (1993) et Dalsgaard & John (2004) notre étude montre le potentiel qu'offre le modèle alliant croissance et turnover métabolique afin de suivre l'incorporation d'une nouvelle source de nourriture. La croissance intervient pour 70 à 83 % du renouvellement tissulaire du carbone des branchies et de la glande digestive et à 23 % de celui du manteau et du muscle. La croissance intervient pour 48 % du renouvellement tissulaire de l'azote du muscle, environ 30 % de celui des branchies et de la glande digestive, et seulement pour 17 % de celui du manteau. Le renouvellement tissulaire de l'animal entier dépend à 74 % de la croissance pour le carbone et à 35 % pour l'azote. La plupart des études mettent en évidence une contribution importante de la croissance au renouvellement tissulaire et ne détectent pas ou peu d'effet du turnover métabolique sur les changements de composition isotopique, mais ce résultat pourrait résulter de biais lié à l'étude préférentielle de stades larvaires ou juvéniles à forte croissance (MacAvoy et al. 2001, Maruyama et al. 2001). Par exemple la crevette *Penaeus aztecus* (Fry & Arnold 1982) a un renouvellement du carbone qui s'explique en majeure partie par la croissance. Les autres études sont pour la plupart réalisées sur des poissons jeunes dont la croissance est forte et qui, par conséquent, contribue fortement au turnover des tissus (Herzka 2005, Suzuki et al. 2005). Un exemple contraire est donné par Voigt et al. (2003) chez les chauves-souris avec des temps de renouvellement sur le carbone inférieurs à 100 jours quels que soient les tissus. Ce turnover est en relation avec un fort taux de

renouvellement métabolique dû à des adaptations physiologiques très particulières de ce consommateur de nectar.

Notre analyse par organe montre aussi que pour l'huître, le turnover est propre à chacun des tissus. La glande digestive a une demi-vie de 30 jours sur le carbone et de 12 jours sur l'azote. Cette demi-vie est plus longue pour les branchies avec 40 jours sur le carbone et 16 jours sur l'azote. Le manteau a une demi-vie également plus longue avec 56 jours sur le carbone et peu de différence sur l'azote avec 43 jours. Le modèle appliqué au muscle ne donne pas des résultats totalement satisfaisants car les valeurs isotopiques du muscle en fin d'expérience, soit après 220 jours, ne sont pas stabilisées. Il est toutefois possible de conclure que sa demi-vie est la plus élevée sur le carbone et l'azote et de l'ordre de 100 jours sur le carbone et 200 jours sur l'azote. Nous pouvons supposer que le muscle dont le taux de renouvellement est plus long intègre lentement la variabilité isotopique de son environnement nutritionnel. La composition isotopique de l'huître entière rend compte de la moyenne des compositions isotopiques de chaque organe pondéré de leur poids sec. La glande digestive et les branchies, qui représentent 38 et 35 % du poids sec, influencent largement la composition isotopique de l'huître entière au contraire du manteau et du muscle avec seulement respectivement 11 et 15 % du poids sec.

La synthèse des protéines augmente avec l'assimilation des protéines de la nourriture, l'efficacité de synthèse pouvant atteindre 92 % en période de croissance maximale chez la moule *Mytilus edulis* (Hawkins 1985). Cette synthèse des protéines requiert peu de transformations métaboliques par l'organisme consommateur car la majeure partie des acides aminés provient de la nourriture. Ceci explique le renouvellement plus rapide de l'azote. Cette synthèse protéique est, de surcroît, très rapide chez les herbivores afin de compenser la faible teneur en protéines de leur nourriture. Au contraire, les voies de néosynthèses lipidiques sont nombreuses et des fractionnements isotopiques peuvent se produire tout au long de cette chaîne de réaction. De même, le cycle de stockage-utilisation des réserves métaboliques met en œuvre, par exemple chez les mollusques bivalves, une transformation des réserves de glycogène en lipides (Gabbott 1983). Ces multiples étapes métaboliques contribuent probablement à allonger le temps de renouvellement tissulaire du

carbone. L'incorporation de la nouvelle signature isotopique est également plus rapide dans le cas des organes avec un turnover métabolique plus rapide. Tieszen et al. (1983) montrent que la demi-vie du carbone est seulement de 6 jours pour le foie en comparaison du muscle dont la demi-vie est de 28 jours pour des rongeurs, les gerbilles (*Meriones unguiculatus*). Hobson & Clark (1994a) trouvent chez la caille des blés (*Coturnix japonica*) une demi-vie du carbone de 3 jours sur le foie et une demi-vie de 12 jours sur le muscle. Plus récemment de la Higuera et al. (1999) ont montré chez l'anguille européenne (*Anguilla anguilla*) que la synthèse des protéines du foie était 10 fois plus rapide que la synthèse des protéines du muscle. Chez les poissons poikilothermes, la plupart des études portent sur le muscle dorsal ou sur le poisson entier. Les turnovers isotopiques sont alors estimés entre un maximum de 400 jours pour un poisson chat juvénile (*Ictalurus punctatus*) de 2 ans (MacAvoy et al. 2001) à moins d'une semaine pour le Sciaenidae (*Sciaenops ocellatus*) au stade larvaire (Herzka & Holt 2000) sur le carbone et l'azote.

4.2. L'environnement nutritionnel

De nombreuses études ont estimé le turnover des tissus mais à notre connaissance seules les travaux de Lorrain et al. (2002), Dattagupta et al. (2004) et Machás et Santos (1999) ont abordé cette question chez les mollusques bivalves. Ces études ont été réalisées soit grâce à une approche contrôlée en laboratoire, soit en suivant un organisme dans son milieu et la nourriture qu'il consomme. Les expérimentations en laboratoire permettent un contrôle de la composition isotopique de la nourriture et un contrôle des temps d'expérimentation de façon à obtenir un état d'équilibre nourriture-tissu (Tieszen et al. 1983, Hesslein et al. 1993, MacAvoy et al. 2001, Bosley et al. 2002, Hobson & Bairlein 2003). Les expérimentations in situ reflètent les conditions ambiantes de l'environnement naturel de l'organisme (Herzka & Holt 2000, Maruyama et al. 2001, Kline & Willette 2002). L'organisme doit intégrer la variabilité temporelle des sources de nourriture disponibles (Herzka 2005, Perga & Gerdeaux 2005). Perga et Gerdeaux (2005) montrent que la signature isotopique des tissus reflète celle de leur environnement nutritionnel essentiellement pendant les périodes de croissance comme par exemple pour le muscle. De plus, ces conditions environnementales peuvent affecter les composantes

physiologiques dont les demandes bioénergétiques des organismes (Harvey et al. 2001) et par conséquent entraîner des modifications des turnovers des tissus. Par exemple chez les bivalves, le cycle annuel de gamétogenèse est un élément majeur de l'ensemble des processus métaboliques tels que la mise en place de réserve énergétique puis la mobilisation de ces réserves (Kang et al. 2000) avec le rôle fondamental des lipides (Gabbott 1983). Les turnovers isotopiques des tissus se trouvent donc affectés par le rôle des différents organes lors de ces différentes phases physiologiques en relation avec la synthèse de nouveaux tissus, l'accumulation et le transfert de métabolites.

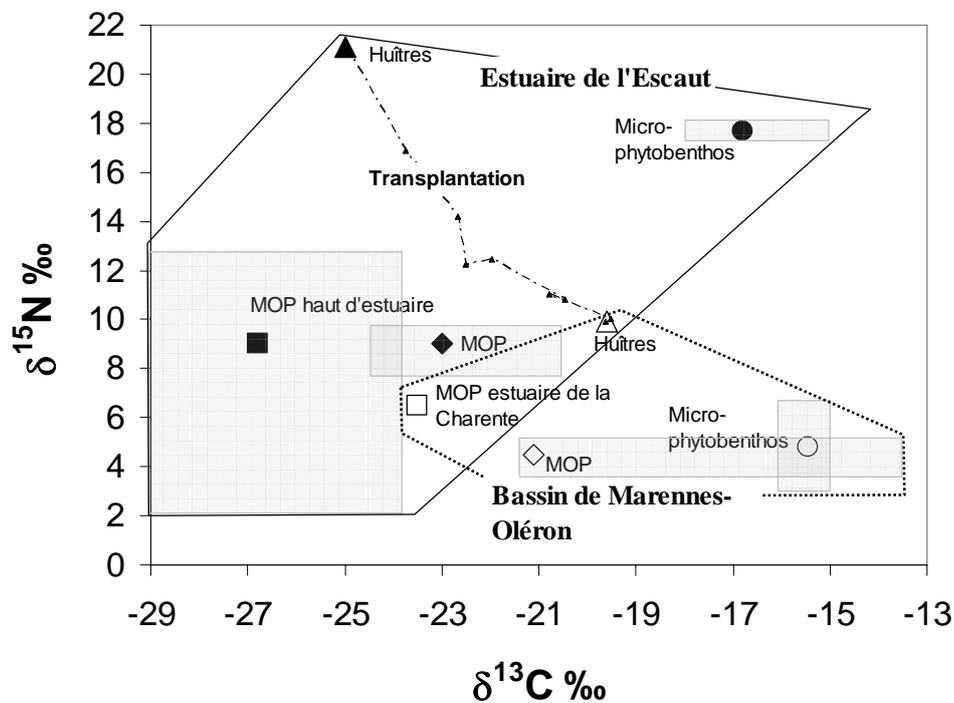


Figure 26. Valeurs des $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) des huîtres et de leurs sources de nourriture dans l'estuaire de l'Escaut (symboles pleins) et le bassin de Marennes-oléron (symboles vides) (Voir tableau 4 pour le détail). Les rectangles encerclent la variabilité des $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique particulaire (MOP) et du microphytobenthos pour les deux sites. La ligne discontinue et les triangles indiquent le changement de signature isotopique des huîtres au cours du temps lors de la transplantation.

Tableau 4. Valeurs des $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de la matière organique particulaire (MOP) et de l'huître *Crassostrea gigas* dans l'estuaire de l'Escaut et le bassin de Marennes-Oléron.

	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Situations géographiques	Périodes échantillonnées	Références
Estuaire de l'Escaut					
MOP	-20,5 to -23	9 to 10	Milieu d'estuaire	août 1994	(Middelburg & Nieuwenhuize 1998)
	-24,7 to -23,8	8,1 ± 0,1	Biezelingse Han	janvier-février 1998	(Riera et al. 2000b, Riera et al. 2004)
MOP de l'estuaire supérieur	-28 to -23,5	2,3 to 12,9	Zandvliet	1999-2000	(De Brabandere et al. 2002)
	-28,9 ± 0,1	12,0 ± 1,8	Haut d'estuaire	août 1994	(Middelburg & Nieuwenhuize 1998)
Microphytobenthos	-15 to -16		Milieu d'estuaire		(Herman et al. 2000)
	-18 to -15,6	17,7 ± 1,4	Biezelingse Han	janvier-février 1998	(Riera et al. 2000b, Riera et al. 2004)
Huîtres	-25 ± 0,3	21,1 ± 0,4	Zeedorp	avril 2003	Ce chapitre
		19,6 ± 0,5	Biezelingse Han	janvier-février 1998	(Riera et al. 2000b)
Bassin de Marennes-Oléron					
MOP	-21,1 ± 0,8	4,5 ± 0,6	Ronce-les-Bains	avril à décembre 2003	Chapitre 1
	-13,3 ± 0,6	5,7 ± 0,5	Ronce-les-Bains	07, 08, 09 2003	Chapitre 1
MOP estuarienne	-23,5 ± 1,5	6,1 to 7,5	Les Palles	1992-1993	(Riera & Richard 1997, Riera 1998)
Microphytobenthos	-14,8 ± 1,7	3,4 ± 1,2	Ronce-les-Bains	2003	Chapitre 1
	-16,1 ± 0,7	4,1 to 6,9	Les Palles	1992-1993	(Riera & Richard 1997, Riera 1998)
Huîtres	-19,1 ± 0,1	10 ± 0,4	Ronce-les-Bains	décembre 2003	Chapitre 1

Les environnements nutritionnels du site d'origine (Estuaire de l'Escaut) et du site de transplantation (Bassin de Marennes-Oléron) des huîtres sont résumés dans le tableau 4 et la figure 26. L'estuaire de l'Escaut est caractérisé par une matière organique particulaire, composée de matériel continental, apportée par l'Escaut. La signature isotopique de la matière organique particulaire enrichie en ^{15}N reflète l'enrichissement en ^{15}N du pool d'ammonium induit par la nitrification et la consommation de ce pool d'ammonium par les producteurs primaires (De Brabandere et al. 2002). Une forte production phytoplanctonique est également avérée mais la valeur isotopique des algues pures de l'ordre de -21 ‰ sur le carbone et 15 ‰ sur l'azote (De Brabandere et al. 2002) reste difficilement identifiable du fait d'une forte charge particulaire (Middelburg & Nieuwenhuize 1998, Riera et al. 2000b, De Brabandere et al. 2002). Il en résulte une matière organique dont la composition isotopique est intermédiaire et qui connaît du fait 1) de sources organiques de compositions isotopiques très distinctes, 2) d'un taux de renouvellement des masses d'eau de l'ordre de 3 mois et 3) des apports fluviaux en liaison avec les débits du fleuve, une variabilité temporelle très marquée (De Brabandere et al. 2002). La matière organique du bassin de Marennes-Oléron est également composée de matériel issu du fleuve Charente, de microphytobenthos produit à l'échelle de larges vasières et de phytoplancton néritique (Galois et al. 1996, Richard et al. 1997). Il en résulte un pool de matière organique de composition isotopique intermédiaire à la composition isotopique de chacune de ces sources. Cependant l'ensemble de ces sources est compris dans une gamme de valeurs isotopiques plus restreinte tant sur le carbone que sur l'azote qu'au niveau de l'estuaire de l'Escaut limitant de ce fait la variabilité du pool de matière organique (Riera & Richard 1996, Richard et al. 1997). L'environnement nutritionnel du bassin de Marennes Oléron est plus stable, avec des échelles de variabilité saisonnière sur le sud du bassin (Soletchnik et al. 1998). Cette stabilité est accrue par une homogénéisation des sources au sein du bassin du fait d'un courant de circulation résiduelle nord-sud.

Dans l'estuaire de l'Escaut, Riera et al. (2004) s'appuyant sur un modèle de mélange à deux sources, la matière organique particulaire et les diatomées benthiques, et utilisant seulement les isotopes du carbone, privilégiaient la contribution de la matière organique particulaire en

suspension à hauteur de 74 % et les diatomées benthique à hauteur de 26 % au régime alimentaire des huîtres. En effet, sur le carbone, la composition isotopique de l'huître est proche de celle de la matière organique mais comment expliquer qu'il existe une discrimination de plus de 10 ‰ sur les $\delta^{15}\text{N}$ entre l'huître et la matière organique. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées. Une assimilation différentielle du carbone et de l'azote des sources de nourriture pourrait expliquer cette composition isotopique de l'huître. Le carbone serait pris sur le pool de matière organique et l'azote sur le microphytobenthos (Gannes et al. 1997). Une seconde hypothèse s'appuie sur l'identification d'une source de nourriture disponible masquée par le pool de matière organique particulière en suspension. De Brabandere et al. (2002) ont caractérisé la signature isotopique du phytoplancton de la station de Zandvliet (Fig. 21) grâce aux analyses isotopiques des copépodes Calonoides préférentiellement phytophages durant les blooms. La composition isotopique de ces copépodes corrigée de la différence isotopique avec leur nourriture reflète de mai à novembre la signature isotopique du phytoplancton pur avec un $\delta^{15}\text{N}$ de 18,9 ‰ (De Brabandere et al. 2002) soit une différence avec la matière organique particulière de 10,7 ‰. Il n'existe pas de donnée disponible en décembre mais, de janvier à février, la signature de l'azote du phytoplancton pur est de 9,9 ‰. Par conséquent, en hiver, et compte tenu du temps d'intégration du signal isotopique, la composition isotopique des huîtres de l'estuaire de l'Escaut reflèterait la contribution des diatomées benthiques mais également du phytoplancton pur à leur régime alimentaire.

Il reste cependant difficile de statuer sur la discrimination qui existe entre l'huître et sa source de nourriture dans l'estuaire de l'Escaut dans la mesure où l'existence d'une source phytoplanctonique disponible est masquée par les fortes concentrations en matière organique détritique de la colonne d'eau (De Brabandere et al. 2002). Cette discrimination est d'autant plus difficile à estimer que récemment Pearson et al. (2003) ont suggéré une influence de la composition biochimique de la nourriture sur la différence entre les tissus d'un organisme et sa nourriture.

Concernant le bassin de Marennes-Oléron le pool de matériel organique peut être considéré comme la source de nourriture moyenne de l'huître. Il existerait alors un enrichissement en ^{15}N et ^{13}C des tissus des huîtres transplantées vis-à-vis de leur nourriture et une différence de l'ordre de 2

‰ sur le carbone et 5 ‰ sur l'azote suggérant une contribution significative du microphytobenthos au carbone intégré. Sur le carbone, les tissus sont enrichis entre 1,5 ‰ pour la glande digestive et 2 ‰ pour les branchies et le manteau. Sur l'azote, la glande digestive, les branchies et le manteau sont enrichis respectivement de 4, 5 et 6 ‰. La glande digestive est le tissu dont la composition isotopique est la plus proche de la source de nourriture. Nous pouvons avancer l'hypothèse que plus le nombre de synthèses biochimiques est élevé plus une discrimination envers l'isotope lourd peut se produire (Focken 2001). La glande digestive a un métabolisme rapide, ce qui signifie que les réactions biochimiques sont réduites ou facilitées et par conséquent, que la différence isotopique glande digestive - nourriture est faible.

Il est difficile de comparer la différence isotopique tissus - nourriture avec d'autres études car les mollusques marins ont été très peu étudiés, de même que les régimes alimentaires détritiques de filtreurs suspensivores tel que l'huître. Minagawa & Wada (1984) indiquent un $\Delta \delta^{15}\text{N}$ (différence isotopique tissus - nourriture) de 2 ‰ pour la moule *Mytilus edulis*. Les différences tissus – nourriture de notre étude sont toutefois supérieures à celles généralement admises par la littérature (DeNiro & Epstein 1978, 1981). Les premières études indiquaient des enrichissements en ^{15}N de 3,5 ‰. En fait, il semble que les différences isotopiques tissus - nourriture sont très variables (Vander Zanden et al. 1997, McCutchan et al. 2003) et dépendent beaucoup du régime alimentaire :

1) D'après McCutchan et al. (2003) il semble que la phytophagie implique une différence isotopique tissus - nourriture plus élevée.

2) Une différence isotopique huître - nourriture de l'ordre de 5 ‰ pourrait être également le résultat d'un niveau trophique supérieur, conséquence du régime phytophage mais également détritivore de l'huître (Langdon & Newell 1990). En effet, les détritiques correspondent à de la matière fraîche dégradée et assimilée par les bactéries puis consommée par l'huître induisant une transition trophique supplémentaire. Les travaux Le Gall et al. (1997) et de Dupuy et al. (1999, 2000a, 2000b) démontrent que les huîtres consomment également des protistes et par conséquent ont un régime omnivore qui implique un niveau trophique supérieur. L'oscillation entre phytophagie, détritivorie et omnivorie est clairement identifiée par Riera (1998) dans son étude *in*

situ sur la composition isotopique de *Crassostrea gigas* selon un gradient estuarien dans le bassin de Marennes-Oléron. La différence huître – nourriture de 6,4 ‰ en haut d'estuaire, en milieu continental, indique un second niveau trophique de l'huître. L'auteur suggère un transfert de matériel organique *via* les bactéries et les ciliés ingérés ensuite par l'huître. En milieu d'estuaire, la différence huître – nourriture s'amenuise impliquant un régime mixte entre les apports des sources continentales et néritique hors de l'estuaire. Enfin, hors de l'estuaire, cette différence huître – tissu est minime avec environ 2 ‰ qui s'explique par un régime essentiellement phytophage.

3) Enfin Adams & Sterner (2000) montrent grâce aux ratios C/N que des $\Delta \delta^{15}\text{N}$ élevés seraient le résultat d'une faible qualité de la nourriture qui entraînerait le recyclage interne de l'azote et aboutirait à un fractionnement supplémentaire. Hawkins (1985, 1991) a par ailleurs montré chez la moule *Mytilus edulis* que le recyclage interne de l'azote, par catabolisme des protéines, augmente quand l'assimilation des protéines de la nourriture diminue.

Enfin, il existe des relations étroites entre la qualité de la source de nourriture la charge particulaire et les réponses physiologiques et morphologiques des huîtres (Barillé et al. 2000). Barillé (1995) montre une efficacité d'assimilation maximale de 30 % pour du matériel détritique et de 70 % pour des microphytes. Les données hydrobiologiques à Marennes-Oléron en automne 2003 (chapitre 1) montrent une charge particulaire maximale ainsi qu'un pool de matière organique constitué à la fois de phytoplancton néritique et de matériel détritique. Il a également été montré par Barillé et al. (2000) en deux sites de la baie de Bourgneuf, sélectionnés selon un critère de turbidité plus ou moins fort, que l'huître s'adaptait morphologiquement aux fortes charges particulaires en augmentant la surface des palpes labiaux et en diminuant la surface branchiale. Or nous avons constaté un fort développement des tissus branchiaux, sans développement du manteau comme c'est généralement le cas en période de croissance. Ceci pourrait traduire une adaptation morphologique de l'huître à une charge particulaire élevée en baie de Marennes-Oléron. Ces adaptations conduiraient à une meilleure efficacité d'assimilation de l'ensemble des sources de nourriture (phytoplancton pur et détritus) présent dans la colonne d'eau.

Chapitre 3.

**Processus d'incorporation de la signature isotopique chez
l'huître *Crassostrea gigas* en période de gamétogenèse :
comparaison entre des huîtres diploïdes et triploïdes**

Chapitre 3. Processus d'incorporation de la signature isotopique chez l'huître *Crassostrea gigas* en période de gamétogenèse : comparaison entre des huîtres diploïdes et triploïdes

1. Introduction

Depuis une vingtaine d'années l'utilisation de l'analyse des isotopes stables (AIS) pour étudier les réseaux trophiques a connu un important essor. De nombreuses questions ont émergé concernant les postulats de départ et soulignant la question de la fiabilité de la technique (Gannes et al. 1997). Ces questions concernent par exemple le turnover isotopique. Le turnover isotopique est défini par le changement de signature isotopique des tissus dû à la croissance et au renouvellement métabolique (Hesslein et al. 1993, MacAvoy et al. 2001). En fonction de ce turnover isotopique, il existe un délai pour que la composition isotopique des tissus du consommateur soit en équilibre avec la composition isotopique de sa source de nourriture.

Le turnover isotopique a fait l'objet de nombreuses études sur les organismes endothermes (Tieszen et al. 1983, Hobson & Clark 1994a, Kelly 1999, Roth & Hobson 2000, Kurle & Worthy 2002, Hobson & Bairlein 2003) et de façon plus restreinte sur des organismes ectothermes tels que les crustacés (Fry & Arnold 1982, Gleason 1986, Preston et al. 1996, Frazer et al. 1997), les insectes (Ostrom et al. 1997) et pour la majorité sur les poissons (Hesslein et al. 1993, Herzka & Holt 2000, MacAvoy et al. 2001, Herzka 2005). Le taux de renouvellement isotopique est généralement déterminé expérimentalement en suivant l'acquisition par le consommateur de la signature d'une nouvelle source de nourriture de composition isotopique distincte de celle utilisée précédemment. Les organismes endothermes présentent des taux de renouvellement isotopique rapides pour certains de leurs tissus tels que le foie, au contraire des tissus à croissance lente comme le muscle (Tieszen et al. 1983, Hobson & Clark 1994a). Comme le souligne Herzka (2005), le processus de renouvellement isotopique est peu connu chez les ectodermes avec une dizaine de publications chez les poissons (Hesslein et al. 1993, Herzka & Holt 2000, Harvey et al. 2001,

MacAvoy et al. 2001, Maruyama et al. 2001, Bosley et al. 2002, Kline & Willette 2002, Tominaga et al. 2003, Dalsgaard & John 2004, Herzka 2005). L'état des connaissances est encore plus restreint si l'on s'attache à l'embranchement des Mollusques et plus particulièrement à la classe des Bivalves (Raikow & Hamilton 2001, Dattagupta et al. 2004). L'étude de Raikow & Hamilton (2001) avait pour but de déterminer le régime alimentaire de bivalves d'eau douce de la famille des unionidés grâce, entre autres, à une expérimentation d'enrichissement du cours d'eau en ^{15}N . Ces auteurs concluent que le muscle intègre la signature isotopique de sa nourriture sur une période plus longue (environ 300 jours) que la glande digestive. Dattagupta et al. (2004) utilisent la transplantation de moules *Bathymodiolus childressi* dans différents sites distincts et ainsi définissent *in situ* le turnover des isotopes stables des tissus du bivalve. Cependant *B. childressi* est une espèce méthanotrophe des zones d'infiltration d'hydrocarbures (marge continentale du Golfe du Mexique) dont la faible croissance et le renouvellement métabolique lent sont caractéristiques des organismes vivants à de basses températures (6 à 8 °C). Par conséquent, les très faibles turnovers isotopiques calculés par ces auteurs sont difficilement comparables à ceux potentiellement trouvés dans des environnements « non extrêmes ».

La plupart des études portant sur la contribution de la croissance et du renouvellement métabolique au turnover isotopique des tissus a été réalisée sur le muscle de poissons (Herzka 2005). Peu d'études ont été réalisées sur d'autres organes afin d'estimer quel organe intègre le plus vite le signal isotopique de la nourriture. Les travaux de Suzuki et al. (2005) portent, par exemple, à la fois sur le muscle, le foie et les écailles de bars japonais *Lateolabrax japonicus*. Chez les mollusques, le turnover métabolique de la glande digestive et du muscle a été abordé par Raikow & Hamilton (2001) et celui de l'association du manteau et des branchies par Dattagupta et al. (2004). Or les organismes intègrent des sources de nourriture différentes au cours de leur vie du fait de leur mobilité mais également de la variabilité temporelle des sources. Par conséquent, une des questions prioritaires à résoudre est le temps nécessaire à l'acquisition d'une nouvelle source de nourriture en adéquation avec la variabilité temporelle du signal isotopique de la nourriture assimilée.

De plus, la plupart des études portant sur le turnover isotopique sont le fruit d'expérimentations en laboratoire sous des conditions contrôlées avec un approvisionnement

constant en nourriture de composition isotopique connue. Dans leur environnement naturel, les organismes sont soumis à différentes phases physiologiques tout au long de l'année, incluant des périodes de croissance somatique et gonadique, et des périodes de repos gonadique ou de métabolisme basal où la croissance intervient peu. Par exemple, chez les bivalves, le cycle annuel de gamétogenèse est un élément majeur de l'ensemble des processus métaboliques tels que la mise en place de réserves énergétiques puis la mobilisation de ces réserves pour lesquelles les lipides jouent un rôle fondamental (Gabbott 1983). Les turnovers isotopiques des tissus se trouvent donc affectés par le rôle des différents organes lors de ces différentes phases physiologiques en relation avec la synthèse de nouveaux tissus, l'accumulation et le transfert de métabolites. En conséquence, la signature de la nourriture n'est pas intégrée de la même façon qu'il s'agisse par exemple du muscle, de la glande digestive ou d'autres tissus. Les études d'AIS *in situ* menées par Lorrain et al. (2002) sur la coquille Saint-Jaques *Pecten maximus* et par Perga & Gerdeaux (2005) sur le corégone *Coregonus lavaretus* sont les premières à avoir associées la variabilité isotopique des sources de nourriture et l'influence du métabolisme sur la composition isotopiques des organismes.

Le but de cette étude est donc de déterminer les processus d'incorporation de la signature isotopique chez l'huître *Crassostrea gigas*. Les hypothèses suivantes peuvent être avancées :

- 1) Les turnovers isotopiques dépendent à la fois de la croissance des huîtres et de leur renouvellement métabolique.
- 2) Les turnovers isotopiques diffèrent entre les tissus selon leur implication dans les processus physiologiques.
- 3) La période de reproduction est un processus physiologique majeur. La métabolisation des réserves énergétiques, en vue de la synthèse des gonades et la ponte durant l'été, se traduit par des répercussions sur les processus le renouvellement tissulaire.

Notre étude a donc été réalisée expérimentalement *in situ* grâce à la transplantation d'huîtres sur un site ostréicole du bassin de Marennes-Oléron. Le suivi de l'acquisition de la composition isotopique a été réalisé sur cinq organes, les branchies, la glande digestive, le manteau le muscle et les gonades. L'expérimentation a été conduite durant la phase de croissance des huîtres

d'avril à juillet qui correspond également à la période de gamétogenèse. Ces expérimentations seront réalisées simultanément sur des huîtres diploïdes et triploïdes. Les huîtres triploïdes stériles seront pour la première fois utilisées comme un « outil » original permettant de démasquer les processus métaboliques impliqués dans la reproduction (Kong et al. 2001).

2. Matériels et méthodes

2.1. Transplantations et environnement nutritionnel

□ Marquage isotopique

Les huîtres diploïdes et triploïdes *Crassostrea gigas* ont été stabulées à la station IFREMER de Bouin afin qu'elles acquièrent une signature isotopique dite « continentale » appauvrie en $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ ($\delta^{13}\text{C} = -25,1 \pm 0,3 \text{ ‰}$ pour les diploïdes et $-25,5 \pm 0,2$ pour les triploïdes, $\delta^{15}\text{N} = 9,0 \pm 0,2 \text{ ‰}$ pour les diploïdes et $8,1 \pm 0,1 \text{ ‰}$ pour les triploïdes). Ce marquage consiste en l'élevage pendant 75 jours des huîtres par une alimentation monospécifique de l'algue fourragère *Skeletonema costatum* en flux continu. Cette diatomée est très adaptée à la qualité en nutriments des eaux souterraines salines (Tableau 5). Elle croit en culture monospécifique dans des bassins extérieurs de 50 m³ alimentés en eaux salines souterraines. Les variations physico-chimiques de ces eaux souterraines sont faibles au sein d'une même aire géographique et permettent une utilisation quasi directe de cette eau pour la production phytoplanctonique. Le rapport des concentrations en éléments nutritifs tels que le phosphore et l'azote, ainsi que la grande quantité de silicium permettent une croissance optimale des diatomées. La culture de microalgues est ensuite injectée dans l'eau de circulation de l'élevage lorsqu'elle atteint la phase de croissance exponentielle. Ces diatomées ont une composition isotopique en carbone de $-28,7 \pm 1,5 \text{ ‰}$ et en azote de $6,4 \pm 0,4 \text{ ‰}$.

Tableau 5. Caractéristiques des eaux de forage du polder de Bouin (d'après Baud & Bacher 1990).

T (°C)	S	pH (μmol^{-1})	NH_4^+ (μmol^{-1})	NO_2^- (μmol^{-1})	NO_3^- (μmol^{-1})	PO_4^{3-} (μmol^{-1})	SiO_3^- (μmol^{-1})	Fe total (mg^{-1})
13,5	30,4	7,25	307,5	0,2	0,3	24,6	178,9	3,3

□ Transplantation sur un parc ostréicole

Les huîtres diploïdes et triploïdes ont été transplantées (Figure 27) des bassins de la station IFREMER Bouin sur les estrans du banc du Perquis le 24 avril 2002 puis échantillonnées ($n = 5$) à T0 + 2, 5, 9, 20, 29, 49, 63, 77 et 92 jours soit le 25 juillet 2002. Elles ont été mises en poche sur table ostréicole traditionnelle en fer surélevée à 70 cm du sédiment.

Pour chaque date de prélèvement, les huîtres échantillonnées ont subi un jeûne de 24 heures dans de l'eau de mer filtrée et oxygénée puis ont été congelées. Les huîtres ont été maintenues congelées ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) afin de les disséquer facilement par organes : branchies, glande digestive, manteau, muscle et gonade. Le poids sec de chaque organe a été mesuré ($n = 5$ huîtres) après lyophilisation afin de déterminer le taux de croissance par organe et également de calculer la signature isotopique d'une huître entière selon la formule pondérée suivante :

$$\delta_i \text{ huître} = \frac{\sum_{i=1}^{n_{\text{org}}} \delta_i \text{ org}_i \times W_t \text{ org}_i}{\sum_{i=1}^{n_{\text{org}}} W_t \text{ org}_i}$$

avec, $n_{\text{org}} = 4$ hors période de gamétogenèse et $n_{\text{org}} = 5$ en période de gamétogenèse, $W_t \text{ org}$ le poids sec de chaque organe au moment de l'échantillonnage et $\delta_i \text{ org}$ la signature isotopique de chaque organe au moment de l'échantillonnage. Dans l'absolu, un calcul rigoureusement exact devrait considérer un bilan en masse en ^{13}C et en ^{15}N . En réalité, l'erreur d'approximation ($< 1.10^{-4} \text{ ‰}$) commise en utilisant les unités δ est, pour la gamme de valeurs observées sur le $\delta^{13}\text{C}$ et le $\delta^{15}\text{N}$, négligeable en regard de la précision des mesures (0,15 ‰). Ceci explique pourquoi la formulation des équations en unité δ est toujours utilisée et ce, par exemple, pour les calculs des modèles de mélange (Phillips & Gregg 2001).

□ Le seston

Les échantillons d'eau ont été collectés bimensuellement sur l'estran de Ronce-les-Bains pendant les deux premières heures du flot. La matière particulaire totale a été obtenue par filtration sur filtres calcinés Whatman GF/C séchés 24 heures à 60 °C.

2.2. Analyses isotopiques

Chaque huître a été disséquée, rapidement congelée puis chaque tissu a été lavé à l'HCl 10 % et rincé brièvement deux fois à l'eau déminéralisée puis congelé avant lyophilisation. La glande digestive, les branchies, le manteau ainsi que les gonades ont été réduits en une fine poudre tandis qu'une fine partie du muscle a été découpée au scalpel après lyophilisation puis placée à l'intérieur des capsules d'étain pour analyse. Pour les huîtres triploïdes, les gonades n'ont pas été disséquées car l'observation visuelle des tissus, confortée par l'observation sous lame et lamelle, n'a pas permis de trouver de produits génitaux.

Les filtres chargés de matière particulaire ont été acidifiés avec des vapeurs d'acide HCl 2N afin d'ôter les carbonates puis conservés congelés jusqu'à analyse. La matière particulaire a été récupérée en grattant la surface du filtre après lyophilisation et placée dans des capsules d'étain.

Les ratios isotopiques du carbone et de l'azote des tissus de trois huîtres et de la matière particulaire ont été mesurés par spectrométrie de masse de rapport isotopique à flux continu (CF-IRMS) en utilisant un spectromètre de masse IsoPrime (Micromass, Manchester, U.K.) relié à un analyseur élémentaire EuroEA3024 (Eurovector, Milan, Italie). La précision de 10 analyses consécutives est inférieure à 0,15 ‰ pour les ratios isotopiques du carbone et de l'azote. Les données sont exprimées en δ ‰ par rapport aux standards conventionnels, le rostre de bélemnites fossile pour le carbone et l'azote atmosphérique N₂ pour l'azote selon la formule :

$\delta^A X = ((R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1) * 10^3$ (‰), avec A la masse atomique de l'isotope lourd de l'élément X et R = ¹³C/¹²C pour le carbone et ¹⁵N/¹⁴N pour l'azote.

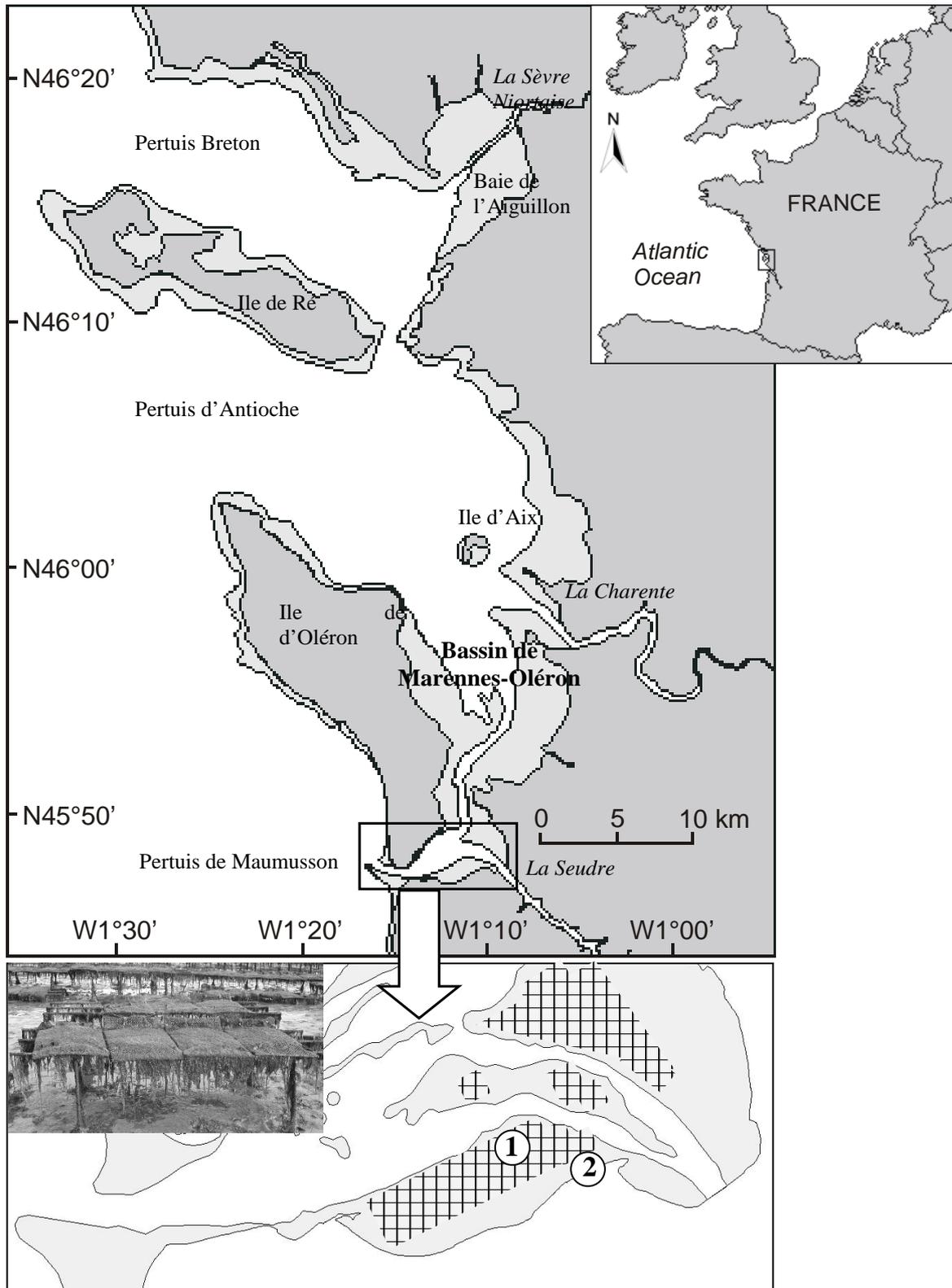


Figure 27. Localisation du site de transplantation sur le banc ostréicole du Perquis (1) et du site de prélèvement d'eau sur l'estran de Ronce-les-Bains (2). Le quadrillage représente l'emplacement des concessions ostréicoles. La photographie représente les tables ostréicoles surélevées utilisées pour cette étude.

2.3. Taux de croissance et turnover métabolique

Avec l'objectif de décrire l'acquisition de la composition isotopique des tissus des huîtres, un modèle simple à deux compartiments a été choisi : la croissance (ajout de tissus) et le renouvellement métabolique (renouvellement de tissus) (Hesslein et al. 1993, Dalsgaard & John 2004). Ce modèle repose sur deux principes : 1) tout nouveau tissu synthétisé après le changement de régime alimentaire s'équilibre avec la signature isotopique de la nouvelle source de nourriture et 2) une proportion de la masse des tissus de l'animal est renouvelée régulièrement avec ou sans croissance. La valeur δ_t des tissus de l'huître après le changement de nourriture, due uniquement à la croissance, peut être calculée comme suit :

$$\delta_t = \delta_f + (\delta_0 - \delta_f) \left(\frac{W_0}{W_t} \right)$$

δ_0 est la valeur $\delta^{13}\text{C}$ des tissus au moment de l'échantillonnage. δ_f est la valeur isotopique des tissus à l'équilibre avec la nouvelle nourriture (bassin de Marennes-Oléron) et δ_0 avec l'ancienne nourriture (*Skeletonema costatum*). W_t est le poids sec de l'huître au moment de l'échantillonnage et W_0 , le poids initial de l'huître. Un modèle simple de croissance exponentielle $W_t = W_0 e^{kt}$, avec k (j^{-1}) le taux de croissance, est ajusté aux poids sec selon les phases de croissance décrites par Deslous-Paoli & Héral (1988). Seules les huîtres triploïdes présentent cette phase de croissance au contraire des huîtres diploïdes dont le poids sec ne varie pas (Tableau 6 et 7, Fig. 28).

Le taux de croissance k et le paramètre m constant traduisant le renouvellement métabolique sont intégrés à l'équation précédente. Par ajout de k

$$\delta_t = \delta_f + (\delta_0 - \delta_f) e^{-kt}$$

puis par ajout de m , l'équation devient :

$$\delta_t = \delta_f + (\delta_0 - \delta_f) e^{-(k+m)t}$$

Connaissant k et m , l'intervalle de temps des tissus de l'huître pour atteindre le point central entre l'état initial et à l'équilibre, c'est à dire $(\delta_0 + \delta_f) / 2$, est égal à : $t = \ln 2 / (m + k)$

2.4. Analyses statistiques

L'homoscédasticité des variances a été vérifiée par le test de Levene ($P > 0.01$) avant d'effectuer des analyses de variance. Une analyse de variance (ANOVA) à deux facteurs (ploïdie et dates de prélèvement) a été effectuée afin de comparer les variations temporelles des poids sec des tissus et des huîtres entières. Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur (dates de prélèvement) ainsi que la comparaison entre le poids sec initial et final des tissus de l'huître grâce au test de comparaison de moyennes de Student ont été effectuées. Enfin, la comparaison des moyennes des compositions isotopiques en début et fin d'expérimentation a été effectuée par un test de Student.

Les analyses de variance ont été réalisées à l'aide du logiciel Minitab10.2[®]. Les régressions non linéaires ont été réalisées à l'aide du module non-linéaire de SigmaPlot 1.02 basé sur l'algorithme de Marquardt-Levenberg.

3. Résultats

3.1. Croissance des huîtres diploïdes et triploïdes

Les résultats de l'ANOVA à deux facteurs croisés (niveau de ploïdie et dates de prélèvement) montrent pour le poids sec des branchies, manteau et muscle une différence hautement significative entre les huîtres diploïdes et triploïdes (Tableau 6). Pour la glande digestive, il n'y a pas de différence du poids sec en fonction du niveau de ploïdie. Toutefois, les facteurs dates de prélèvement et niveau de ploïdie interagissent indiquant que l'effet ploïdie s'exerce à certaines dates de l'expérimentation. L'huître entière montre les mêmes résultats que la glande digestive car le poids sec de la glande digestive, qui représente entre 40 et 50 % du poids sec total (données non présentées) influence la variation du poids sec de l'huître entière.

Les résultats du test de Student montrent qu'il n'existe pas de différence entre les poids sec en début et fin d'expérimentation chez les huîtres diploïdes. Or, il existe effectivement des variations du poids sec chez les diploïdes mais qui sont masquées par le développement gonadique

avec, par exemple, une ponte après le 80^{ème} jours d'expérimentation. Au contraire, pour les huîtres triploïdes, cette différence est hautement significative (branchies, muscle, huître entière) à très hautement significative (glande digestive) à l'exception du manteau (Tableau 7). Nous considérons donc pour cette étude qu'il n'existe pas de croissance somatique chez les huîtres diploïdes au contraire des huîtres triploïdes (Fig. 28) dont le taux de croissance k (j^{-1}) est en moyenne égal à $0,009 \pm 0,001$ (Fig. 29, Tableau 8).

Le profil des poids secs des gonades indique une ponte partielle antérieure au 12 juin (49^{ème} jour) et une ponte massive entre le 10 et le 25 juillet (77^{ème} et 92^{ème} jour) avec la complète disparition du tissu gonadique (Fig. 28b).

Tableau 6. Comparaison des poids secs des tissus des huîtres diploïdes et triploïdes ($n = 100$ par organe) grâce à une ANOVA à deux facteurs croisés (groupe d'huître diploïde et triploïde « D/T » et date de prélèvement « temps »).

Organes	Source	DF	SS	MS	F	P
Branchies	D/T	1	0,024	0,024	14,61	< 0,001
	Temps	9	0,074	0,008	5,03	< 0,001
	D/T * temps	9	0,029	0,003	1,97	0,054
Glande digestive	D/T	1	0,001	0,001	0,21	0,645
	Temps	9	0,402	0,045	9,94	< 0,001
	D/T * temps	9	0,240	0,027	5,93	< 0,001
Manteau	D/T	1	0,030	0,030	15,09	< 0,001
	Temps	9	0,028	0,003	1,57	0,139
	D/T * temps	9	0,057	0,006	3,17	0,003
Muscle	D/T	1	0,010	0,010	16,23	< 0,001
	Temps	9	0,027	0,003	4,77	< 0,001
	D/T * temps	9	0,035	0,004	6,20	< 0,001
Huître entière	D/T	1	0,037	0,037	1,89	0,174
	Temps	9	1,44	0,160	8,11	< 0,001
	D/T * temps	9	1,001	0,112	5,68	< 0,001

Tableau 7. Résultats de l'ANOVA à un facteur (dates de prélèvements) sur les poids secs des tissus des huîtres diploïdes (A) et triploïdes (B) ($n = 100$ par organe) et résultats du test de Student sur les poids secs initiaux W_0 et finaux W_f (g) ($n = 5$).

(A) Diploïdes	ANOVA				Test de Student					
	DF	MS	F	P	W_0		W_f		P	
Branchies	9	0,003	1,63	0,139	0,07	$\pm 0,02$	0,11	$\pm 0,37$	0,062	
Glande digestive	9	0,010	1,80	0,098	0,24	$\pm 0,06$	0,26	$\pm 0,03$	0,520	
Manteau	9	0,024	1,21	0,315	0,10	$\pm 0,02$	0,08	$\pm 0,03$	0,350	
Muscle	9	0,002	1,60	0,150	0,09	$\pm 0,02$	0,09	$\pm 0,02$	0,640	
Huître entière	9	0,115	4,25	0,094	0,50	$\pm 0,08$	0,54	$\pm 0,05$	0,310	
(B) Triploïdes										
Branchies	9	0,008	6,18	< 0,001	0,09	$\pm 0,02$	0,19	$\pm 0,04$	0,004	
Glande digestive	9	0,061	17,9	< 0,001	0,16	$\pm 0,04$	0,40	$\pm 0,08$	0,001	
Manteau	9	0,007	3,48	0,004	0,10	$\pm 0,03$	0,18	$\pm 0,08$	0,085	
Muscle	9	0,005	15,9	< 0,001	0,05	$\pm 0,02$	0,12	$\pm 0,03$	0,007	
Huître entière	9	0,233	13,1	< 0,001	0,40	$\pm 0,08$	0,90	$\pm 0,22$	0,005	

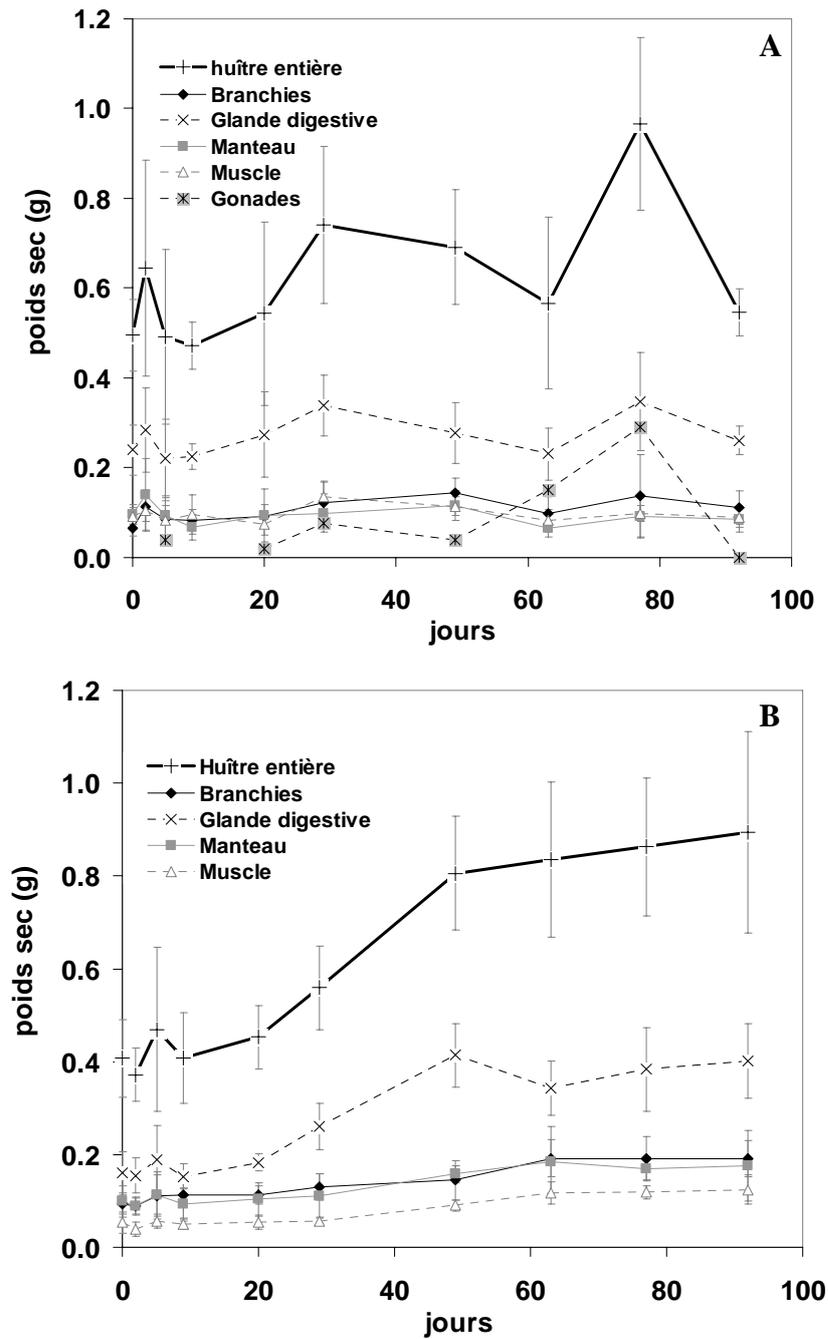


Figure 28. Evolution sur 92 jours du poids sec des huîtres diploïdes (A) et triploïdes (B) ainsi que de chaque organe (n = 5).

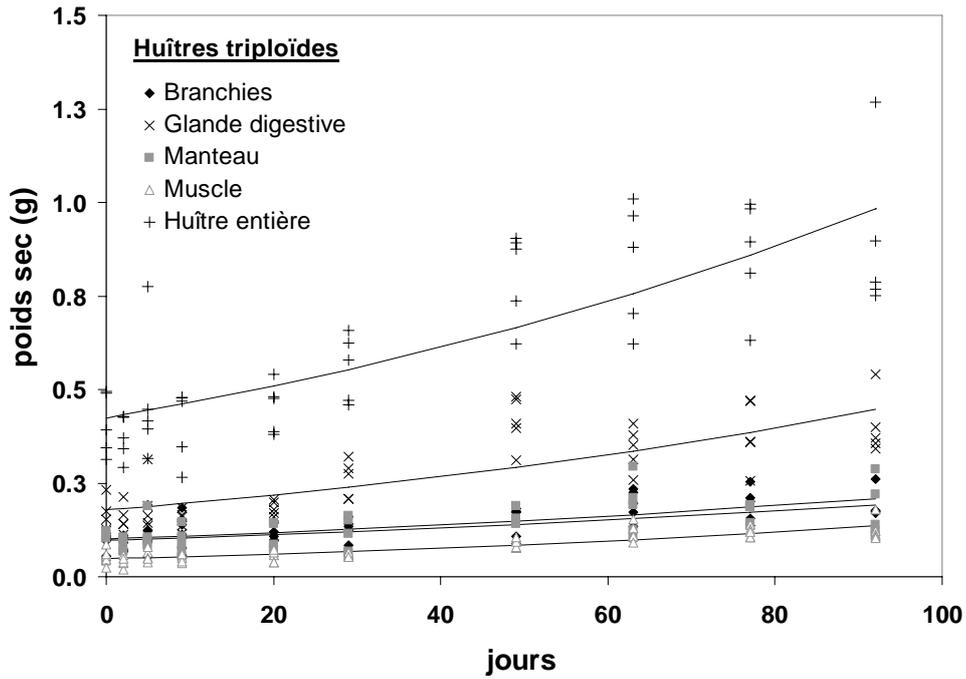


Figure 29. Poids secs des tissus ($n = 5$) des huîtres triploïdes et ajustement par un modèle de croissance exponentielle (voir Tableau 8 pour le détail).

Tableau 8. Modèle de croissance exponentielle permettant d'estimer le taux de croissance k (j^{-1}) et le poids sec initial W_0 pour chaque tissu des huîtres triploïdes ($n = 50$).

	k	W_0	r^2	P
Branchies	0,008 ± 0,001	0,101 ± 0,007	0,72	< 0,001
Glande digestive	0,010 ± 0,001	0,179 ± 0,013	0,80	< 0,001
Manteau	0,007 ± 0,001	0,097 ± 0,008	0,61	< 0,001
Muscle	0,011 ± 0,001	0,048 ± 0,003	0,85	< 0,001
Huître entière	0,009 ± 0,001	0,424 ± 0,026	0,82	< 0,001

3.2. Ratios C/N, poids sec et signature isotopique des huîtres diploïdes et triploïdes pendant la période de reproduction

□ Evolution temporelle des ratios C/N

Le ratio C/N du muscle évolue peu au cours du temps avec une moyenne de $3,3 \pm 0,1$ pour les huîtres diploïdes alors que chez les triploïdes il diminue significativement au cours des 92 jours de l'expérience (Fig. 30, Tableau 9). Peu de temps après la transplantation sur estran, les ratios C/N augmentent fortement pour les tissus des huîtres diploïdes ainsi qu'au prélèvement du 49^{ème} jour

correspondant au 12 juin 2002, excepté pour les branchies et le muscle. Le profil des ratios C/N de la glande digestive et du manteau suit celui des ratios C/N de la gonade. Le ratio C/N de la gonade est maximal entre le 23 mai (T0 + 29) et le 12 juin (T0 + 49) avec $5,0 \pm 0,7$ indiquant la maturation de la gonade et précédé de ratios C/N plus faibles de $3,6 \pm 0,1$ marquant la perte de lipides due à la ponte partielle du 26 juin (T0 + 63). Seuls les ratios C/N de la glande digestive et des gonades suivent une décroissance linéaire chez les diploïdes (Tableau 9). Il en est de même des C/N de chacun des organes pour les huîtres triploïdes qui subissent tous une diminution hautement significative ($P < 0,001$) au cours des 92 jours de l'expérience (Tableau 9).

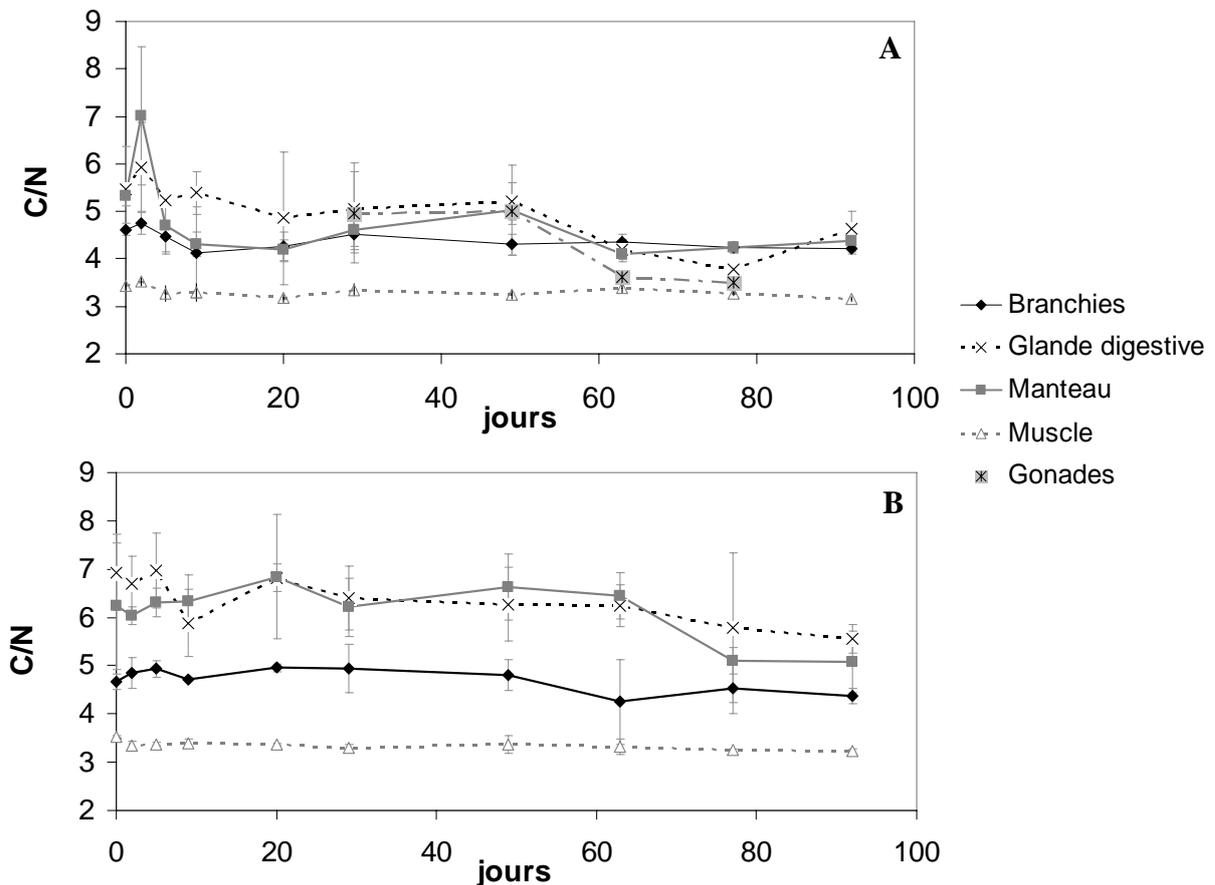


Figure 30. Evolution du ratio C/N des tissus des huîtres diploïdes (A) et triploïdes (B) après transplantation des huîtres à T0 (voir Tableau 9 pour le détail).

Tableau 9. Paramètres des régressions linéaires C/N versus dates de prélèvement : coefficients de détermination r^2 et probabilités associées, a et b \pm écart-type.

Modèle de régression linéaire C/N = a t + b	n	r^2	P	a	b
(A) Huîtres diploïdes					
Glande digestive	24	0,55	< 0,001	-0,013 \pm 0,004	5,35 \pm 0,23
Gonades	12	0,77	< 0,001	-0,035 \pm 0,010	6,20 \pm 0,56
(B) Huîtres triploïdes					
Branchies	30	0,51	< 0,001	-0,005 \pm 0,002	4,87 \pm 0,10
Glande digestive	30	0,62	< 0,001	-0,012 \pm 0,003	6,77 \pm 0,19
Manteau	30	0,38	< 0,001	-0,011 \pm 0,004	6,49 \pm 0,21
Muscle	30	0,60	< 0,001	-0,002 \pm 0,001	3,43 \pm 0,03

☐ Relation entre les ratios C/N et les poids secs

Il n'existe pas de relation linéaire entre les ratios C/N et le poids sec excepté pour les gonades chez les diploïdes ($C/N_{\text{gonades}} = -5,98 (\pm 1,75) W_{\text{gonades}} + 5,08 (\pm 0,30)$, $n = 12$, $r^2 = 0,62$, $P < 0,001$) (Fig. 31a).

☐ Relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ et les poids secs

Il n'existe pas de relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ des tissus et leur poids sec excepté pour les huîtres diploïdes pour les gonades sur le carbone ($\delta^{13}\text{C}_{\text{Gonades}} = -0,08 (\pm 0,03) / W_{\text{Gonades}} - 20,76 (\pm 0,50)$, $n = 9$, $r^2 = 0,54$, $P < 0,01$) (Fig. 32a). Les relations non linéaires entre les $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ des tissus des huîtres triploïdes sont présentées dans le Tableau 10 et la figure 33.

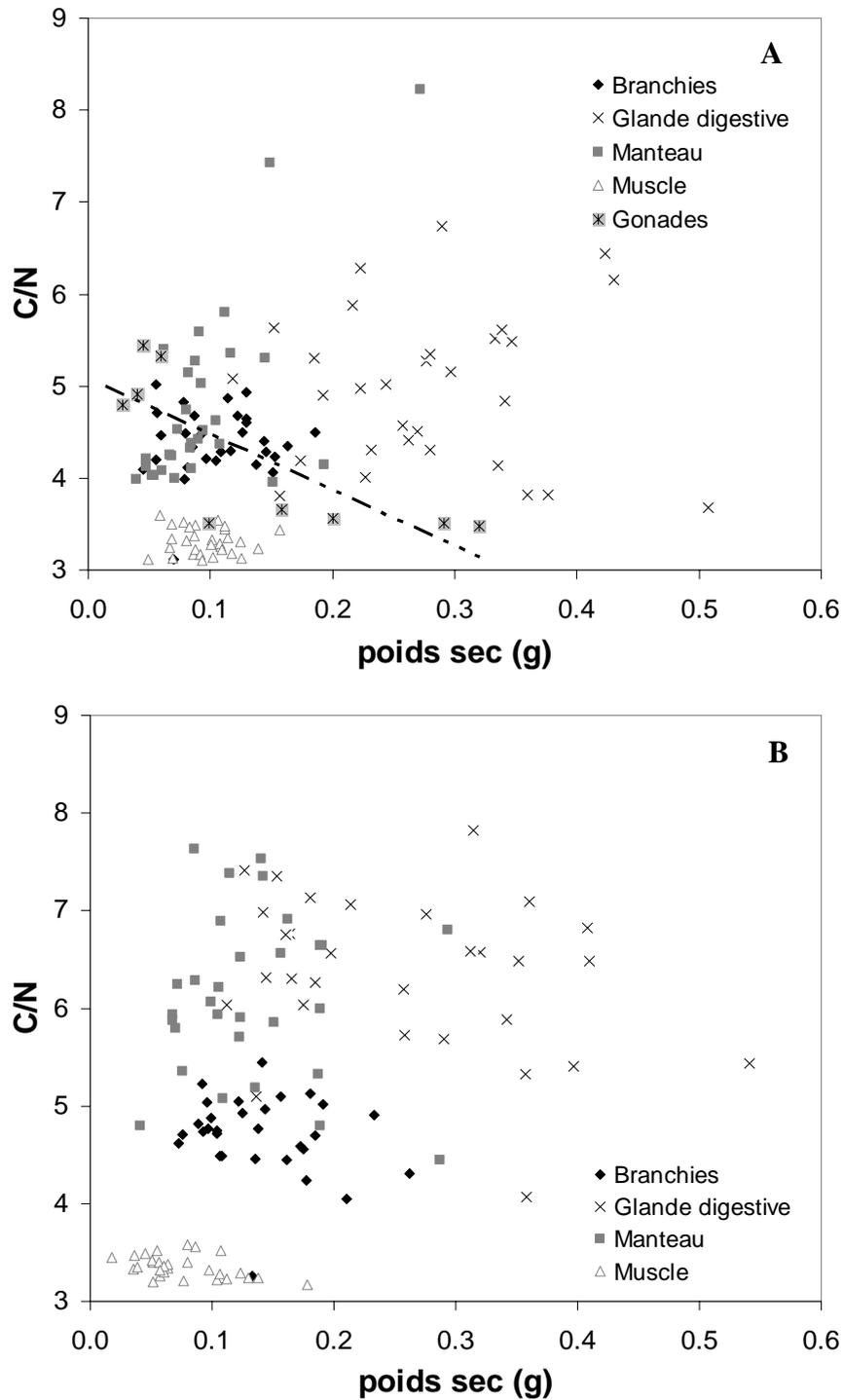


Figure 31. Relation entre le ratio C/N et le poids sec (g) des tissus des huîtres diploïdes (A) et triploïdes (B) (30 ; n gonades = 12). La régression linéaire significative chez les diploïdes est indiquée pour les gonades.

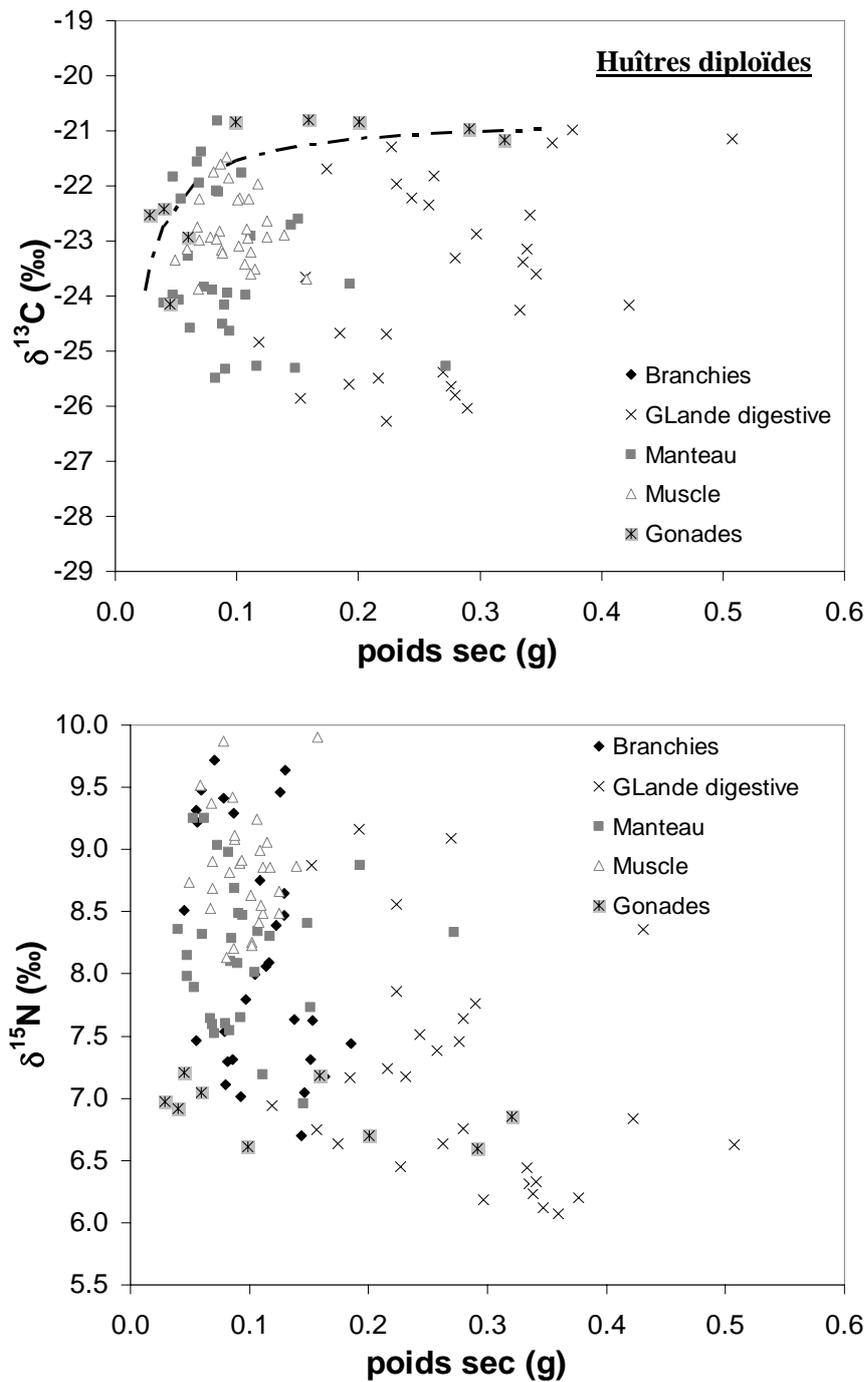


Figure 32. Relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) et le poids sec (g) des tissus des huîtres diploïdes ($n = 30$; n gonades = 12). La régression significative chez les diploïdes est indiquée pour les gonades.

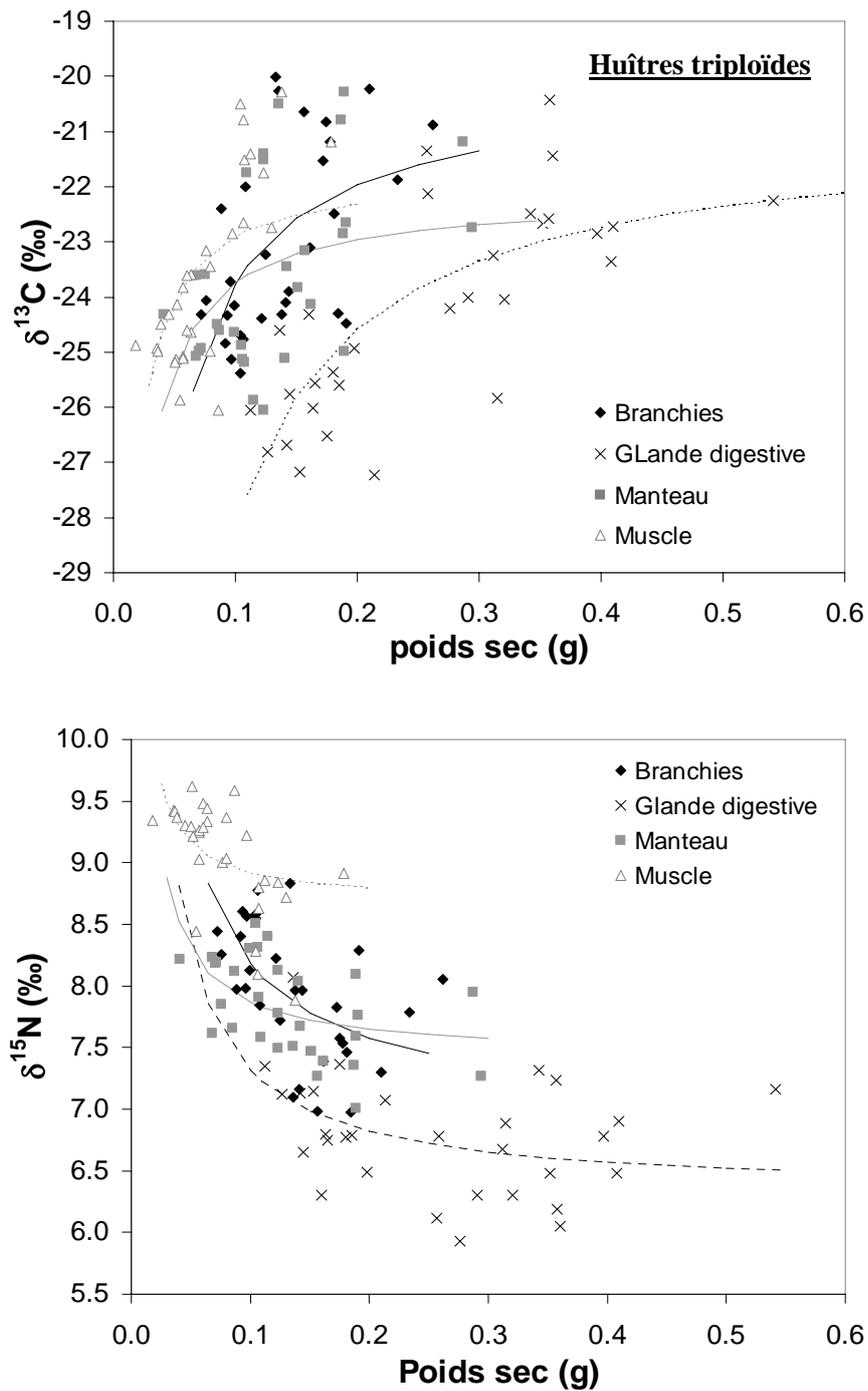


Figure 33. Relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (‰) et le poids sec (g) des tissus des huîtres triploïdes ($n = 30$; n gonades = 12) (voir Tableau 10 pour le détail).

Tableau 10. Paramètres des régressions non linéaires $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ versus poids sec chez les huîtres triploïdes : coefficient de détermination r^2 et probabilités associées, a et $b \pm$ écart-type.

Modèle de régression non linéaire		n	r^2	P	a	b
$\delta = a / W + b$						
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Branchies	30	0,29	< 0,010	-0,36 \pm 0,10	-20,15 \pm 0,86
	Glande digestive	30	0,56	< 0,001	-0,74 \pm 0,12	-20,90 \pm 0,60
	Manteau	30	0,16	< 0,050	-0,16 \pm 0,07	-22,18 \pm 0,66
	Muscle	30	0,35	< 0,001	-0,12 \pm 0,03	-21,75 \pm 0,53
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Branchies	30	0,32	< 0,001	0,12 \pm 0,03	6,97 \pm 0,27
	Glande digestive	30	0,18	< 0,050	0,10 \pm 0,04	6,32 \pm 0,21
	Manteau	30	0,23	< 0,010	0,04 \pm 0,01	7,43 \pm 0,15
	Muscle	30	0,21	< 0,010	0,02 \pm 0,01	8,67 \pm 0,15

□ Relation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et les ratios C/N

Il existe une relation linéaire entre les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et les ratios C/N pour chaque organe chez les huîtres diploïdes comme chez les triploïdes (Fig. 34). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ s'enrichissent en ^{13}C et les ratios C/N diminuent au cours du temps. Ces régressions linéaires sont présentées dans le tableau 11. Il est à noter que le nuage de points chez les huîtres diploïdes (glande digestive et manteau) est décalé vers les ratios C/N plus faibles en comparaison des huîtres triploïdes (Fig. 34).

Tableau 11. Paramètres des régressions linéaires $\delta^{13}\text{C}$ versus C/N chez les huîtres diploïdes et triploïdes : coefficient de détermination r^2 et probabilités associées, a et $b \pm$ écart-type.

Modèle de régression non linéaire		n	r^2	P	a	b	
$\delta^{13}\text{C} = a \text{ C/N} + b$							
(A) Huîtres diploïdes	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Branchies	34	0,45	< 0,010	-2,01 \pm 0,72	-14,35 \pm 3,18
		Glande digestive	34	0,73	< 0,001	-1,49 \pm 0,26	-16,29 \pm 1,31
		Manteau	34	0,55	< 0,001	-0,76 \pm 0,22	-19,80 \pm 1,06
		Muscle	34	0,46	< 0,010	-2,62 \pm 1,67	-14,80 \pm 5,53
(B) Huîtres triploïdes	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Branchies	34	0,55	< 0,001	-2,29 \pm 0,67	-12,28 \pm 3,16
		Glande digestive	34	0,56	< 0,001	-1,33 \pm 0,37	-15,84 \pm 2,40
		Manteau	34	0,59	< 0,001	-1,19 \pm 0,31	-16,33 \pm 1,93
		Muscle	34	0,60	< 0,001	-5,50 \pm 1,34	-2,75 \pm 4,50

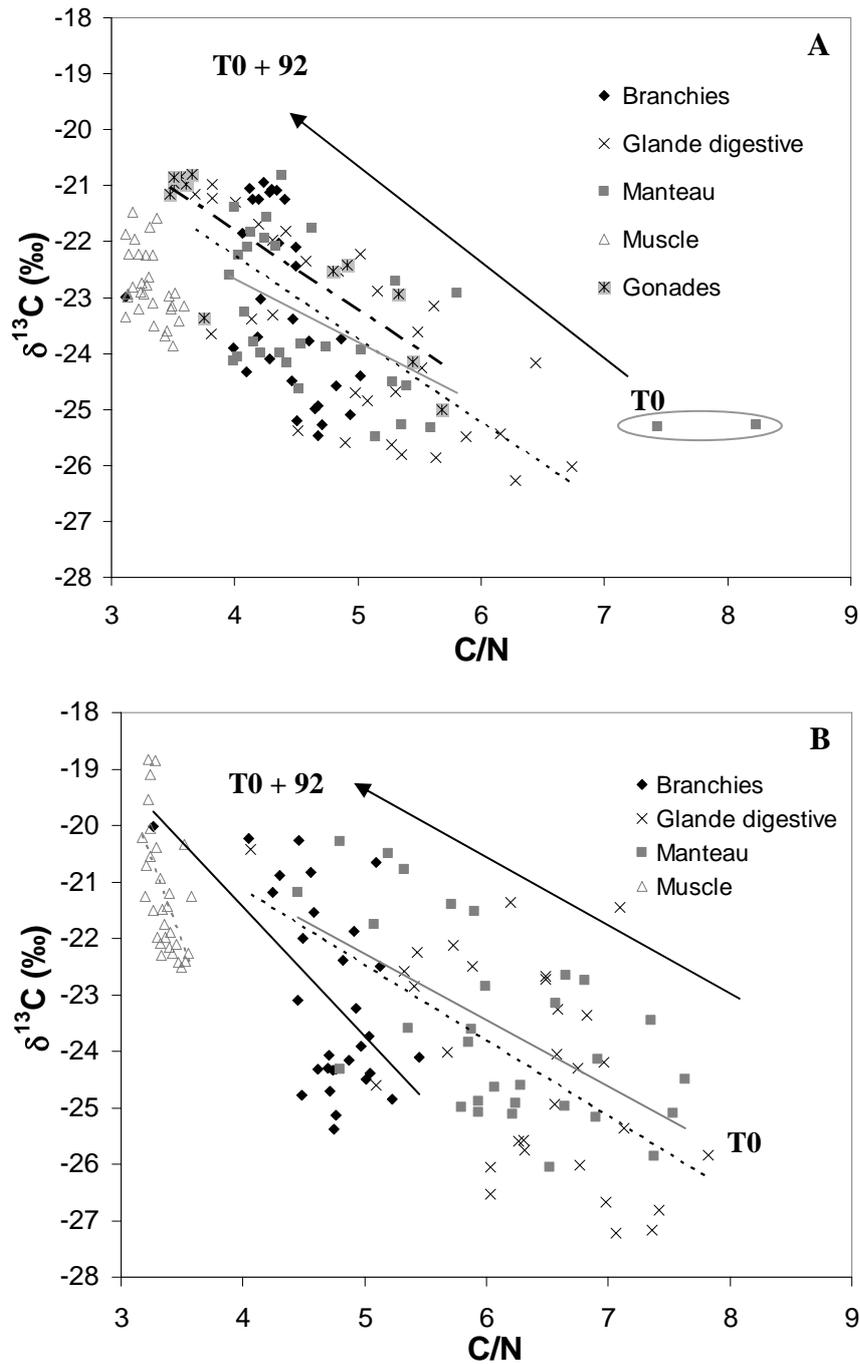


Figure 34. Relation entre le $\delta^{13}\text{C}$ (‰) et le ratio C/N des tissus des huîtres diploïdes (A) et triploïdes (B) ($n = 30$, gonades = 12). La flèche indique l'évolution des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ versus ratio C/N au cours du temps (voir Tableau 11 pour le détail).

□ Composition isotopique des huîtres diploïdes et triploïdes

Quel que soit le tissu considéré et *a fortiori* l'animal entier, il existe une différence très significative entre les valeurs isotopiques en début et fin d'expérimentation comprises entre 2 et 4 ‰ sur le carbone pour les diploïdes et les triploïdes (Tableau 12) et appauvries sur l'azote jusqu'à 2 ‰ pour les huîtres diploïdes et 1 ‰ pour les triploïdes à l'exception du $\delta^{15}\text{N}$ du muscle des diploïdes et triploïdes et de la glande digestive des triploïdes. La composition isotopique des tissus en début d'expérience reflète la nourriture constituée uniquement de *Skeletonema costatum* cultivée sur eau de forage tandis que les valeurs enrichies en ^{13}C et appauvries en ^{15}N en fin d'expérimentation, 92 jours après la transplantation, reflètent l'environnement nutritionnel du sud du bassin de Marennes-Oléron.

Tableau 12. Valeur du $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ (moyenne \pm écart-type, $n = 3$) de chaque organe et de l'huître entière au début (δ_0) et à la fin de l'expérimentation (δ_f). P la probabilité du test de Student comparant les moyennes des δ_0 et δ_f .

$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		δ_0	δ_f	$\delta_f - \delta_0$	P
Diploïdes	Branchies	-25,1 \pm 0,5	-21,1 \pm 0,2	4,0	0,006
	Glande digestive	-25,8 \pm 0,4	-22,2 \pm 0,2	3,7	0,005
	Manteau	-25,1 \pm 0,5	-21,6 \pm 0,7	3,5	0,006
	Muscle	-23,5 \pm 0,4	-21,8 \pm 0,3	1,7	0,006
	Huître entière	-25,1 \pm 0,3	-21,8 \pm 0,1	3,4	0,004
Triploïdes	Branchies	-25,1 \pm 0,3	-21,0 \pm 0,2	4,1	0,000
	Glande digestive	-26,8 \pm 0,3	-22,4 \pm 0,2	4,4	0,003
	Manteau	-25,4 \pm 1,0	-21,4 \pm 0,3	4,0	0,021
	Muscle	-22,4 \pm 0,1	-20,0 \pm 0,4	2,3	0,014
	Huître entière	-25,5 \pm 0,2	-21,6 \pm 0,2	3,9	0,000

$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		δ_0	δ_f	$\delta_f - \delta_0$	P
Diploïdes	Branchies	9,3 \pm 0,1	7,8 \pm 0,1	-1,5	0,012
	Glande digestive	8,8 \pm 0,3	7,4 \pm 0,3	-1,5	0,004
	Manteau	8,7 \pm 0,2	8,1 \pm 0,2	-0,6	0,036
	Muscle	9,2 \pm 0,2	8,9 \pm 0,2	-0,3	0,110
	Huître entière	9,0 \pm 0,2	6,8 \pm 0,1	-2,1	0,007
Triploïdes	Branchies	8,6 \pm 0,1	7,7 \pm 0,3	-0,9	0,037
	Glande digestive	7,2 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1	0,0	0,760
	Manteau	8,2 \pm 0,1	7,8 \pm 0,2	-0,5	0,037
	Muscle	9,1 \pm 0,6	8,9 \pm 0,0	-0,2	0,560
	Huître entière	8,1 \pm 0,1	7,7 \pm 0,1	-0,4	0,022

3.3. Résultats du modèle

Les données ont été ajustées avec un modèle intégrant à la fois la croissance et le turnover métabolique. Les corrélations entre les valeurs observées et calculées sont très hautement significatives (Tableau 13, Fig. 35). Le taux de renouvellement $k + m$ a été ainsi calculé pour chaque tissu et pour l'huître entière. Pour le carbone et pour les huîtres diploïdes, $k + m$ varie entre $0,005 \pm 0,011$ pour le muscle et $0,025 \pm 0,006$ pour la glande digestive. Les résultats des $k + m$ sur le carbone pour les huîtres triploïdes sont du même ordre pour chacun des tissus. Sur l'azote, le taux de renouvellement tissulaire $k + m$ varie de $0,051 \pm 0,035$ pour le muscle à $0,149 \pm 0,025$ pour la glande digestive pour les huîtres diploïdes et entre $0,003 \pm 0,071$ pour le muscle et $0,125 \pm 0,071$ pour les branchies pour les triploïdes. Il faut toutefois noter que le modèle est moins bien ajusté aux valeurs isotopiques sur le muscle des diploïdes et des triploïdes et particulier sur le muscle des huîtres diploïdes si l'on considère l'écart type associé au $k + m$, écart type supérieur double de la valeur moyenne de l'estimation (Tableau 13).

Il est possible de déduire la demi-vie de chacun des tissus. Pour le carbone, la demi-vie de la glande digestive, des branchies et du manteau s'échelonne entre 28 et 53 jours pour les huîtres diploïdes et est du même ordre de grandeur pour les triploïdes. La demi-vie du muscle sur le carbone est de l'ordre de 100 à 150 jours pour les diploïdes et les triploïdes. Sur l'azote, la demi-vie de la glande digestive, des branchies et du manteau s'échelonne entre 5 et 16 jours pour les huîtres triploïdes et triploïdes. Il est difficile de statuer sur le renouvellement tissulaire de l'azote du muscle qui semble très rapide (14 jours) pour les huîtres diploïdes au contraire des triploïdes.

Les compositions isotopiques tissulaires en azote pour les huîtres diploïdes et triploïdes sont en équilibre avec la source de nourriture en fin d'expérimentation comme le montrent les valeurs isotopiques proches à 92 jours et celles à l'équilibre calculées par le modèle (Fig. 36). Cet équilibre avec la source de nourriture n'est pas atteint sur le carbone en fin d'expérimentation. Il est par ailleurs difficile de vérifier si le muscle est en équilibre avec la source de nourriture. En effet, pour les huîtres diploïdes et triploïdes sur le carbone et les huîtres triploïdes sur l'azote, le résultat à l'équilibre du modèle semble biaisé par la variabilité de la composition isotopique tissulaire à 77

jours (Fig. 35) en relation avec la variabilité (*in situ*) de la composition isotopique de la nourriture (seston).

Tableau 13. Résultats du modèle : estimation des turnover des tissus des huîtres diploïdes et triploïdes ($k + m$; $k = 0$ pour les huîtres diploïdes) résultant des meilleurs ajustements du modèle exponentiel négatif avec les valeurs observées ($k + m \pm \text{écart-type}$) avec la composition isotopique initiale à T_0 δ_0 ($\pm \text{écart type}$) et à l'équilibre δ_{eq} ($\pm \text{écart type}$). ($n = 30$)

$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$k + m$	δ_0	δ_{eq}	r^2	P	Demi-vie (jours)
(A) Diploïdes	Branchies	0,015 \pm 0,005	-25,1 \pm 0,1	-19,5 \pm 0,0	0,94	0,001	46
	Glande digestive	0,025 \pm 0,006	-25,9 \pm 0,2	-21,0 \pm 0,0	0,92	0,001	28
	Manteau	0,013 \pm 0,006	-25,0 \pm 0,2	-20,0 \pm 0,0	0,90	0,001	53
	Muscle	0,005 \pm 0,011	-23,4 \pm 0,1	-19,3 \pm 0,0	0,73	0,001	141
	<i>Huître entière</i>	0,018 \pm 0,006	-25,0 \pm 0,2	-20,5 \pm 0,7	0,92	0,001	38
(B) Triploïdes	Branchies	0,014 \pm 0,006	-25,0 \pm 0,2	-19,0 \pm 1,4	0,92	0,001	50
	Glande digestive	0,024 \pm 0,006	-26,7 \pm 0,2	-21,2 \pm 0,6	0,92	0,001	29
	Manteau	0,013 \pm 0,005	-25,4 \pm 0,2	-19,4 \pm 3,2	0,87	0,001	53
	Muscle	0,008 \pm 0,010	-22,3 \pm 0,2	-17,3 \pm 4,3	0,76	0,001	87
	<i>Huître entière</i>	0,019 \pm 0,007	-25,4 \pm 0,2	-20,4 \pm 0,9	0,91	0,001	36

$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		$k + m$	δ_0	δ_{eq}	r^2	P	Demi-vie (jours)
(A) Diploïdes	Branchies	0,053 \pm 0,041	9,5 \pm 0,2	7,3 \pm 0,2	0,84	0,001	13
	Glande digestive	0,149 \pm 0,025	9,8 \pm 0,2	6,6 \pm 0,1	0,88	0,001	5
	Manteau	0,044 \pm 0,022	8,8 \pm 0,2	7,7 \pm 0,2	0,59	0,001	16
	Muscle	0,051 \pm 0,035	9,3 \pm 0,2	8,6 \pm 0,1	0,42	0,001	14
	<i>Huître entière</i>	0,095 \pm 0,016	9,0 \pm 0,2	7,2 \pm 0,1	0,87	0,001	7
(B) Triploïdes	Branchies	0,125 \pm 0,071	8,7 \pm 0,2	7,7 \pm 0,1	0,45	0,001	6
	Glande digestive	0,113 \pm 0,097	7,3 \pm 0,2	6,6 \pm 0,1	0,27	0,001	6
	Manteau	0,056 \pm 0,020	8,4 \pm 0,1	7,5 \pm 0,1	0,72	0,001	12
	Muscle	0,003 \pm 0,071	9,4 \pm 0,2	6,0 \pm 0,1	0,50	0,001	231
	<i>Huître entière</i>	0,092 \pm 0,041	8,1 \pm 0,1	7,3 \pm 0,1	0,61	0,001	8

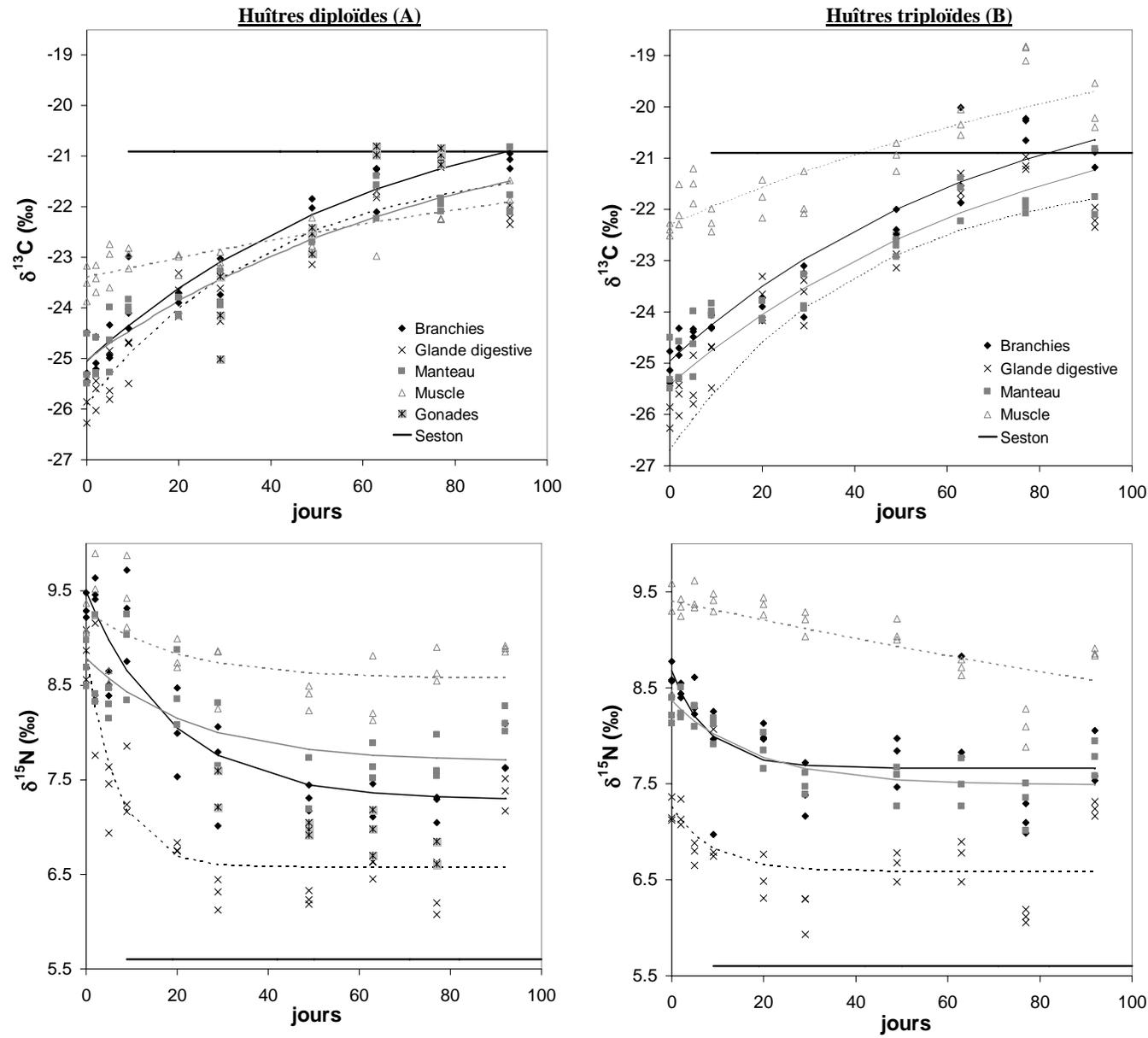


Figure 35. Evolution de la composition isotopique des huîtres diploïdes (A) et triploïdes (B) après leurs transplantations et moyenne de la composition isotopique de la source de nourriture de l'huître (seston). Les valeurs observées sont modélisées par régression non linéaire (voir tableau 12 pour le détail).

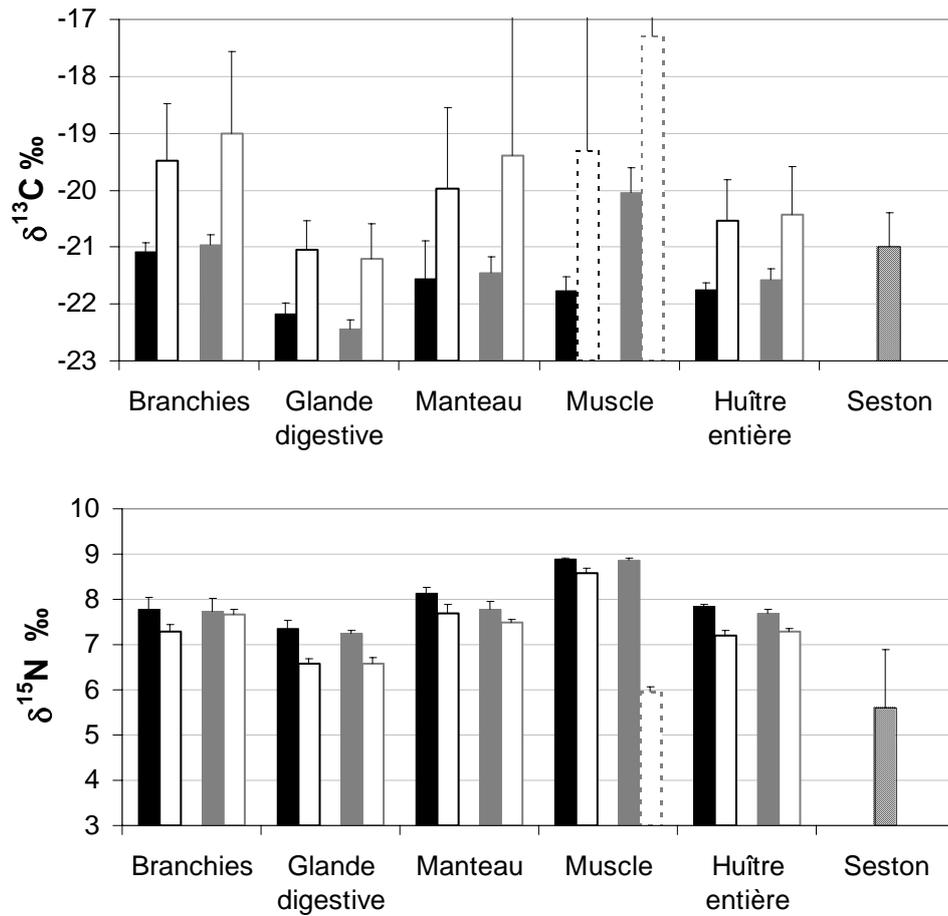


Figure 36. Composition isotopique des tissus des huîtres diploïdes (en noir) et triploïdes (en gris) sur le carbone et l'azote en fin d'expérience (barres pleines) et estimées par le modèle exponentiel à l'équilibre (barres vides) et composition isotopique de la source de nourriture de l'huître (seston). Les pointillés indiquent que la composition isotopique à l'équilibre calculée par le modèle n'est pas atteinte.

4. Discussion

4.1. Changement de signatures isotopiques de l'huître : implication de la croissance et du métabolisme

La signature isotopique des huîtres diploïdes et triploïdes, préalablement stabulées sur eau de forage et nourries avec du *Skeletonema costatum* ($\delta^{13}\text{C} = -28,7 \pm 1,5 \text{ ‰}$; $\delta^{15}\text{N} = 6,4 \pm 0,4 \text{ ‰}$), change rapidement suite à leur transplantation sur le site intertidal de Ronce-les-Bains. Ces changements résultent d'un gain tissulaire par la croissance et du remplacement des masses tissulaires par le renouvellement métabolique (Fry & Arnold 1982). Comme décrit par Hesslein et al. (1993) et Dalsgaard & John (2004), la présente étude montre alors le potentiel qu'offre le modèle exponentiel négatif alliant croissance et renouvellement métabolique afin de décrire l'incorporation d'une source de nourriture de composition isotopique nouvelle (voir aussi le chapitre 2).

Pendant la période de gamétogenèse, la croissance n'intervient pas ou très peu chez les huîtres diploïdes au contraire des huîtres triploïdes. En effet, aucune corrélation entre les $\delta^{13}\text{C}$ et les poids secs des huîtres diploïdes n'est détectable au contraire des huîtres triploïdes. Chez les triploïdes, la croissance est responsable d'environ $51 \pm 7 \%$ du renouvellement tissulaire du carbone des tissus et de seulement $10 \pm 3 \%$ du renouvellement tissulaire de l'azote des tissus. Il a été rapporté par la plupart des études antérieures, que le renouvellement tissulaire dépendait surtout de la croissance (Fry & Arnold 1982, Maruyama et al. 2001, Herzka 2005). Par exemple, les travaux de Herzka & Holt (2000) et Bosley et al. (2002) montrent pour des juvéniles de flet (*Pleuronectes americanus*) et pour des larves de poissons Sciaenidae (*Sciaenops ocellatus*), dont le poids est multiplié par 10 et 6 respectivement, que la croissance est responsable à elle seule du renouvellement tissulaire. Or, notre étude démontre bien que ce n'est pas le seul processus à prendre en compte pour des individus adultes en taille de se reproduire. En effet, le renouvellement isotopique chez les huîtres diploïdes intervient sans croissance tissulaire et la croissance chez les huîtres triploïdes n'intervient qu'entre 10 et 50 % du renouvellement isotopique.

Il a également été montré par Soletchnik *et al.* (1997) chez l'huître *Crassostrea gigas* et Kesarcodi-Watson *et al.* (2001) chez *Saccostrea commercialis* qu'il existe une augmentation de la respiration des huîtres avec leur taille. Or, tout processus métabolique met en jeu un fractionnement (introduction générale) où les isotopes légers sont plus facilement mobilisés. Ainsi, la respiration produit préférentiellement du ^{12}C et par conséquent, le consommateur s'enrichit en ^{13}C . Chez les huîtres triploïdes à forte croissance, l'enrichissement en ^{13}C relatif à l'acquisition trophique du nouvel environnement trophique, est donc concomitant à l'enrichissement en ^{13}C relatif aux mécanismes de fractionnement isotopiques lors de la respiration.

J'avais émis l'hypothèse que les remaniements physiologiques ayant lieu pendant la période de gamétogenèse pouvaient affecter le renouvellement tissulaire des huîtres et qu'il serait alors possible de distinguer des différences de fonctionnement physiologique entre les huîtres diploïdes qui se reproduisent et les huîtres triploïdes stériles. Or, il semble difficile de conclure sur ce phénomène à partir des analyses isotopiques. Il a été montré dans un premier temps, que pendant la période de gamétogenèse, la croissance des huîtres diploïdes était faible à très faible pour chaque tissu sauf pour les gonades alors que les triploïdes multipliaient leur poids sec entre 1,8 fois pour le manteau et 2,5 fois pour la glande digestive. Il peut en être conclu que les huîtres diploïdes mobilisent les nutriments ingérés en vue de la gamétogenèse alors que les triploïdes les utilisent pour grandir. Chez les mollusques, la gamétogenèse est supportée par la mobilisation des réserves énergétiques (Gabbott 1983). Les lipides sont par exemple métabolisés principalement pendant la gamétogenèse à partir des réserves glucidiques et leur concentration diminue brutalement lors de la ponte chez les femelles (Deslous-Paoli & Héral 1988, Li *et al.* 2000, Soletchnik *et al.* 2005a). En effet, les lipides interviennent dans la constitution de réserves énergétiques des œufs qui seront utilisés par l'embryon et lors du développement larvaire comme le montre la concentration en triglycérides des ovocytes qui reflète la maturation des gonades femelles avec un pic des concentrations précédant la ponte (Li *et al.* 2000). Or, la composition isotopique des lipides est appauvrie en ^{13}C en comparaison des protéines et des glucides (DeNiro & Epstein 1977, Murphy & Abrajano 1994). Des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus négatives étaient donc attendues chez les diploïdes vis-à-vis des triploïdes stériles. Toutefois, il est à noter qu'entre le début et la fin de l'expérimentation, il

existe une différence isotopique sur le carbone plus faible chez les diploïdes que chez les triploïdes de la glande digestive et du manteau (Tableau 12). Il est donc possible que ces tissus impliqués dans les processus de gamétogenèse chez les diploïdes se soient moins enrichis en ^{13}C au cours de l'expérience du fait de la métabolisation des lipides. Il a par ailleurs été montré une relation linéaire entre le $\delta^{13}\text{C}$ de chaque tissu aussi bien des diploïdes que des triploïdes avec les ratios C/N traduisant les concentrations en lipides des tissus. Ce constat pourrait indiquer que le ratio C/N n'est pas suffisamment pertinent pour différencier des différences de fonctionnement physiologique entre diploïdes et triploïdes. La figure 34 apporte un second élément de discussion concernant l'utilisation des réserves lipidiques entre les huîtres diploïdes et triploïdes. La gamme des valeurs isotopiques des huîtres triploïdes (Fig. 34b) est plus étendue que chez les diploïdes (Fig. 34a), en réponse à des ratios C/N plus élevés chez les triploïdes que chez les diploïdes. Durant, leur stabulation et le nourrissage sur algue fourragère, les huîtres triploïdes semblent s'être plus engraisées (Piveteau et al. 1999) que les diploïdes et ceci malgré la réduction de la ration alimentaire qui avait été envisagée afin de ne pas déclencher précocement le développement des gonades des diploïdes. Ce phénomène peut s'expliquer par une réponse plus rapide des triploïdes à leur environnement nutritionnel qui utilisent la ressource alimentaire de façon directe pour la croissance de chaque tissu au contraire des diploïdes qui privilégient les processus de transfert et stockage d'énergie de l'ensemble des organes pour le développement ultérieur gonadique au détriment de la croissance somatique.

Le profil d'acquisition du signal isotopique sur le carbone est différent entre les huîtres diploïdes et les triploïdes (Figure 35). Chaque tissu acquiert la composition isotopique à l'équilibre sans que les courbes des cinétiques ne se croisent chez les triploïdes au contraire des cinétiques de la glande digestive et du manteau qui se croisent chez les diploïdes. De plus, il est montré que ces deux tissus chez les diploïdes s'enrichissaient moins en ^{13}C que les tissus des triploïdes. Ce point de croisement des courbes correspond à la première ponte partielle du 12 juin 2002 soit le 49^{ème} jour. Les gonades s'enrichissent donc en lipides lors de leur maturation avec un maximum avant la ponte (Ruiz et al. 1992, Kang et al. 2000) et par conséquent présentent un $\delta^{13}\text{C}$ appauvri de $-24,2 \pm 0,8$ ‰. Les gonades semblent se constituer via les transferts de métabolites par la glande digestive

et le manteau comme le montrent leurs compositions isotopiques proches jusqu'à la première ponte partielle. Cartier et al. (2004) considèrent la glande digestive comme le site de transfert des réserves énergétiques vers les autres organes chez les moules *Mytilus edulis* et *Mytilus trossulus*. En effet, la diminution de l'indice de la glande digestive qu'ils calculent, montrerait la contribution de la glande digestive au cycle gamétogénétique par l'utilisation des réserves lipidiques et de glycogène stockées dans la glande digestive. Suite à la perte de lipides au moment de la ponte, la composition isotopique des tissus gonadiques restants s'enrichissent en ^{13}C pour atteindre progressivement $-21,0 \pm 0,2 \text{ ‰}$.

4.2. Turnover isotopique des tissus

Les demi-vies du renouvellement isotopique sur le carbone et l'azote des tissus sont quasiment identiques entre les huîtres diploïdes et triploïdes (Tableau 13). La demi-vie des tissus, excepté le muscle, est de l'ordre du mois sur le carbone et de la semaine ou d'une quinzaine de jours sur l'azote. Le modèle appliqué au muscle ne donne pas des résultats totalement satisfaisants car les valeurs isotopiques du muscle en fin d'expérience, soit après 92 jours, ne semblent pas stabilisées (Fig. 35 et 36). Ceci semble contradictoire avec la demi-vie de 14 jours des huîtres diploïdes sur le $\delta^{15}\text{N}$. La variation de composition isotopique du muscle des huîtres entre 60 et 92 jours, probablement due à la variation de composition isotopique de la source nutritive, rend l'ajustement du modèle exponentiel imprécis. La demi-vie du muscle semble toutefois être de l'ordre de 3 à 8 mois.

Les demi-vies sont distribuées de la même façon sur le carbone et sur l'azote avec des renouvellements du plus rapide au moins rapide entre la glande digestive < les branchies < le manteau < le muscle. Cette distribution concorde avec celle décrite par Tieszen et al. (1983) et Hobson & Clark (1994a) pour des organismes endothermes telles la caille des blés *Coturnix japonica* et la gerbille *Meriones unguiculatus* mais également avec les résultats de l'étude de Suzuki et al. (2005) sur les poissons. Cependant, ces auteurs montrent des renouvellements isotopiques de la glande digestive et du muscle sur le carbone 5 à 10 fois plus rapides selon Tieszen et al. (1983) et Hobson & Clark (1994a), respectivement. Les présents résultats sur le muscle sont,

en outre, du même ordre de grandeur que ceux trouvés sur les poissons tels que le poisson chat *Ictalurus punctatus* (MacAvoy et al. 2001), la truite *Salvelinus namaycush* (Harvey et al. 2001) ou le gobie *Rhinogobius* spp. (Maruyama et al. 2001).

La demi-vie, plus courte de la glande digestive, peut donc potentiellement refléter des informations récentes alors que le muscle, dont le taux de renouvellement est plus long, intègre lentement la variabilité de son environnement trophique (Tieszen et al. 1983, Perga & Gerdeaux 2005). Il a également été montré, grâce à cette étude, que le renouvellement de l'huître entière rend compte de la moyenne des compositions isotopiques de chaque organe pondéré de leur poids sec. La demi-vie du carbone de l'huître entière est donc de l'ordre de 1 mois sur le carbone et de 1 semaine sur l'azote et est largement influencée par la glande digestive qui représente jusqu'à 40 à 50 % du poids sec de l'huître.

4.3. Discrimination entre les tissus et la nourriture et enrichissement trophique

Il existe une différence entre la composition isotopique des tissus en fin d'expérience et celle calculée grâce au modèle exponentiel négatif, les tissus n'ayant certainement pas atteint la signature isotopique à l'équilibre en fin d'expérience (Fig. 36). Les valeurs isotopiques à l'équilibre seront donc considérées pour calculer l'enrichissement trophique qui existe entre l'huître et la source de nourriture, dont la signature isotopique est en moyenne de $-20,9 \pm 0,6$ ‰ sur le carbone et $5,6 \pm 1,3$ ‰ sur l'azote au cours de la période d'étude (chapitre 1) (Fig. 36). Les valeurs d'enrichissement sur le carbone et sur l'azote sont distribuées de la façon suivante chez les huîtres diploïdes et triploïdes : glande digestive < branchies < manteau < muscle (Tableau 14) mais il reste difficile de statuer sur l'enrichissement qui peut exister entre le muscle et la source de nourriture de la colonne d'eau chez les huîtres triploïdes. Il semble toutefois que ce tissu présente le plus fort enrichissement sur le carbone comme sur l'azote.

Les tissus les plus riches en lipides sont plus appauvris en ^{13}C (DeNiro & Epstein 1977, 1978). Par conséquent, la différence isotopique entre les tissus riches en lipides et leur nourriture est plus faible. Les moyennes des ratios C/N reflètent la concentration en lipides des tissus dont la

distribution est la suivante pour les huîtres diploïdes et triploïdes : glande digestive < manteau < branchies < muscle.

L'enrichissement isotopique sur le carbone est en accord avec ceux estimés par Post (2002) avec $0,4 \pm 1,3$ ‰ et Mc Cutchan et al. (2003) avec $0,5 \pm 1,1$ ‰ et d'autre part du même ordre que ceux trouvés expérimentalement par De Niro & Epstein (1978). Par contre sur l'azote, la différence entre les organismes et leur nourriture est moins clairement définie. L'étude statistique de Post (2002) permet d'aboutir à un enrichissement trophique en ^{15}N d'une valeur moyenne similaire à celle des études de De Niro & Epstein (1981) avec $3,4 \pm 1,0$ ‰. Par contre, les enrichissements de 1,5 ‰ pour les huîtres diploïdes et triploïdes que nous trouvons sont plus faibles que ceux recensés dans la littérature. Mc Cutchan et al. (2003) estiment la valeur de l'enrichissement trophique à $2,0 \pm 1,8$ ‰. Ils détectent, de plus, des différences d'enrichissement trophique selon les types d'alimentation avec des enrichissements légèrement plus forts chez les herbivores.

Tableau 14. *Enrichissement trophique entre la composition isotopique des tissus des huîtres ainsi que de l'huître entière chez les diploïdes et triploïdes sur le carbone et sur l'azote ($\Delta\delta^{13}\text{C}$ et $\Delta\delta^{15}\text{N}$ ‰) et ratios C/N. Les pointillés indiquent que la composition isotopique à l'équilibre calculée par le modèle n'est pas atteinte.*

	$\Delta\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\Delta\delta^{15}\text{N}$ (‰)		Ratios C/N diploïdes	Ratios C/N triploïdes
	Huîtres diploïdes	Huîtres triploïdes	Huîtres diploïdes	Huîtres triploïdes		
Branchies	$1,5 \pm 0,6$	$2,0 \pm 1,3$	$1,7 \pm 1,9$	$2,1 \pm 1,5$	$4,2 \pm 0,1$	$4,4 \pm 0,2$
Glande digestive	$0,0 \pm 0,6$	$-0,2 \pm 1,0$	$1,0 \pm 1,3$	$1,0 \pm 1,3$	$4,6 \pm 0,4$	$5,5 \pm 0,3$
Manteau	$1,0 \pm 0,6$	$1,6 \pm 1,9$	$2,1 \pm 1,6$	$1,9 \pm 1,5$	$4,4 \pm 0,3$	$5,1 \pm 0,6$
Muscle	$1,7 \pm 0,6$	$3,7 \pm 2,2$	$3,0 \pm 2,3$	$0,4 \pm 1,8$	$3,2 \pm 0,0$	$3,2 \pm 0,1$
<i>Huître entière</i>	$0,5 \pm 1,0$	$0,6 \pm 1,1$	$1,6 \pm 2,0$	$1,7 \pm 1,4$		

4.4. L'huître : un organisme intégrateur de la variabilité environnementale

Les résultats de cette expérience montrent les potentialités qu'offre l'huître *Crassostrea gigas* comme traceur de son environnement nutritionnel. La glande digestive, au turnover isotopique rapide peut être utilisée comme traceur des sources de matière organique disponibles et ainsi fournir des indications sur les sources trophiques récemment incorporées et leur variabilité à

court terme. Au contraire, le muscle dont le turnover est lent fournira une image moyenne de la variabilité des sources trophiques incorporées en intégrant, non seulement leur variabilité temporelle sur le long terme mais également la variabilité de la composition isotopique induite par les différences de contribution de chacune des sources au cours du temps. Trois facteurs influençant la composition isotopique de l'huître doivent être alors considérés : 1) l'enrichissement trophique entre la source de nourriture et les tissus de l'animal, 2) les variations biochimiques de la composition des tissus considérés qui dépendent de l'ontogénie et / ou de la saison et de son influence sur la physiologie des organismes (reproduction) et par conséquent sur la composition isotopique des tissus (comme l'augmentation de la fraction lipidique (DeNiro & Epstein 1978) et 3) les conditions abiotiques externes (comme la température ou la ration alimentaire) (Tominaga et al. 2003). Les expérimentations comme la nôtre *in situ* ont donc l'avantage de respecter les conditions naturelles de vie de l'organisme dans son milieu (Gannes et al. 1997). Cette étude *in situ* a ainsi permis 1) de calculer la différence isotopique tissu – nourriture et le taux de renouvellement isotopique des tissus en condition naturelle et 2) de montrer l'influence de physiologie de l'huître en période estivale de gamétogenèse grâce à la mise en évidence de la différence de gestion des réserves entre les huîtres diploïdes et triploïdes.

**PARTIE 3. DYNAMIQUE TEMPORELLE ET SPATIALE DU
SIGNAL ISOTOPIQUE DE L'HUITRE**

Chapitre 4.

Effect of gametogenic cycle on seasonal variations in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* tissues: comparison of diploid *versus* triploid oysters

In collaboration with Pierre-Guy Sauriau, Nicole Faury, Patrick Soletchnik and Gaël Guillou

In Marine Ecology Progress Series

Chapitre 4 : Effect of gametogenic cycle on seasonal variations in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* tissues: comparison of diploid versus triploid oysters

Abstract: Carbon and nitrogen stable isotopes were investigated for 13 months in separate organs of diploid and sterile triploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* together with changes in chemical and isotope composition of suspended matter sampled from an intertidal mudflat within the Marennes-Oléron Bay, SW France. Particulate organic matter (POM) was a mixture of pelagic and benthic materials with a predominance of neritic phytoplankton in spring and resuspended microphytobenthos through summer and autumn. A remarkable shift of +3 ‰ in POM $\delta^{13}\text{C}$ was recorded in both diploid and triploid oysters from spring to summer but temporal differences occurred amongst their tissues. $\delta^{13}\text{C}$ and C:N ratio relationships in separate tissues allowed the respective influences of the gametogenic cycle and seasonal changes in trophic conditions on tissue $\delta^{13}\text{C}$ time-series to be clarified. Diploid digestive gland $\delta^{13}\text{C}$ matched those of gonads but expected differences between diploids and triploids in digestive gland and mantle $\delta^{13}\text{C}$ were less than -1‰ during gametogenesis. The reproductive and rest periods were easily distinguished in these tissues, and characterised by more enriched $\delta^{13}\text{C}$ values in summer-autumn than in spring, consistent with POM $\delta^{13}\text{C}$ seasonal changes. A similar trend was observed in muscle with a preferential incorporation of ^{13}C -enriched carbon during the summer-autumn growing season. However, despite similar roles of mantle and digestive gland in lipid synthesis in both diploid and triploid oysters, $\delta^{13}\text{C}$ to C:N ratio correlations highlighted the transfer of lipids to gonads in diploids and their differential allocation to growing tissues in sterile triploids.

Key Words: *Crassostrea gigas*, stable isotopes, reproduction, ploidy, lipids

1. Introduction

For decades, stable isotope ratios have been recognised as efficient tools for the identification of dietary sources incorporated by consumers (Fry & Sherr 1984), and have been consequently used as natural tracers of organic matter flow in aquatic food webs (Michener & Schell 1994). Routine reconstruction of diets from stable isotope ratios in whole animal body is commonly summarised by the maxim “you are what you eat” or more properly “you are what you assimilate plus a few per mil” (DeNiro & Epstein 1978, 1981, Fry & Sherr 1984, Owens 1987). Indeed, stable isotopes in consumers provide time-integrated information, averaging the natural environment variability in dietary components, but they also give us a clue on how animal tissues turnover in relation to growth and/or metabolic replacement (Tieszen et al. 1983, Hesslein et al. 1993). Similarly, comparative analysis of fast vs. slow turnover tissues (e.g. digestive gland vs. muscle) may reveal short- and long-term changes in food source composition, respectively (Tieszen et al. 1983, Fry & Sherr 1984). It is also recognised that $\delta^{13}\text{C}$ values of consumers reflect the $\delta^{13}\text{C}$ values of their diet with small changes ($< 1 \text{ ‰}$) relative to sampling errors, whereas their $\delta^{15}\text{N}$ values show a larger discrimination of 3-4 ‰ per trophic level (DeNiro & Epstein 1978, 1981, Owens 1987, Vander Zanden & Rasmussen 2001). However, animal-diet differences ($\delta_{\text{tissue}} - \delta_{\text{diet}}$) may greatly vary among species (DeNiro & Epstein 1978, 1981, Peterson & Fry 1987), and within species among ontogenic stages and sizes (Gearing et al. 1984, Rossi et al. 2004), physiological states (Hobson et al. 1993), body tissues (Tieszen et al. 1983) and biochemical compounds. For instance, in a given animal body, lipids are generally more depleted in ^{13}C than carbohydrates and proteins (DeNiro & Epstein 1977, 1978), the last being incorporated without significant isotopic changes from dietary protein. The extent to which these variations reflect biological processes and physiology-driven kinetics has not yet been clearly determined and, as argued by Gannes et al. (1997), still requires experimental investigation.

In estuarine and coastal ecosystems, benthic bivalve molluscs have been successfully used to trace mixing processes between terrestrial, marine and autochthonous organic materials over ranges of both spatial (Stephenson & Lyon 1982, Riera & Richard 1996, Machás & Santos 1999)

and temporal scales (Riera & Richard 1997). They have also been used as tracers to show the degree of benthic-pelagic coupling in shallow waters through the utilisation of food sources of different origin (Gearing et al. 1984, Sauriau & Kang 2000, Rossi et al. 2004). So far, the intricacies of metabolic processes that modify the primary influence of diet composition in bivalve isotopic signatures have not been investigated in detail. However, some evidence of different trophic enrichment occurring in different bivalve tissues have been reported, for instance by Stephenson & Lyon (1982) and Machás & Santos (1999). Similarly, in view of the respective roles of different tissues in energy allocation between maintenance, growth and the reproductive cycle in bivalves (e.g. Gabbott 1983), Lorrain et al. (2002) recently suggested that seasonal changes in the magnitude of metabolic transfers between germinal and somatic tissues in the scallop *Pecten maximus* have significant consequences for their $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ compositions, irrespective of diet resources. The relative contributions of growth and metabolic replacement to multiple-element isotopic turnover was also investigated by Dattagupta et al. (2004) using transplanted methanotrophic mussels *Bathymodiolus childressi* between different hydrocarbon seep sites.

To investigate these issues in a bivalve species representative of estuarine areas, temporal changes in the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ compositions of separate tissues of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) were compared to changes in the isotopic composition of its food originating from a tidal mudflat of the Marennes-Oléron Bay. Previous contributions to the comparative analysis of stable isotopes ratios in food resources (Galois et al. 1996, Richard et al. 1997) and *C. gigas* in this bay (Riera & Richard 1996, 1997) have revealed the occurrence of significant seasonal trends and spatial heterogeneity in trophic conditions. For instance, Riera & Richard (1996) suggested that *C. gigas* collected on bare mudflats at the mouth of the Charente estuary (north of Marennes-Oléron Bay) are mainly fuelled by benthic diatoms. However, depending on their geographic location within its salinity gradient, oysters may reflect short-term incorporation of continental materials, as revealed by the more negative $\delta^{13}\text{C}$ values of their whole body following periods of high river discharge (Riera & Richard 1997). We may therefore expect there to be no significant seasonal variations in the isotopic composition of *C. gigas* tissues experimentally reared

on sandy mudflats located in the southern part of the Marennes-Oléron Bay, far away from direct estuarine influence.

The annual reproductive cycle in bivalve molluscs is closely linked to other metabolic functions involved in the energy storage-utilisation cycle, with an important biochemical pathway between carbohydrates and lipids (see the review of Gabbott 1983). This relationship differs between species, and Bayne (1976) postulated that bivalves can be divided into two groups depending on their gametogenic patterns, although some species may be intermediate. In "conservative" species such as *Mytilus edulis* and *Pecten maximus*, gametogenesis occurs in autumn-winter with energy storage during the previous summer. In "opportunistic" species such as *Crassostrea gigas*, the autumn-winter period constitutes a stage of sexual resting, and gametogenesis is delayed until the spring when sufficient food to fuel biosynthesis is available in the environment. Consequently, gonad development and accumulation of energy reserves in *C. gigas* may overlap temporally during spring and summer periods (Deslous-Paoli & Héral 1988, Kang et al. 2000, Matus de la Parra et al. 2005). We therefore expected that biochemical modifications linked to gamete build-up would influence the isotopic signals in oyster tissues involved in energy transfers to the gonads. Thus, we analysed all oyster tissues separately i.e. mantle, gills, gonads and particular attention was paid to muscle with long-turnover times and digestive gland with short-turnover times to track temporal changes in diet assimilation (Tieszen et al. 1983, Fry & Sherr 1984). Moreover, to the best of our knowledge, this is the first time that in situ experiments simultaneously involve diploid and triploid oysters in stable isotope studies. In the latter, reproductive potential is reduced due to disruption of meiosis, whereas growth of somatic organs is enhanced (Beaumont & Fairbrother 1991, Gouletquer et al. 1996, Garnier-Géré et al. 2002). Consequently, triploids as sterile animals are expected to provide an useful tool to unmask metabolic processes linked to reproduction.

2. Materials and methods

2.1. Study area

The Marennes-Oléron Bay is located on the French Atlantic coast north of the Gironde estuary (Fig. 37). Of the two rivers flowing into the bay, the Charente River is the largest, with an output of 10 to 470 m³ s⁻¹, whereas the discharge of the Seudre River is much lower, ranging from 0 to 40 m³ s⁻¹ (Soletchnik et al. 1998). During winter time periods of high river discharge, low salinity waters coming from the Gironde estuary plume can also enter the bay by the widely opened north entrance, Pertuis d'Antioche, and to a lesser extent, with the flooding tide, through the south entrance, Pertuis de Maumusson. The Gironde estuary drains the Dordogne and Garonne rivers for which the total discharges was relatively low in winter 2002: only 15 days with discharge > 900 m³ s⁻¹ from January to March 2002. In contrast, river discharge > 900 m³ s⁻¹ occurred for 126 days between mid-November 2002 and mid-March 2003. A similar seasonal cycle was observed for the Charente River, with higher discharge in winter 2003 (128 days > 50 m³ s⁻¹) than in winter 2002 (only 37 days > 50 m³ s⁻¹).

Tidal exchange is much more important through Pertuis d'Antioche than through Pertuis de Maumusson leading to a north to south residual circulation of marine waters with a residence time varying from 5 to 10 days in relation to tidal and wind conditions (Raillard & Ménesguen 1994). The semi-diurnal tidal regime has a maximum amplitude of ca 6 m. Locally strong tidal currents lead to well-mixed, highly turbid waters whatever the season (Prou et al. 1994, Zurburg et al. 1994). Wind-driven resuspension also intermittently acts on intertidal muddy sediment erodability and mainly contributes to the dispersal of benthic microalgae locally produced on the extensive bare mudflats of the bay (Guarini et al. 1998).

Our study was deployed at Ronce-les-Bains, an intertidal oyster culture area (175 ha) located in the southern part of the bay (Fig. 37) and used for shellfish studies since the mid 1980s (Sauriau & Kang 2000, Soletchnik et al. 2005b). *Crassostrea gigas* were cultured off bottom using iron tables on which oyster bags were fastened (Fig. 37, see picture).

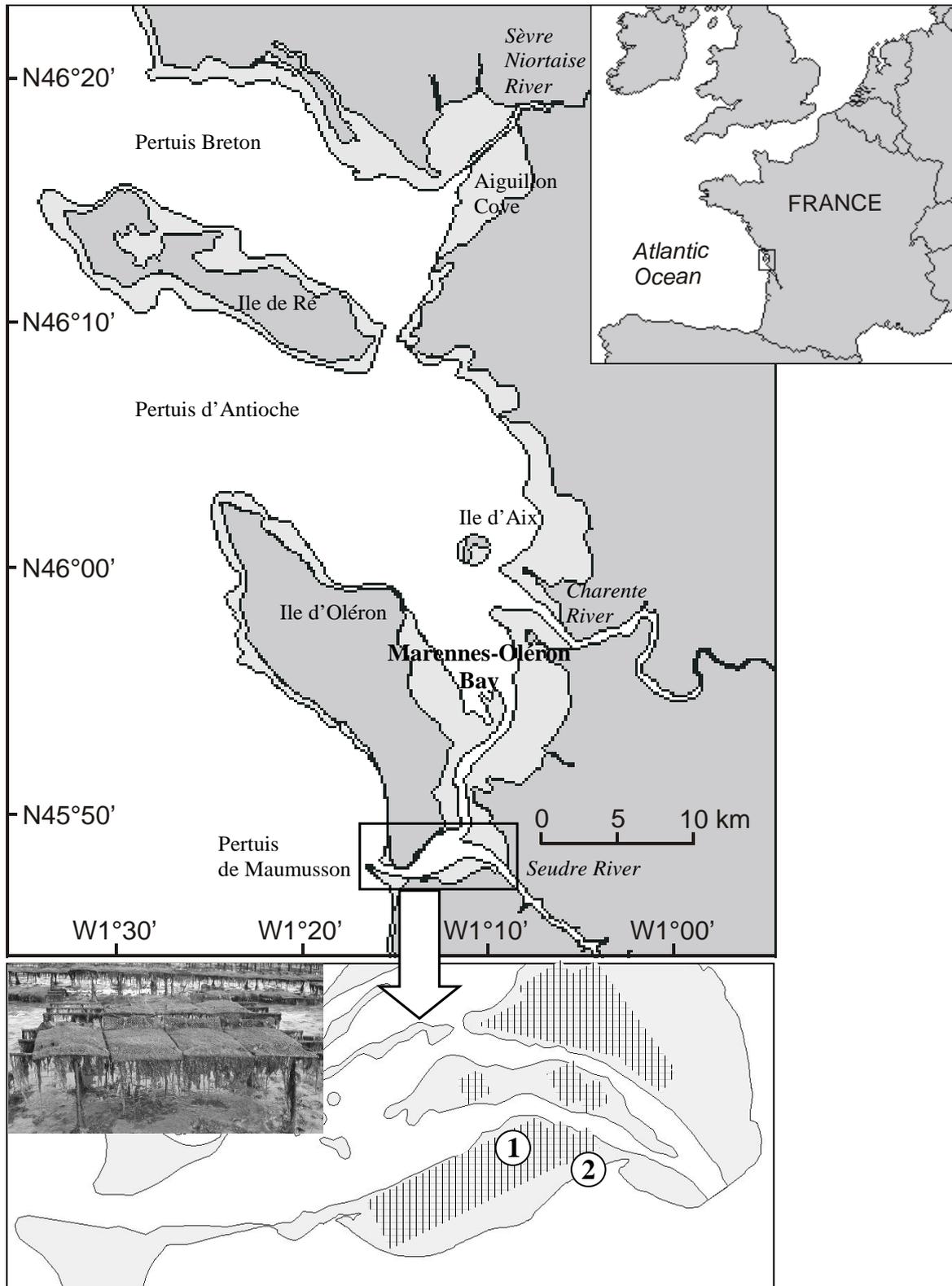


Figure 37. Map of the Marennes-Oléron Bay with location of the oyster culture site at Ronce-les-Bains: 1, oyster leasing ground and 2, hydrobiological sampling station. Inserted picture shows off-bottom cultures based on iron tables on which oyster bags were fastened on.

2.2. Sample collection

The diploid and triploid *Crassostrea gigas* adults used originated from a commercial oyster farm at La Tremblade. Triploids were previously produced under laboratory conditions at Ifremer La Tremblade by mating tetraploids and diploids (Lapègue & Boudry, pers. com.) according to the method of Guo et al. (1996). Triploids used in our experiments came from an induction that was 100% successful. Prior to the start of the study in March 2002, both diploid and triploid oysters were stored in salt marsh-based oyster earth ponds during wintertime, ca 7 months for diploids and 1 month for triploids. Such transplantation is a normal part of the oyster rearing cycle (Deslous-Paoli et al. 1982) and within the Marennes-Oléron Bay oysters are traditionally grown in intertidal areas and then stored and refined in oyster ponds or "claires" in early winter prior to marketing (Gouletquer & Héral 1997).

At the start of the experiment, the initial size of triploid oysters was on average significantly higher than that of diploids (58.8 ± 7.5 mm in total shell length versus 40.7 ± 5.9 mm, $n = 10$). However, the two groups of oysters exhibited similar total tissue dry weight i.e. 0.15 ± 0.05 g and 0.13 ± 0.04 g ($n=10$) for triploids and diploids, respectively. On each sampling occasion and for both diploid and triploid oysters, a sample of 35 individuals was randomly collected monthly over a one-year cycle from March 2002 to April 2003. However, the sampling interval was shortened during the summer reproductive period i.e. from May to August 2002 (see Table 1). Oysters were kept alive overnight in filtered seawater in order to drain their gut contents. Then, 5 oysters from each sample were frozen and stored at -20°C until dissection for isotopic analyses on separate organs, i.e. mantle, gills, digestive gland, muscle and gonads. Labial palps were not separated from mantle tissues. In order to minimise seepage of tissue fluids; dissection of oysters into separate organs was operated on frozen oyster bodies. The remaining 30 oysters were processed for proximate lipid analysis in freeze-dried samples of whole body tissues in 3 pools of 10 oysters. Analytical procedures used for lipid extraction and purification according to the chloroform-methanol method, and quantification using tripalmitate as a standard have been described in details by Deslous-Paoli & Héral (1988).

2.3. Hydrobiological parameter

Water samples were collected twice a month from March 2002 to May 2003 at Ronce-les-Bains within the first two hours of the flood tide. About 5 L of water was collected and pre-filtered with a 63 µm screen to remove any zooplankton or algae debris. Total particulate matter (TPM) was determined after filtration through precombusted and preweighed Whatman GF/C filters and dried for 24 h at 60°. Particulate inorganic matter (PIM) was then determined after filters had been combusted for 4 h at 450°. Chlorophyll *a* was extracted with acetone after filtration through a GF/F Whatman filter according to the method of Holm-Hansen & Riemann (1978 in Richard et al. 1997) and its concentration was determined with a Turner fluorimeter at 665 nm. All hydrobiological parameters were determined in triplicate. Finally, a last sample of water was filtered on only one precombusted Whatman GF/C filter and maintained frozen for C and N stable isotope analyses.

2.4. Stable isotope analysis

Each of the 5 frozen oysters was progressively thawed and carefully dissected in order to separate the different organs i.e. adductor muscle, digestive gland and gonads from other tissues (gills and mantle). All oyster tissues were washed in 10 % v:v HCl, rinsed briefly twice in de-ionised water and freeze-dried. Digestive gland and gonads were ground thoroughly to a fine powder whereas muscle tissues were cut into fine pieces with a scalpel. For water samples, filters were acidified with 2N HCl acid vapour to remove carbonates and kept frozen until analysed. Particulate organic matter was then scraped from the fibreglass filters. All samples were finally packed in tin cups ready for combustion.

Carbon and nitrogen isotope ratios of the tissues of 3 oysters, and all particulate organic matter samples were measured by CF-IRMS analysis using an IsoPrime stable isotope mass spectrometer (Micromass, Manchester, UK) interfaced to an elemental analyser EuroEA3024-IRMS (Eurovector, Milan, Italy). The analytical precision for 10 consecutive measurements was < 0.15 ‰ for both N and C isotope ratios. The working standard was acetanilide calibrated against graphite NBS21 and ammonium sulphate IAEA-N1 for carbon and nitrogen, respectively. Data

were expressed in the standard δ notation as parts per thousand (‰) relative to the PeeDee Belemnite Limestone (PDB) and atmospheric N₂ for carbon and nitrogen, respectively. The stable isotopic ratio is reported as $\delta^A X = ((R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1) * 10^3$ (‰), where A is the atomic mass of the heavy stable isotope of the element X, and R = ¹³C/¹²C for carbon and ¹⁵N/¹⁴N for nitrogen, respectively.

2.5. Statistical analyses

Basic statistics and analyses of variance were performed using the Minitab Release 10.2 package. Homoscedasticity of data was tested prior to analysis of variance and non-parametric tests used in case of rejection (Sokal & Rohlf 1981). A two-way anova with replication considering ploidy type (diploid vs. triploid) and sampling date as fixed factors was used to test stable isotope ratio time-series in oyster tissues. The non-parametric test for association using Kendall's coefficient of rank correlation (τ) was also used in case of non-linear relationship between two variables and/or data known not to be normally distributed (Sokal & Rohlf 1981, p. 601), as is the case for tidal range. Otherwise, regressions were performed using a non-linear algorithm (SigmaPlot 1.02 curve fitter based on the Marquardt-Levenberg algorithm) in order to estimate the standard deviations of all regression parameters. Significant differences in stable isotope ratios between oysters and/or tissues were tested using one-tailed or two-tailed tests at a significance level of 0.05. Biometrics (shell length, tissues dry weight) were presented as mean \pm SD.

3. Results

3.1. Environmental conditions and quality of available food sources

Temperature and salinity presented similar seasonal cycles at Ronce-les-Bains with maximum values from spring to early autumn and minimum values in winter (Fig. 38a). The temperature of the flooding tide reached 25.9°C in summer and 5.0°C in winter with a slow decrease from August 2002 to January 2003. Salinity values higher than 32 were observed from

April to October 2002. Minimum salinity values of 22 were recorded in March of both years (Fig. 38a).

Total particulate matter (TPM) concentrations were always higher than 100 mg l^{-1} (Fig. 38b) and reached extremely high values of 560 and 721 mg l^{-1} in May 2002 and January 2003, respectively. TPM concentrations between 200 and 400 mg l^{-1} were more frequently recorded in winter and spring than in other seasons. A significant Kendal's rank correlation was found between tidal range and both TPM and particulate inorganic matter (PIM) concentrations ($\tau = 0.161$, $p = 0.030$, $n = 84$ and $\tau = 0.183$, $p = 0.014$, $n = 84$ for TPM and PIM, respectively). This suggests that, despite a large scatter in the data set, a significant proportion of high and low TPM and PIM values were recorded during spring and neap tide periods, respectively. The particulate organic matter fraction (POM to TPM ratio) averaged $16 \pm 4 \%$ with the lowest values in spring 2002. Consequently temporal changes in PIM closely followed those of TPM (Fig. 38b) as could be expected from previous hydrological studies in Marennes-Oléron Bay (Prou et al. 1994).

Chlorophyll *a* concentrations presented no clear seasonal trend but showed several peaks throughout the year with maximal values ($> 15 \mu\text{g l}^{-1}$) in spring, summer and winter, and minimal values ($< 5 \mu\text{g l}^{-1}$) in autumn and early winter (Fig. 38c). Pheopigment concentrations did not followed the same pattern of variation although several maximal values of chl *a* and pheopigments matched (Fig. 38c). A highly significant correlation was found between PIM and pheopigments ($r = 0.67$, $p < 0.001$, $n = 42$) and a significant Kendal's rank correlation was found between tidal range and pheopigment concentrations ($\tau = 0.176$, $p = 0.020$, $n = 81$). Both relationships highlight the contribution of resuspended sedimentary organic matter to the water column through current and wind-driven resuspension in the bay (Prou et al. 1994). No significant correlation was found between POM and chl *a* for the dates that were sampled in 2002 and 2003. However, during spring and early summer 2002, the correlation between POM and chl *a* was highly significant ($r = 0.87$, $p < 0.001$, $n = 10$). This suggests a major contribution of phytoplankton blooms to the water column in spring and early summer (Soletchnik et al. 1998).

Combining $\delta^{13}\text{C}$, the C:N ratio of POM and the weight-to-weight ratio of particulate organic carbon to chlorophyll *a* (POC:Chl *a*) allowed the quality of the food sources available to oysters to be depicted and their monthly variations split into 3 periods (Fig. 39):

1) Early spring i.e. March to April 2002 was characterised by low POM fractions closely connected to chl *a* concentrations, high pheopigments and PIM concentrations but POC:Chl *a* values < 100 (Fig. 39b). Such values indicated that much of the particulate organic carbon derives from living algal sources (Zeitzschel 1970). Accordingly, high C:N ratios (10.4 ± 0.4) associated with isotopic carbon depleted values of $-23.2 \pm 0.5 \text{ ‰}$ (Fig. 39a) involve the contribution of winter to early spring phytoplankton blooms to bulk POM.

2) Spring, summer and autumn i.e. May to November 2002 was defined by a large chloropigment variability with several peaks in May, July and September. High chloropigments and PIM concentrations together with enriched $\delta^{13}\text{C}$ values of $-20.9 \pm 0.4 \text{ ‰}$ (Fig. 39a) indicated that benthic organic matter episodically contributed to the bay organic pool, which is usually dominated by neritic phytoplankton blooms in spring and early summer (Soletchnik et al. 1998). Values of POC:Chl *a* fluctuated below, within and just above the 100-200 range (Zeitzschel 1970, Cifuentes et al. 1988) in relation to the episodic dominance by resuspended benthic algae *versus* phytoplankton components in POM samples.

3) Early winter to spring i.e. December 2002 to April 2003 was characterised by high TPM concentration but unrelated chl *a* to pheopigment concentrations (Fig. 38c). Mean $\delta^{13}\text{C}$ values ($-21.8 \pm 0.4 \text{ ‰}$) were associated with C:N ratios ranging from 6.5 to 8.1 (Fig. 39a). These values reflected estuarine organic matter with lower contributions by benthic sources than in summer and early autumn. Moreover, very high POC:Chl *a* ratios indicated that detrital materials were always a major constituent of POM (Fig. 39b) particularly in December 2002 and January 2003.

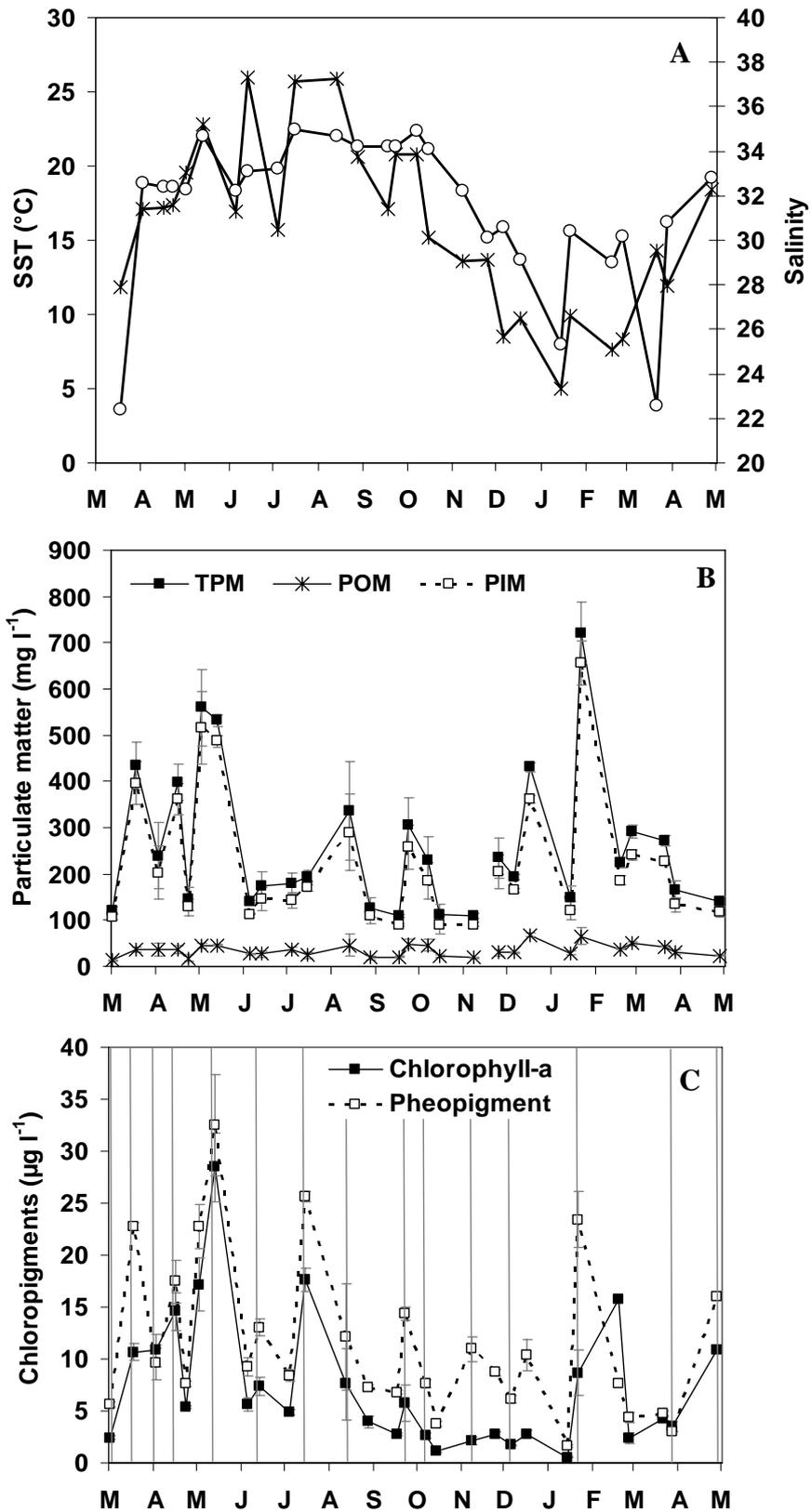


Figure 38. Variation over time in sea-surface temperature (SST: ∗) and salinity (○) (A), total particulate matter (TPM: ■), particulate organic and inorganic matter (POM: ∗, PIM: □) (B) and chloropigments (chlorophyll-a: ■ and pheopigments: □) (C) at Ronce-les-Bains from March 2002 to May 2003. Mean ± SD (n = 3). Sampling periods in spring tide are indicated by vertical lines.

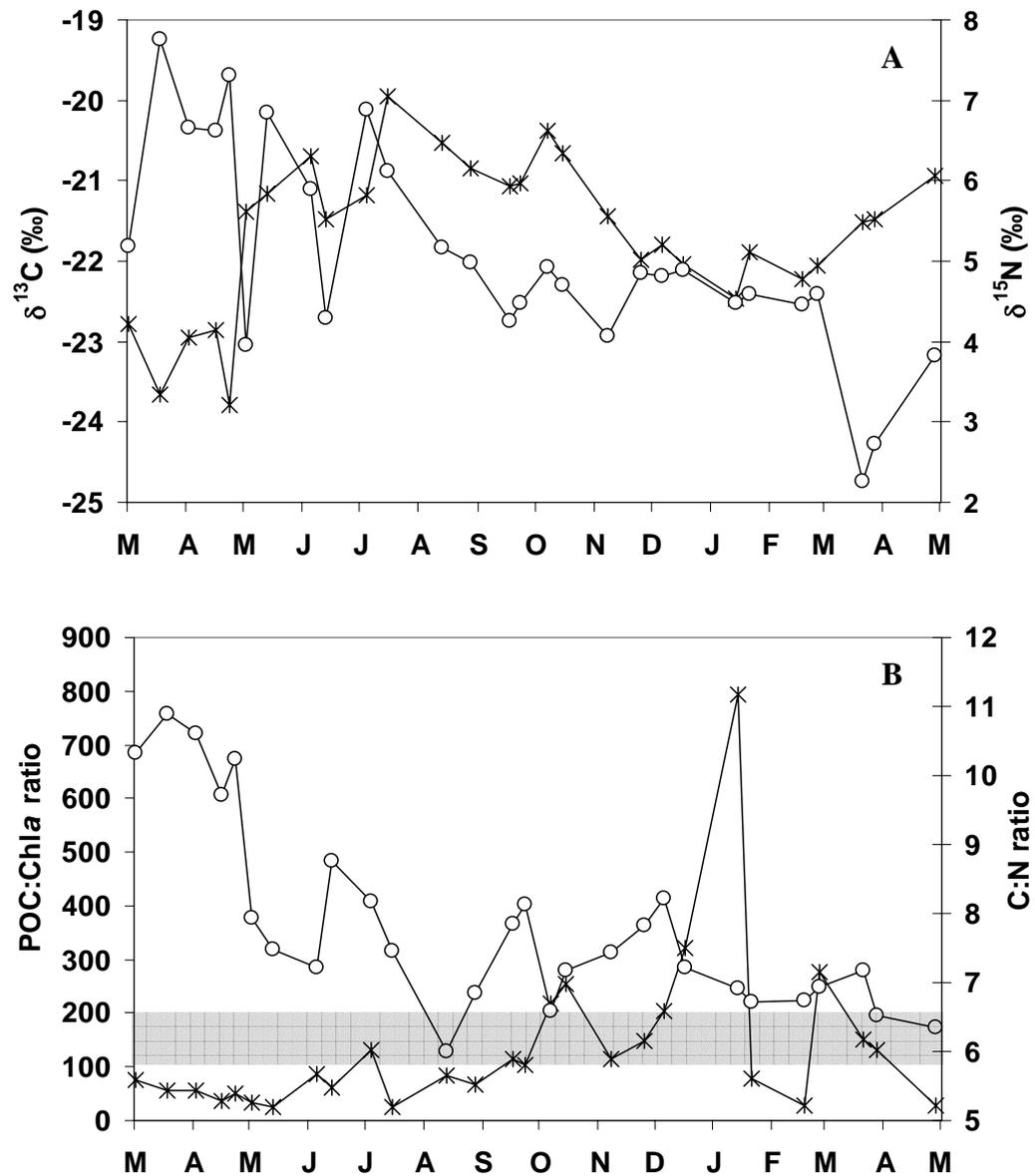


Figure 39. Variation over time of stable carbon (*) and nitrogen (\circ) isotope ratios (A) and POC:Chl a (*) and C:N ratios (\circ) (B) of particulate organic matter in the water column at Ronces-Bains from March 2002 to May 2003. The shaded area between 100 and 200 separate POC:Chl a into new (< 100) and detrital (> 200) organic matter.

3.2. Comparative changes in oyster biometrics and proximate lipid contents

Oyster total tissue dry weight increased by a factor of approximately 10 between the start and the end of the experiment ca 0.13 ± 0.04 g to 1.33 ± 0.22 g for diploids and 0.15 ± 0.05 g to 1.75 ± 0.24 g for triploids (Table 15). Oyster growth occurred in spring and early summer for diploids (Fig. 40a), whereas triploids grew throughout spring, summer and early autumn (Fig. 40b).

For both diploid and triploid oysters, the digestive gland and the gills accounted for 30 to 40 % of total tissue dry weight, whereas mantle and muscle tissues accounted only for 20 to 10 % of total tissue dry weight. Major month-to-month changes in tissue dry weight occurred in the digestive gland and the gonads for diploids (Fig. 40a) and the digestive gland and the gills for triploids (Fig. 40b).

The reproductive period was characterised by the two partial spawning periods in June and one mass spawning at the end of July and early August (Fig. 40a). During these respective reproductive periods, gonads represented 37, 27 and up to 54 % of the total tissue dry weight in diploid oysters before gamete release (Table 15). As a consequence of biochemical replacement during reproduction, the lipid content of diploid oysters varied from 9.7 and 15.8 % of total tissue dry weight during the spawning season, that extended until early August 2002 (Table 15). In contrast, variation in the lipid content of triploid oysters was less abrupt than in the diploids and ranged from 9.4 to 12.2 %. From June to mid-August 2002 and outside periods of gamete release (mid-June and August), all lipid contents for diploid oysters were significantly higher than those of triploid oysters (t test, $p < 0.001$ $n = 6$, for 7 out of 9 sampling dates between 5th June and 21st August, Table 15).

Table 15. Total tissue dry weight (g), proportion of gonad and total lipid content relative to dry weight (%) (mean \pm S.D, n = 5, 5 and 3, respectively) for diploid and triploid oysters at Ronce-les-Bains. nd = no data.

Sampling date	Diploid oysters			Triploid oysters	
	Tissue dry weight (g)	Gonads (% dry weight)	Total lipid content (% dry weight)	Tissue dry weight (g)	Total lipid content (% dry weight)
03/13/2002	0.13 \pm 0.04	0	8.0 \pm 0.5	0.15 \pm 0.05	7.5 \pm 0.3
04/25/2002	0.56 \pm 0.18	0	9.0 \pm 0.7	0.41 \pm 0.17	8.9 \pm 0.1
05/14/2002	0.72 \pm 0.20	14.7 \pm 7.8	9.7 \pm 0.7	0.56 \pm 0.08	9.6 \pm 0.4
05/27/2002	0.77 \pm 0.12	17.7 \pm 7.6	11.6 \pm 1.5	0.59 \pm 0.15	12.0 \pm 0.9
06/05/2002	0.81 \pm 0.11	37.2 \pm 4.9	12.1 \pm 0.2	0.69 \pm 0.14	9.4 \pm 0.1
06/12/2002	0.56 \pm 0.15	17.3 \pm 19.4	12.5 \pm 0.9	0.95 \pm 0.15	10.2 \pm 0.5
06/20/2002	0.68 \pm 0.33	26.5 \pm 17.4	12.9 \pm 0.7	0.76 \pm 0.12	11.5 \pm 0.3
06/26/2002	0.58 \pm 0.14	5.2 \pm 6.9	10.1 \pm 0.4	0.85 \pm 0.24	11.7 \pm 0.3
07/03/2002	0.59 \pm 0.09	17.4 \pm 21.5	13.5 \pm 0.7	0.85 \pm 0.24	11.8 \pm 0.3
07/10/2002	1.14 \pm 0.26	54.4 \pm 6.7	15.0 \pm 0.4	0.96 \pm 0.15	10.0 \pm 0.4
07/25/2002	0.63 \pm 0.09	0	15.1 \pm 0.5	0.59 \pm 0.19	10.2 \pm 0.5
08/08/2002	0.55 \pm 0.11	0	15.8 \pm 1.8	1.04 \pm 0.13	12.2 \pm 0.5
08/21/2002	0.69 \pm 0.17	0	9.0 \pm 0.2	0.85 \pm 0.22	10.6 \pm 0.3
09/11/2002	0.65 \pm 0.16	0	9.1 \pm 0.2	1.24 \pm 0.26	11.5 \pm 0.6
10/08/2002	0.73 \pm 0.14	0	nd	1.52 \pm 0.31	nd
11/05/2002	1.01 \pm 0.20	0	nd	1.44 \pm 0.26	nd
12/02/2002	0.48 \pm 0.17	0	nd	1.58 \pm 0.25	nd
01/06/2003	0.84 \pm 0.23	0	nd	1.01 \pm 0.28	nd
02/04/2003	0.77 \pm 0.19	0	nd	0.83 \pm 0.32	nd
04/12/2003	1.33 \pm 0.22	0	nd	1.75 \pm 0.24	nd

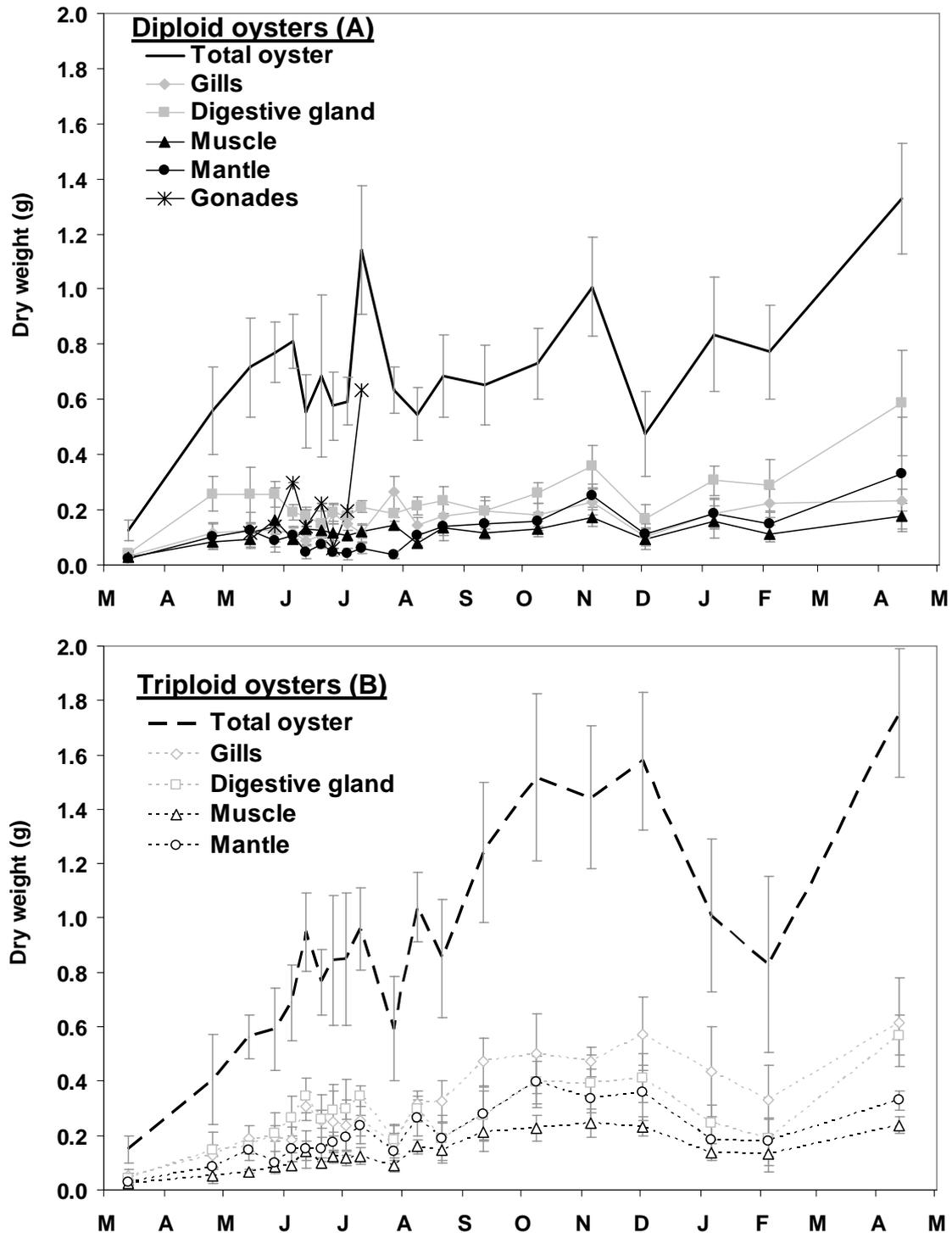


Figure 40. Variation over time of different dry weight tissues in diploid (A) and triploid (B) oysters at Ronces-les-Bains from March 2002 to May 2003. Mean \pm SD ($n = 5$).

3.3. Comparative changes in $\delta^{13}\text{C}$ in diploid and triploid oyster tissues

Before the start of the experiment at Ronces-les-Bains in March 2002, oysters were grown in intertidal areas for one year and then stored in oyster ponds during the autumn and winter. They

consequently modified their stable-isotope signatures, whose level depended primarily on the time spent in oyster ponds. Diploid oysters stored 7 months in oyster ponds reached a $\delta^{13}\text{C}$ value of -23.7 ± 0.3 ‰ for digestive gland, -23.0 ± 0.4 ‰ for mantle and -22.6 ± 0.3 ‰ for muscle (Fig. 41a). However, $\delta^{13}\text{C}$ values of triploid oysters, which spent only 1 month in oyster ponds, remained more enriched i.e. -21.7 ± 0.3 ‰, -19.8 ± 0.2 ‰ and -18.1 ± 0.4 ‰ for digestive gland, mantle and muscle, respectively (Fig. 41b). $\delta^{13}\text{C}$ values of gills, not shown for clarity, were intermediate between those of muscle and mantle tissues whatever the ploidy group. At the end of the experiment in April 2003, there were no significant differences in $\delta^{13}\text{C}$ values for either digestive gland or mantle between diploid and triploid oysters. However, the muscle tissues of triploids remained significantly more enriched in ^{13}C by ca > 1 ‰ than those of diploids most of the time (Figs. 41a, b).

Over one year of presence in the intertidal area, both diploid and triploid oysters underwent significant seasonal changes in digestive gland, mantle and muscle isotopic composition (two-way anova, $p < 0.001$). Although a rather similar pattern was observed in $\delta^{13}\text{C}$ month-to-month changes in their digestive glands (Figs. 41a, b), differences that occurred within the first 3 months and in autumn and early winter were highly significant ($p < 0.001$ for the interaction between ploidy type and date). There was also a clear discrepancy between the two time series in muscle $\delta^{13}\text{C}$ values of diploid and triploid oysters for the first 5 months and autumn to early winter period (two-way anova, $p < 0.001$ for date, ploidy type and interaction). Gills and mantle $\delta^{13}\text{C}$ values were nearly always intermediate between those of the digestive gland and those of muscle for both diploids and triploids, and significant differences between diploid and triploid were recorded within the first 4 months and in early winter 2003 (Figs. 41a, b).

Four periods are therefore distinguishable on monthly changes in $\delta^{13}\text{C}$ of digestive gland, mantle and muscle for both diploid and triploid oysters (Figs. 41a, b):

1) March to May 2002: $\delta^{13}\text{C}$ values in oyster tissues reflected the progressive incorporation of new food sources available on the intertidal mudflats. All $\delta^{13}\text{C}$ values in diploid oyster tissues became more enriched and by the end of May ranged from -22.5 ‰ to -21.5 ‰ (Fig. 41a).

Corresponding stable carbon isotope values in triploid oyster muscle were more depleted in May than those found in March and had decreased from -18 ‰ to -19 ‰ (Fig. 41b). Although muscle tissues show slow turnover, changes in muscle $\delta^{13}\text{C}$ of both diploid and triploid oysters were growth-related since their dry weights doubled from March to May (Figs. 40a, b). Conversely, $\delta^{13}\text{C}$ values of triploid oyster digestive gland were stable over time compared to their initial values. Mantle tissues appeared to be intermediate since they reached $\delta^{13}\text{C}$ values similar to those of digestive gland in both groups of oysters at the end of May.

2) June to early August 2002: $\delta^{13}\text{C}$ values averaged -22.3 ± 0.4 ‰ for digestive gland, -21.2 ± 0.4 ‰ for mantle and -21.7 ± 0.6 ‰ for muscle in diploid oysters, and -21.5 ± 0.3 ‰ for digestive gland, -21.1 ± 0.6 ‰ for mantle and -19.2 ± 0.3 ‰ for muscle in triploid oysters. Gonad $\delta^{13}\text{C}$ values were very close to those of digestive gland in diploids and averaged -22.2 ± 0.4 ‰ (Fig. 41a). Large variations surprisingly occurred in $\delta^{13}\text{C}$ values in digestive gland, mantle and muscle tissues of both diploid and triploid oysters during the reproductive period. Partial spawning events in June and the mass spawning event in July were preceded by a systematic depletion and followed by an enrichment of $\delta^{13}\text{C}$ values in all tissues. Moreover, changes in $\delta^{13}\text{C}$ recorded in all tissues of triploid oysters matched those recorded in tissues of diploid oysters (Fig. 41, see curves within shaded areas).

3) August to November 2002: whatever the tissue, $\delta^{13}\text{C}$ values tended to be more enriched for both diploid and triploid oysters (Figs. 41a, b). However, muscle tissues in triploid oysters tended to be more enriched in ^{13}C than digestive gland and mantle tissues with a highly significant difference of 1.0 to 1.5 ‰ whatever the sampling date (t test, $p < 0.001$, $n = 6$). In contrast, digestive gland, mantle and muscle tissues in diploid oysters displayed very similar $\delta^{13}\text{C}$ values except in mid-September and mid-October (Fig. 41a).

4) December 2002 to April 2003: $\delta^{13}\text{C}$ values were more stable than in previous periods with a slight depletion in all tissues from winter 2002 to spring 2003. In April 2003, $\delta^{13}\text{C}$ values averaged -19.8 ± 0.4 ‰ for digestive gland, -19.6 ± 0.2 ‰ for mantle and -19.2 ± 0.2 ‰ for muscle in diploid oysters, and -20.5 ± 0.5 ‰, -20.1 ± 0.5 ‰ and -18.2 ± 0.5 ‰ for for digestive gland,

mantle and muscle in triploid oysters, respectively. In the latter, $\delta^{13}\text{C}$ values in muscle were still significantly higher than those recorded in digestive gland by a value of $+2.3 \pm 0.5$ ‰ (Fig. 41b).

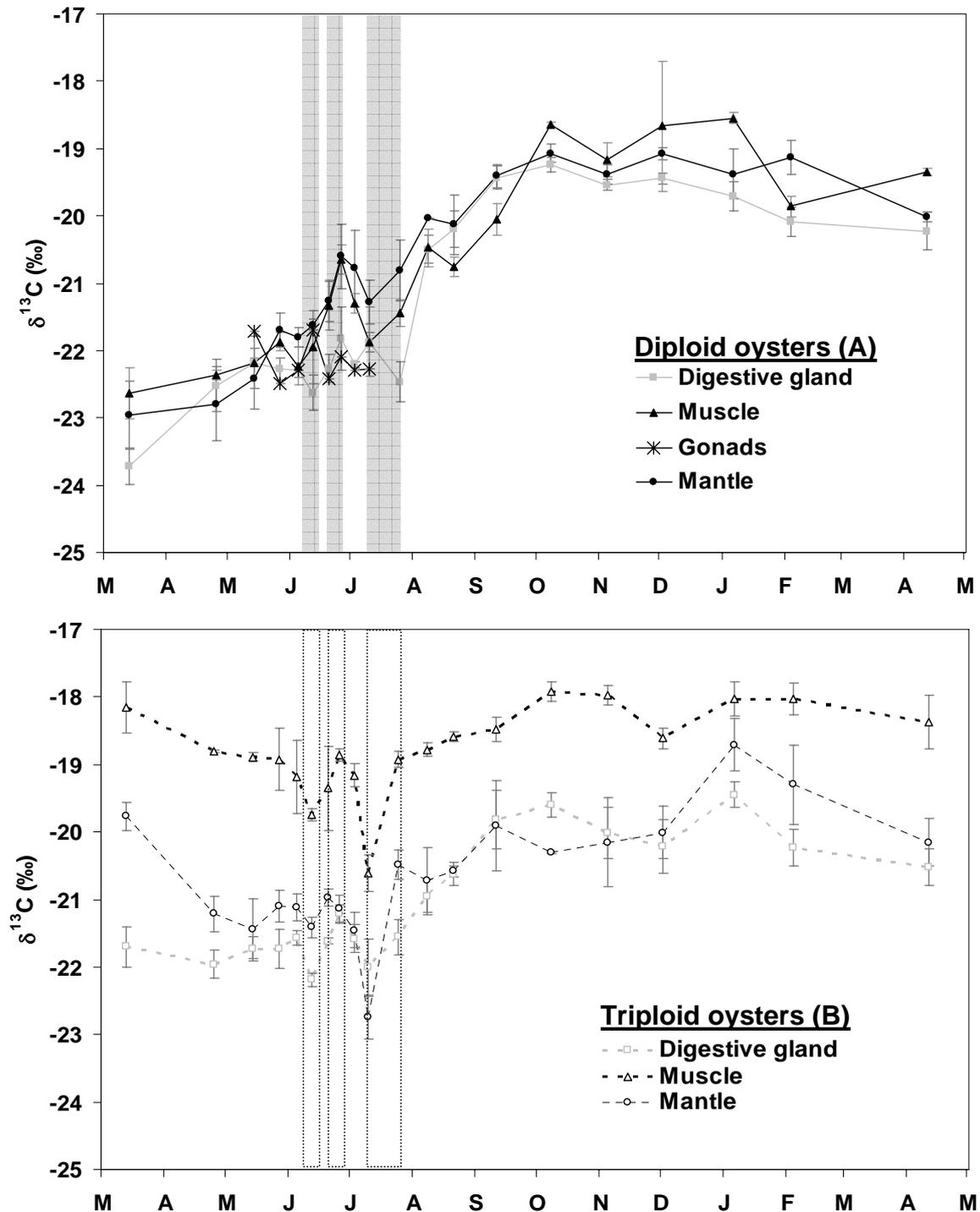


Figure 41. Variation over time in $\delta^{13}\text{C}$ values of digestive gland (square), muscle (triangle), mantle (circle) and gonads (cross) of diploid (filled symbols) (A) and triploid (open symbols) (B) *Crassostrea gigas* from March 2002 to April 2003. Each shaded area represents a spawning period recorded in diploid oysters in 2002. Mean \pm SD ($n = 3$).

3.4. Comparative changes in $\delta^{15}\text{N}$ in diploid and triploid oyster tissues

Contrary to $\delta^{13}\text{C}$ ratios (Fig. 41) there were no significant differences in $\delta^{15}\text{N}$ values between diploid and triploid whatever the tissues at the start of the experiment and $\delta^{15}\text{N}$ mean values ranged from 7.6 to 8.7 ‰ (Fig. 42). This suggests similar $\delta^{15}\text{N}$ values in organic matter incorporated by oysters from intertidal areas and salt marsh oyster ponds prior the start of the experiment (Malet, unpub. data).

There were no significant differences between diploid and triploid oyster $\delta^{15}\text{N}$ mean values in digestive gland (two-way anova, $p = 0.375$ for ploidy type). However, month-to-month changes in digestive gland $\delta^{15}\text{N}$ values were highly significant ($p < 0.001$) and strong first order interaction was indicative of varying overlap between the two time series ($p < 0.001$, Fig. 42). Similar results were obtained when $\delta^{15}\text{N}$ time series for mantle and gills (not shown for clarity) were compared, times series for the gills being intermediate between those of muscle and mantle tissues. Seasonal changes in muscle $\delta^{15}\text{N}$ were also highly significant (two-way anova, $p < 0.001$) but since the first order interaction was not significant ($p = 0.246$), the highly significant effect of ploidy type ($p < 0.001$) suggested diploid and triploid oysters have different muscle $\delta^{15}\text{N}$ values. One-tailed Student's t test thus showed that muscle $\delta^{15}\text{N}$ mean values in triploid oysters were significantly higher than those of diploid oysters ($p < 0.004$) but the magnitude of the difference was +0.2 ‰ from April to July 2002 and +0.4 ‰ from August to April 2003.

The four periods previously found in seasonal variation in $\delta^{13}\text{C}$ of digestive gland and muscle were also recognisable in $\delta^{15}\text{N}$ tissues. From March to May 2002, $\delta^{15}\text{N}$ in oyster tissues reflected the progressive incorporation of new food sources available on the intertidal mudflats. As fast-turnover tissues, digestive glands quickly reacted to the incorporation of depleted ^{15}N organic matter and their $\delta^{15}\text{N}$ values ranged from 5 ‰ to 6 ‰ at the end of May (Fig. 42). A rather similar trend was also observed for mantle tissues and their $\delta^{15}\text{N}$ values ranged from 6 ‰ to 7 ‰ at the end of May. A much lower decrease occurred in muscle $\delta^{15}\text{N}$ in relation to growth-dilution as previously reported to $\delta^{13}\text{C}$ muscle values but its magnitude was < 1 ‰, suggesting the influence of

other physiological buffer factors. From June to early August 2002, whatever the tissues, $\delta^{15}\text{N}$ average values were similar before and after the spawning periods recognised in diploid oysters. Significant, sudden enrichments occurred in digestive gland, mantle and muscle $\delta^{15}\text{N}$ of both diploid and triploid oysters during the reproductive period. These fluctuations were smoother in muscle $\delta^{15}\text{N}$ and absent in $\delta^{15}\text{N}$ of gonads, which averaged 6.9 ± 0.3 ‰ (Fig. 42). From August to December 2002, all tissue $\delta^{15}\text{N}$ values were stable over time and ranged respectively from +6 to +6.5 ‰, +7 to +8 ‰ and +8.5 to +9.5 ‰ for digestive gland, mantle and muscle in both diploid and triploid oysters (Fig. 42). Finally, from January to April 2003 all tissue $\delta^{15}\text{N}$ values decreased but the magnitude was lower (-1.5 ‰) for mantle and muscle tissues than for digestive gland tissues (-2.5 ‰).

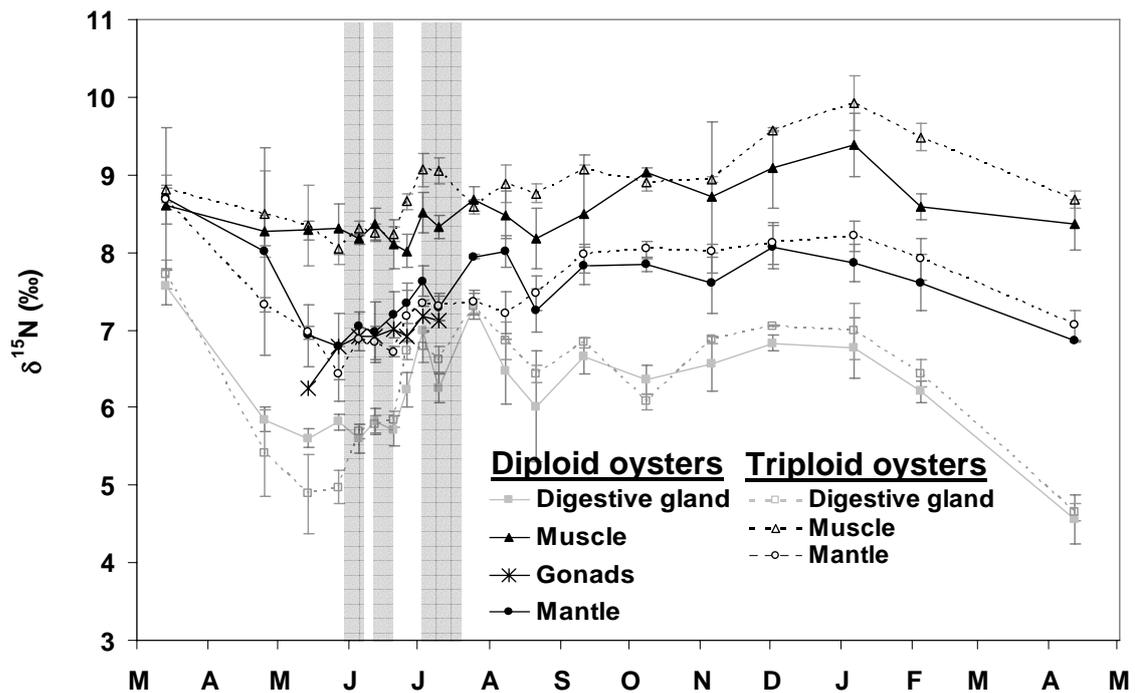


Figure 42. Variation over time in $\delta^{15}\text{N}$ values of digestive gland (square), muscle (triangle), mantle (circle) and gonads (cross) of diploid (filled symbols) and triploid (open symbols) *Crassostrea gigas* from March 2002 to April 2003. Each shaded area represents a spawning period recorded in diploid oysters in 2002. Mean \pm SD ($n = 3$).

3.5. Diploid vs triploid oyster $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ relationships

The scatter plot exploring the relationships between digestive gland $\delta^{13}\text{C}$ in diploid and triploid oysters for the period May 2002 to April 2003 revealed the occurrence of two groups of data in relation to the reproductive season (Fig. 43a). From the end of May to August 2002 i.e. during the reproductive period, diploid oyster digestive glands were significantly more depleted in ^{13}C than those of triploid oysters (one-tailed Student's t test, $p < 0.001$). The opposite result occurred, however, during the resting period, from mid-August 2002 to April 2003, when diploid oyster digestive glands were significantly more enriched in ^{13}C than those of triploid oysters were (one-tailed Student's t test, $p < 0.017$). Moreover, coupled changes in ^{13}C values of diploids and triploids occurred during the rest period because the correlation between $\delta^{13}\text{C}_{\text{triploids}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{diploids}}$ was significant ($r = 0.70$, $n = 27$, $P < 0.001$) with the Y-intercept and the slope not significantly different from 0 and 1 (1.01 ± 0.01), respectively.

Due to the large differences in initial values of $\delta^{13}\text{C}$ of muscle between diploid and triploid oysters (Figs. 41a, b) and since muscle is a slow-turnover tissue, changes in $\delta^{13}\text{C}$ in muscle in diploid and triploid oysters were not comparable. However, it should be noted that even after 7 months on the same intertidal mudflats, $\delta^{13}\text{C}$ of muscle in diploid oysters was always more depleted than in triploid oysters: $\delta^{13}\text{C}_{\text{diploids}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{triploids}} = -0.9 \pm 0.7 \text{ ‰}$ ($n = 36$) from October 2002 to April 2003. Mantle tissues exhibited an intermediate situation between digestive gland and muscle tissues (scatter plot not shown): their $\delta^{13}\text{C}$ values were still significantly different for the first 4 months and then overlapped (Fig. 41).

The scatter plot of the relationship between digestive gland $\delta^{15}\text{N}$ in diploid and triploid oysters did not show any significant differences related to their reproductive activity despite the occurrence of some scatter within the data (Fig. 43b). The linear regression for the whole data set was highly significant ($\delta^{15}\text{N}_{\text{triploids}} = 1.01 \pm 0.01 \delta^{15}\text{N}_{\text{diploids}}$, $r = 0.83$, $n = 57$, $p < 0.001$) and not significantly different from a 1:1 linear relationship.

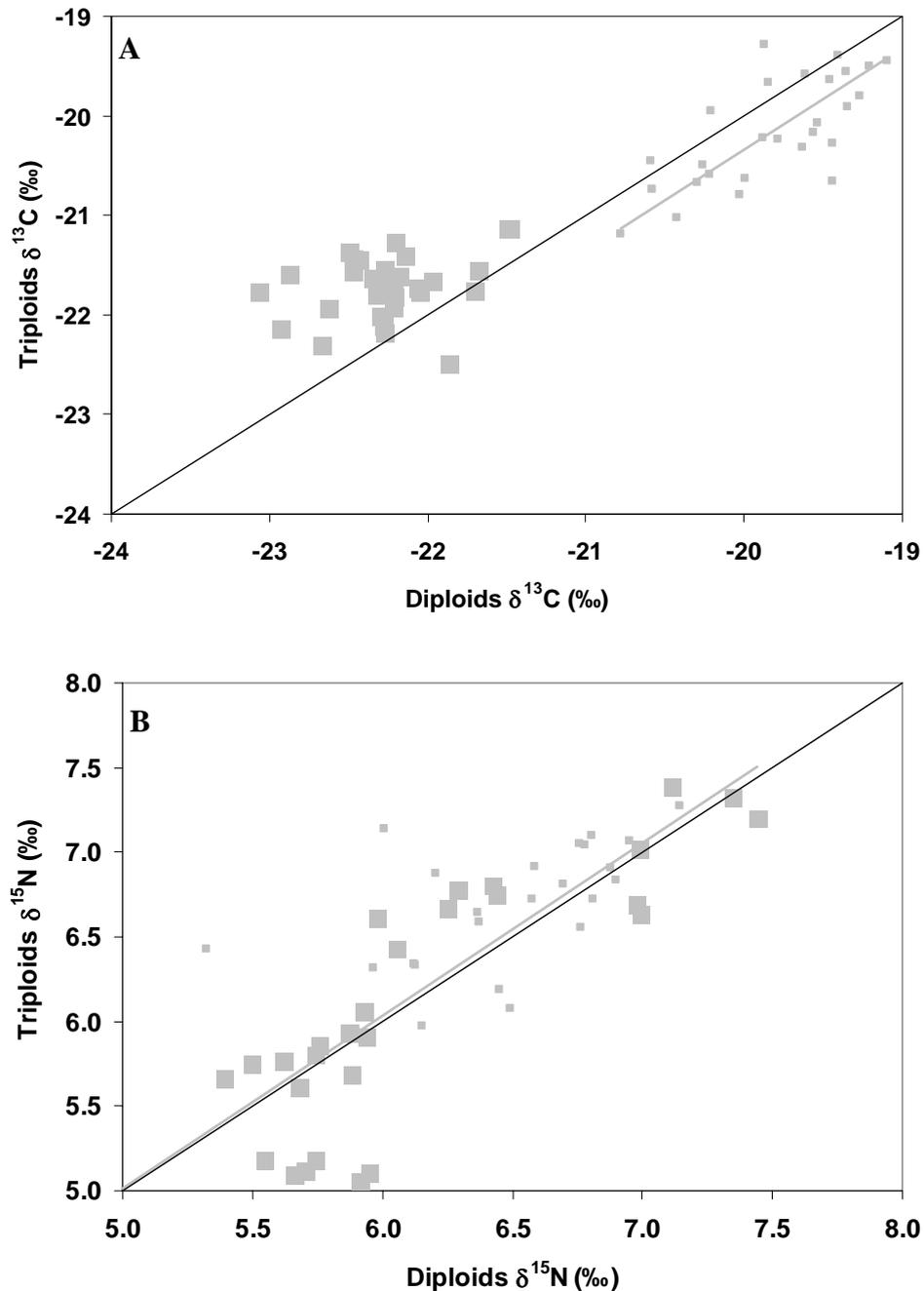


Figure 43. Scatter plot of diploid versus triploid oyster digestive gland values for $\delta^{13}\text{C}$ (A) and $\delta^{15}\text{N}$ (B) during the reproductive (large square) and resting (small square) periods. The solid line depicts a 1:1 correspondence. Dash lines indicate significant correlations (see text for details).

3.6. $\delta^{13}\text{C}$ vs C:N ratio in diploid and triploid oyster tissues

C:N ratios and proximate lipid contents have been recognised as linked: high C:N ratios indicate high lipid contents and consequently lipid-enriched tissues are expected to have lower $\delta^{13}\text{C}$ values (Fry & Sherr 1984). Digestive gland $\delta^{13}\text{C}$ values and C:N ratios followed this expected trend

during the reproduction period from April to August 2002 with significant negative correlation in diploid ($\delta^{13}\text{C}_{\text{diploids}} = -0.29 (\pm 0.14) \text{ C:N} - 20.7 (\pm 0.7)$, $r = 0.32$, $n = 30$, $p < 0.05$) and triploid oysters ($\delta^{13}\text{C}_{\text{triploids}} = -0.37 (\pm 0.07) \text{ C:N} - 19.6 (\pm 0.4)$, $r = 0.68$, $n = 30$, $p < 0.001$). For instance, an increase of C:N from 4 to 6.5 leads to a decrease of 0.7 ‰ in digestive gland $\delta^{13}\text{C}$ in diploid oysters (Fig. 44a). Gonads in diploid oysters also exhibited a similar negative correlation ($\delta^{13}\text{C}_{\text{diploids}} = -0.46 (\pm 0.08) \text{ C:N} - 19.9 (\pm 0.4)$, $r = 0.78$, $n = 23$, $p < 0.001$). Slopes of the 3 linear regressions did not significantly differ (their confidence limits overlapped). During the rest period from August 2002 to April 2003 no significant correlations were observed in either diploid or triploid oysters. Digestive gland C:N ratios ranged from 4 to 7.5 and their $\delta^{13}\text{C}$ ranged from -19 to -21.5 ‰ (Fig. 44a).

Similar negative correlations were found between $\delta^{13}\text{C}$ values and C:N ratios in both diploid and triploid mantle during the reproductive period but only for triploids during the rest period: $\delta^{13}\text{C}_{\text{diploids}} = -0.63 (\pm 0.20) \text{ C:N} - 18.5 (\pm 0.9)$ ($r = 0.52$, $n = 30$, $p < 0.01$), $\delta^{13}\text{C}_{\text{triploids}} = -0.48 (\pm 0.10) \text{ C:N} - 18.2 (\pm 0.6)$ ($r = 0.68$, $n = 30$, $p < 0.001$) and $\delta^{13}\text{C}_{\text{triploids}} = -0.60 (\pm 0.08) \text{ C:N} - 16.4 (\pm 0.5)$ ($r = 0.85$, $n = 27$, $p < 0.001$), respectively (Fig. 44b). Due to large confidence intervals, relationships in diploids and triploids were not significantly different during the reproductive period, but the relationship found in triploids differed from the two others during the rest period. The range of variation in mantle tissue C:N ratios was larger in triploids (4 to 8.5) than in diploids (4 to 6) (Fig. 44b).

Muscle $\delta^{13}\text{C}$ values in both diploid and triploid oysters exhibited little scatter in C:N ratios and no significant negative correlation could be found (Fig. 44b). Muscle C:N ratios of diploid oysters averaged similar values of 3.34 ± 0.16 ($n = 30$) and 3.26 ± 0.12 ($n = 22$) for the reproductive and rest periods, respectively. Triploid oyster C:N ratios matched these figures with 3.26 ± 0.09 ($n = 30$) and 3.34 ± 0.28 ($n = 22$), respectively (Fig. 44b). However, muscle $\delta^{13}\text{C}$ values in both diploids and triploids significantly differed between the two periods with $\delta^{13}\text{C}_{\text{rest period}} > \delta^{13}\text{C}_{\text{reproductive period}}$. Added to that, a surprising significant positive correlation was found between C:N ratios and muscle $\delta^{13}\text{C}$ values in diploids during the summertime rest period ($\delta^{13}\text{C}_{\text{diploids}} = 3.61$

(± 1.29) C:N – 31.3 (± 4.2), $r = 0.48$, $n = 27$, $p < 0.01$). This positive correlation was unexpected relative to the negative influence of lipids on C:N ratios. It may reveal an artefact or more probably be linked to the incorporation by diploid oysters of new diet components with very differing biochemical composition compared to those incorporated during the previous periods of gamete ripening and spawning.

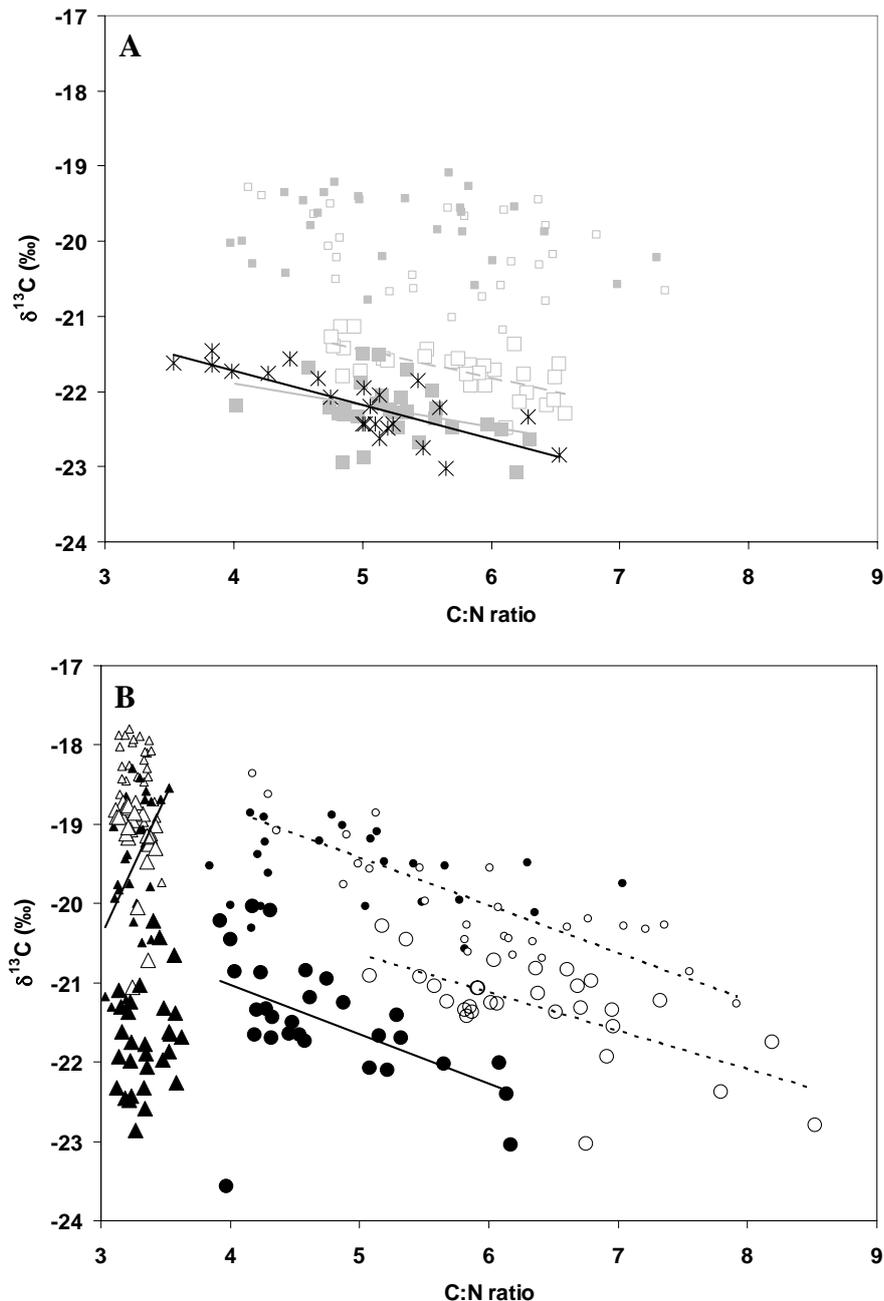


Figure 44. Scatter plot of $\delta^{13}\text{C}$ values versus C:N ratios for digestive gland (square) and gonads (cross) (A), muscle (triangle) and mantle (circle) (B) of diploid (filled symbols) and triploid (open symbols) *Crassostrea gigas* according to the reproductive (large symbol) and resting periods (small symbol). Solid and dash indicate significant correlations for diploid and triploid oyster, respectively (see text for details).

4. Discussion

4.1. Seasonal changes in sources of particulate organic matter (POM)

In this study, POM samples were collected from a bare sandy mudflat, where both *Zostera noltii* meadows and green macroalgae are rare (Kang et al. 1999, Sauriau & Kang 2000), the latter being confined to the vicinity of oyster culture structures (Fig. 37). For the same site, Kang et al. (1999) reported similar $\delta^{13}\text{C}$ POM values (1995: -24 to -20 ‰), and suggested that a mix of various particulate organic matter sources was available to suspension-feeders following previous hydrological analysis made within the Marennes-Oléron Bay (Galois et al. 1996, Riera & Richard 1996, Richard et al. 1997). At that tidal site, water-column mixing is likely to occur as follows: 1) current and wind-driven resuspension acting on sedimentary materials (Guarini et al. 1998); 2) tidal exchanges through the nearest marine inlet i.e. Pertuis de Maumusson (Soletchnik et al. 1998) and 3) north-to-south residual advection of water bodies that are characterised by high inorganic loads (Prou et al. 1994, Zurburg et al. 1994) and influenced by Charente river and Gironde estuary discharges (Raillard & Ménesguen 1994, Soletchnik et al. 1998).

A significant contribution by benthic microalgae to the water column was thus expected because large, persistent patches of microphytobenthos were described in that part of the bay (Guarini et al. 1998), with biomass levels relatively constant with season (Kang et al. 1999). Since $\delta^{13}\text{C}$ values of microphytobenthos have been reported to range from -15 to -17 ‰ in the Marennes-Oléron Bay (Riera & Richard 1996), it could be deduced from the temporal changes in $\delta^{13}\text{C}$ POM values (Fig. 39a) that resuspended microphytobenthos material contributed to suspended POM mainly from mid spring to early winter. This view is consistent with the occurrence of significant relationships between tidal ranges, particulate inorganic material (PIM) and pheopigments (Fig. 38c), most of POC:Chl *a* ratios lower than 200 indicative of fresh algal material (Cifuentes et al. 1988), and C:N ratios ranging from 6 to 9 (Fig. 39b). Such values higher than 5.6 (the Redfield ratio for phytoplankton) are indicative of carbon rich organic fresh detritus, representative of large amount of chloropigments in the water column. Zurburg et al. (1994) also reported similar values of C:N ratios (4 to 15 by weight) for resuspended material coming from an adjacent tidal site

within the bay of Marennes-Oléron. However, the discrepancy between the $\delta^{13}\text{C}$ of benthic microalgae (-15 to -17 ‰) and POM (within the range -22 to -20 ‰ from May to November, Fig. 39a) implies that microphytobenthos carbon is not the major component of the bulk particulate organic carbon (POC) but only one end-member.

At first glance, oceanic and/or neritic phytoplankton might be another end-member. A large body of literature, including discrete measurements made off Marennes-Oléron Bay (Fontugne & Jouanneau 1987, Richard et al. 1997), indicates that $\delta^{13}\text{C}$ values of marine phytoplankton vary between -22 and -18 ‰ in temperate seas (e.g. Goericke et al. 1994), partly as a function of temperature and species composition (Gearing et al. 1984). However true oceanic plankton species are very scarce in taxonomic records made within the Marennes-Oléron Bay (Ifremer-REPHY network, Ryckaert, com. pers.). Similarly, the hydrodynamic and hydrological features of this bay create habitats favouring neritic and estuarine phytoplankton species, as previously concluded from $\delta^{13}\text{C}$ and lipid biomarker analyses (Galois et al. 1996, Richard et al. 1997). These authors indicated that, within the Pertuis d'Antioche (Fig. 37), POM was characterised by aged and refractory terrestrial material (1990: $\delta^{13}\text{C}$ from -27 to -26 ‰ and C:N ratios > 20) during winter months with low Charente river discharge, and fresh estuarine phytoplankton (1991: $\delta^{13}\text{C}$ from -24 to -23 ‰, C:N ratios < 10 and POC:Chl *a* < 100) during blooms in spring (diatoms), summer and fall (flagellates). That estuarine phytoplankton is an end-member in early spring is consistently supported by ranges in $\delta^{13}\text{C}$ (-22.8 to -23.8 ‰), $\delta^{15}\text{N}$ (+5 to +8), C:N ratios (10-11) and POC:Chl *a* ratios < 100 (Fig. 39) recorded from March to April 2002 at Ronce-les-Bains. However, a contribution by sedimentary materials could not be excluded. The water column was thus characterised at that time by estuarine salinity (22 to 32) and very high turbidity (> 100 up to 600 mg l⁻¹, Figs. 38a, b), which originated from local resuspension and/or advection of estuarine waters through the Pertuis de Maumusson (Fig. 37). In fact, sedimentary particulate organic matter from lower reaches of many estuaries matches these $\delta^{13}\text{C}$ values, e.g. Gironde (Fontugne & Jouanneau 1987), Tay (Thornton & McManus 1994) and Schelde estuaries (Middelburg & Nieuwenhuize 1998), as the result of a progressive dilution of riverine (¹³C-depleted POC source) with marine

organic matter (^{13}C -enriched POC source). Within the Bay of Biscay and off the Marennes-Oléron Bay, marine organic matter comprised neritic species with ^{13}C values similar to marine plankton (Fontugne & Jouanneau 1987, Riera & Richard 1996, 1997) and are likely to fuel the studied mudflats every flood tide from mid spring to early winter.

In winter 2003, freshwater discharges from both the Charente River and Gironde estuary were much higher than in 2002, with flood conditions from mid-November 2002 to mid-March 2003. Consequently, salinity < 25-30, $\delta^{13}\text{C}$ values around -22 ‰, C:N ratios < 9 and POC:Chl *a* ratios with transient values higher than 300 were indicative of degraded phytoplankton and resuspended sedimentary material contributions to the bulk of the estuarine organic matter.

4.2. Stable isotope composition in *Crassostrea gigas* tissues

□ Initial *versus* final stable isotope ratios in oyster tissues

Before the start of the experiment, adult oysters originating from intertidal areas were transferred into oyster ponds that are traditionally used for oyster refining in late autumn and winter (Gouletquer & Héral 1997). As reported by Deslous-Paoli et al. (1982), oysters placed in such a shallow and organically rich environment during autumn and winter continue to grow, improve their body condition and biochemical compositions, and consequently show significant increases in carbohydrate content compared to oysters reared on tidal flats (Deslous-Paoli & Héral 1988). Transplanted oysters in this study presumably acquired new stable isotope signatures reflecting the incorporation of new dietary items due to both growth and metabolic tissue replacement (DeNiro & Epstein 1978, Herzka & Holt 2000). $\delta^{13}\text{C}$ values of adult diploid oysters that had spent 7 months in oyster ponds before being transplanted back to tidal areas in March 2002 substantiated this view since $\delta^{13}\text{C}$ in all their tissues was depleted (-22.2 to -24.1 ‰, Fig. 41). This suggests that either a significant quantity of C3-terrestrial organic matter or locally produced $\delta^{13}\text{C}$ -depleted plankton was lowering the initial stable isotope composition of those oyster tissues, even though salt marsh-based oyster ponds are fuelled with Marennes-Oléron bay waters every spring tide. Seasonal changes in stable-isotope signatures of water-column POM in the oyster ponds clearly validated

this hypothesis because $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values ranged respectively from -29 to -22.5 ‰ and +4.5 to +12.5 ‰ over a one-year cycle (Malet, unpub. data). Similar values have been reported world-wide in shallow, semi-enclosed salt marches or nearshore systems free of C4-plants, where mixing of organic materials from different origins may occur (Fry & Sherr 1984, Peterson & Fry 1987, Michener & Schell 1994).

In contrast, due to practical supply difficulties, adult triploid oysters spend only 1 month in oyster ponds. Contrary to the diploids, triploid tissues retained the isotopic composition they previously gained from their tidal rearing location. Digestive gland in triploid oysters exhibited moderate changes in $\delta^{13}\text{C}$ compared to the more depleted values recorded for diploid oysters. Mantle tissues presumably have a lower turnover rate than digestive gland and their $\delta^{13}\text{C}$ values were intermediate between those of digestive gland and muscle. Moreover, muscle in triploid oysters kept an isotope carbon ratio close to -18 ‰ that was similar to those recorded for triploid oyster muscles over the whole experimental growing season in the tidal area. This effect, sometimes called "isotopic memory", is related to tissue turn-over through a mass balance equilibrium describing changes over time of dietary inputs vs. metabolic outputs under physiological controls (DeNiro & Epstein 1978, Tieszen et al. 1983, Dattagupta et al. 2004). Recorded differences before the start of our experiment in $\delta^{13}\text{C}$ ratios between diploid and triploid muscle, mantle and digestive glands are consistent with this time-integrated approach. Muscle tissue is recognised as a provider of long-term integrated measure of dietary sources due to its slower turnover relative to more metabolically active tissues such as digestive gland, liver and mantle (Tieszen et al. 1983). A similar conclusion could be drawn from the results of Hsieh et al. (2000) for both young and old oysters *Crassostrea gigas* transplanted into an estuarine gradient within a tropical lagoon. Whatever the location of the rearing stations within the sea-river gradient, $\delta^{13}\text{C}$ tissues of young oysters were significantly more closely related to water column POM $\delta^{13}\text{C}$ than adult oyster tissues were, although similar $\delta^{13}\text{C}$ ratios were recorded in the control marine station. Apart from the selective feeding behaviour hypothesis proposed by Hsieh et al. (2000), such differences are, in the view of the time-integrated approach, consistently linked to 1)

differences in sampling dates between old and young oysters and 2) age-related growth rates. A much longer time spent within each rearing site (6 months instead of 3 months) together with higher growth rates allowed tissue carbon pools to be renewed in higher proportions in young than in old oysters. For both ages, food intakes were equally correlated with sources originating from the water column POM (Hsieh et al. 2000).

□ Seasonal changes in stable isotope signature of oyster tissues

A large mid-summer seasonal shift of ca +3.0 ‰ occurred in $\delta^{13}\text{C}$ of digestive gland and mantle of triploid oysters and in all diploid oyster tissues, except gonads. The time course of this seasonal shift differs between ploidy groups and also within groups, among their tissues. This may be due to 1) a major seasonal change in the availability and/or incorporation by oyster tissues of pelagic vs. benthic food resources, 2) a differential ingestion and/or assimilation of specific compounds relative to the bulk POM, or 3) indirect consequences of the spring to summer reproductive activity in *Crassostrea gigas* diploid individuals.

The first hypothesis is based on the recognition that in marine environments, the signature in ^{13}C of benthic microalgae is more enriched than that of phytoplankton (Fry & Sherr 1984, Peterson & Fry 1987). Since the $\delta^{13}\text{C}$ values of a consumer are closely related to that of its food (DeNiro & Epstein 1978), the assimilation of ^{13}C enriched food sources (i.e. resuspended benthic microalgae from intertidal mudflats) through summer and autumn could explain the enriched ^{13}C values recorded in oyster tissues for the two seasons (Fig. 41). The progressive incorporation of ^{13}C enriched food items by more ^{13}C depleted oyster tissues may be shortened over periods of high growth rates, as was the case in most of diploid and particularly triploid tissues during summer and autumn 2002 (Figs. 40 & 41). However, temporal changes in $\delta^{13}\text{C}$ values of oyster tissues did not closely match those of the POM pool in spring (Figs. 39 & 41), POM being more enriched in early May, and some but not all diploid and triploid oyster tissues by the end of June. This relatively short time lag (< 2 months) is nevertheless consistently linked to growth exhibited by somatic tissues i.e. muscle and mantle in both diploids and triploids, and digestive gland in triploids (Fig.

41). Specific-tissue differences in $\delta^{13}\text{C}$ time-series thus suggested the influence of metabolic functions other than growth during that period of intense reproductive activities. Longer time lags are also expected during non-growing seasons and values > 3 months can be deduced from the comparative analysis of POM and oyster-tissue $\delta^{13}\text{C}$ time-series in autumn and early winter, with respective decreases recorded in October 2002 and January 2003 (Figs. 39 & 41). Similar lags between POM and oyster-body $\delta^{13}\text{C}$ time-series were also reported by Riera & Richard (1997) for oysters from the upper reaches of the Charente estuary following a high flood period in winter 1992.

Similarly, summer-time changes in $\delta^{13}\text{C}$ of muscle in both diploid and triploid oysters (Figs. 41 & 44) substantiated the diet change hypothesis. As in most bivalve species, muscle tissues in *Crassostrea gigas* are mainly constituted by protein, ca 60 to 85 % of dry weight (Berthelin et al. 2000), and contained much lower proportions of lipids and glycogen than other tissues (Whyte et al. 1990, Berthelin et al. 2000). As reported in this study, muscle tissues logically exhibited small C:N ratios in both ploidy groups (within the range 3.0 to 3.7, Fig. 44). Consequently, most of their seasonal changes in $\delta^{13}\text{C}$ values should have paralleled those of dietary protein components. Since $\delta^{13}\text{C}$ in the muscle of diploids matched those of triploids (-18 to -19 ‰) at the onset of winter (December 2002-January 2003, Fig. 44), it could be concluded that they had been fuelled by similar ^{13}C -enriched dietary sources throughout the summer-autumn growing season. This conclusion is also in agreement with our results in tissue $\delta^{15}\text{N}$ time-series, suggesting similar trophic levels in both ploidy groups (Fig. 42). A systematic positive difference in muscle $\delta^{15}\text{N}$ was however found between triploids and diploids. This difference is approximately 10 times lower than the accepted average value of 3-4 ‰ in $\delta^{15}\text{N}$ representing the trophic discrimination at each trophic level (DeNiro & Epstein 1981, Vander Zanden & Rasmussen 2001), and is consequently too small to allow any differences in the trophic regime to be discerned between triploid and diploid oysters. Moreover, it is recognised that higher growth performances in triploid *C. gigas* (Beaumont & Fairbrother 1991) are consistently linked to genetic and physiological differences, such as heterozygosity and higher metabolic process efficiencies (Garnier-Géré et al. 2002 and

references therein). This may lead to subtle changes in morphology, anabolism and/or biochemical features of adductor muscle in triploid *C. gigas* but this hypothesis would require further experimental investigations in *C. gigas* because differences found between ploidy groups in other bivalve families *Pectinidae* and *Veneridae* (see e.g. Beaumont & Fairbrother 1991) may not be applicable to *Ostreidae*.

The second interpretation is linked to the ingestion and/or assimilation of specific fractions and components among the ambient POM pool because *Crassostrea gigas* is able to selectively ingest algae among food items (Cognie et al. 2003). Similarly, Bougrier et al. (1997) observed that *C. gigas* may preferentially filter and reject (as pseudofaeces) diatoms relative to flagellates depending on their shape and flexibility. As in most coastal systems within the Bay of Biscay (Gailhard et al. 2002), in Marennes-Oléron Bay too, flagellates dominate phytoplankton blooms only in the fall (Galois et al. 1996 and references therein), partly due to lower turbulence conditions (Gailhard et al. 2002). Flagellates are also known to be more depleted in ^{13}C than diatoms (Wong & Sackett 1978, Cifuentes et al. 1988) and Gearing et al. (1984) showed that microflagellates may be 2 ‰ more negative than the diatom *Skeletonema costatum*, which is also a common neritic phytoplankton species in spring and autumn in coastal areas of the Bay of Biscay (Gailhard et al. 2002). However, time-series in $\delta^{13}\text{C}$ oyster tissues (Fig. 41) did not exhibit any potential influences of ^{13}C -depleted phytoplankton species in the food regime of oysters in fall. As previously suggested by Bougrier et al (1997) and Riera & Richard (1997), this suggests that local and rather stochastic conditions in the relative proportions of phytoplankton vs. microphytobenthos species and ratios of inorganic vs. organic materials considerably influence the food regime of opportunistic suspension-feeders such as *C. gigas* in the Marennes-Oléron Bay.

The third interpretation is connected with the time course of gametogenesis in *Crassostrea gigas* and associated biochemical changes. Gonad development is an energy-demanding process that mobilises nutrients from assimilated food and utilises reserves previously stored in somatic tissues. Although the relative balance and time course of processes between these two pools of

energy to sustain gametogenic demands are family or species-specific, glycogen is regarded as the major source of energy in marine bivalves and used for lipid synthesis (Bayne 1976, see Gabbott 1983 for a review). Therefore, increases in lipid contents with gonad build-up and ripe gamete production in *C. gigas* could explain the ^{13}C depletion in oyster tissues involved in reproduction because lipids are much more ^{13}C -depleted than proteins and carbohydrates. This is ascribed to lipid synthesis discriminating against ^{13}C in favour of the lighter isotope ^{12}C (DeNiro & Epstein 1977). In Marennes-Oléron Bay, reproductive activities in *C. gigas* usually occur from May to mid-August with maximum lipid contents recorded just before the mid-summer mass spawning event (Deslous-Paoli & Héral 1988, Matus de la Parra et al. 2005). Our data agree with this pattern, which could not be generalised because timing and duration of gametogenesis are different in other *C. gigas* populations (e.g. Ruiz et al. 1992, Pazos et al. 1996, Kang et al. 2000, Li et al. 2000). As is usually found in animals, lipid classes differ in their metabolic roles, neutral lipids (triacylglycerols) being used as energy reserves and polar lipids (phospholipids) being structural components of cells and membranes. Pazos et al. (1996), Li et al. (2000), and Matus de la Parra (2005) have all indicated that fluctuations in lipid content in whole oyster bodies and/or separate organs are largely due to changes in triacylglycerols over the reproductive period, phospholipids as membrane components having similar but minor influence. For instance, in *C. gigas* females, the triglyceride content of the ovaries faithfully reflects the course of sexual maturation showing the highest levels when oocytes have grown sufficiently and are ready to be spawned (Li et al. 2000). Our stable isotope and proximate lipid analysis results are in accordance with these biochemical findings. Time-series in digestive gland $\delta^{13}\text{C}$ in diploids differed from those of triploids until early August (Figs. 41, 43 and 44) when mass spawning occurred in diploid oysters (Fig. 40). After that event, mid-summer to early winter changes in $\delta^{13}\text{C}$ of digestive gland and mantle tissues in diploids paralleled, and also paired those of triploids, suggesting that reproduction blurs $\delta^{13}\text{C}$ signals in spring and early summer. During that period, $\delta^{13}\text{C}$ values and $\delta^{13}\text{C}$ to C:N ratios of gonads were remarkably close to those of digestive gland in diploids, highlighting the major role of the digestive gland in controlling nutrient fluxes to gonads. Small variations in $\delta^{13}\text{C}$ time-series of gonads and

digestive glands also occurred but as reported in other *C. gigas* populations, they may be linked to differences between females and males or partial gamete releases prior to the occurrence of a mass spawning event. Significantly higher proximate lipid content has been reported in females over the reproductive periods (Deslous-Paoli & Héral 1988). This higher content is mainly linked to higher proportions of neutral lipids (triacylglycerols) in gonads (Li et al. 2000, Matus de la Parra et al. 2005) and digestive glands (Matus de la Parra et al. 2005) of female *C. gigas*. Partial gamete releases before mass spawning have not been clearly established in *C. gigas*. In contrast, a second autumnal peak in the reproductive cycle may occur, as reported in Spain (Pazos et al. 1996), or gametes may degenerate and be resorbed without release, as reported in Ireland (Steele & Mulcahy 1999). Similarly, the pattern of reproductive events may be greatly affected by unfavourable thermic and food conditions, as reported in the Marennes-Oléron Bay in 1981 (Deslous-Paoli & Héral 1988). This reinforces the view of a highly flexible potential in the reproductive cycle in *C. gigas* (Kang et al. 2000) and the importance of food availability to the production of ripe gametes (Ruiz et al. 1992). In this opportunistic species, the autumn-winter period constitutes a stage of sexual resting, and glycogen reserves stored over phytoplankton blooms from spring onwards are simultaneously used for both growth and lipid accumulation for gamete build-up (Deslous-Paoli & Héral 1988, Pazos et al. 1996, Kang et al. 2000, Matus de la Parra et al. 2005). Furthermore, both similarities between gonads and digestive gland $\delta^{13}\text{C}$ values and differences in $\delta^{13}\text{C}$ values amongst gonads and digestive gland on one hand, and mantle and muscle on the other hand, reflect the phenomenon of isotopic routing (Gannes et al. 1997), with differential allocation of dietary components to different tissues. The fact that the $\delta^{13}\text{C}$ values of digestive gland in diploids closely followed those of triploids after the mass spawning had occurred (Fig. 41) also strengthens this view, and may reflect the abrupt breakdown of lipid transfer from digestive gland to gonads for further summer-autumn gametogenic development.

Some gonad tissues may develop in triploids both in females and males (Beaumont & Fairbrother 1991), because in triploid oysters meiosis is disrupted at first prophase. Thus during periods favourable for gonad ripening in diploid oysters, gonadal tubules in triploids may contain pre-meiotic cells that, however, subsequently abort. This explanation is consistent with our

observations that all triploids used in our analyses were sterile but may explain some unexpected parallel fluctuations in $\delta^{13}\text{C}$ values of digestive gland and mantle tissues in both diploids and triploids over the beginning of the reproductive period prior to mass spawning (Fig. 41). This would also explain why growth rates of triploid somatic tissues were higher than those of diploids during the same period (Fig. 40).

□ Implication of somatic tissue reserves in gametogenetic cycle

Our results are consistent with the view that the digestive gland in *C. gigas* is an essential organ controlling nutrient fluxes not only for gametogenic development but also for other maintenance and growth functions (Berthelin et al. 2000, Matus de la Parra et al. 2005). Our results strongly suggest that in triploids the digestive gland contributes markedly to energy storage and transfer to other organs, lipids being used for gonad development in diploid oysters but lost in gamete releases by diploids when unconverted glycogen was used for enhanced somatic growth in triploids (Beaumont & Fairbrother 1991). Gametogenesis in molluscs has been reported to be sustained by mobilisation of reserves from tissues other than the digestive gland (Gabbott 1983). For example, in *Pecten maximus* the most important storage tissue is the adductor muscle with the digestive gland involved secondarily depending on the season (e.g. Lorrain et al. 2002). However, Berthelin et al. (2000) concluded that muscle in *Crassostrea gigas* did not represent a storage compartment supplying the energy cost of reproduction. Its dry weight represents less than 15-20 % of total oyster dry weight and its biochemical composition is largely dominated by proteins with glycogen and lipids remaining always at low level (Berthelin et al. 2000). Most recently, Matus de la Parra et al. (2005) performed proximate biochemical and lipid class analyses on labial palps, gonads and digestive gland in *Crassostrea gigas* of Marennes-Oléron Bay. They concluded that labial palps are an organ of glycogen and triacylglycerol reserves, which are transferred to the gonads during the last stage of ripening. However, the weight to weight proportion of labial palps vs. soft parts revealed that labial palps represent less than 6% of the whole oyster soft body (Matus de la Parra et al. 2005). In mytilids, such as *Mytilus edulis*, the mantle tissue is the principal organ of glycogen reserve and the site of gonad development (Gabbott 1983 and references therein).

However, from both the analyses of Berthelin et al. (2000) and our data set, it appears clearly that mantle tissues comprise reserves to fuel the reproductive cycle in *C. gigas*. Similar correlations found in this study between $\delta^{13}\text{C}$ and C:N ratios in gonads, digestive gland and mantle in diploid oysters during their reproductive period support this hypothesis but large scatter appeared in $\delta^{13}\text{C}$ mantle values (Fig. 44). A more definitive answer to this hypothesis must await further biochemical comparisons between diploid and triploid oyster tissues.

Acknowledgements: We would like to thank Stephanie Bourgeois and J.L. Seugnet for assistance with sample processing and field sampling. We are also indebted to the technical staff of LERPC at La Tremblade, and particularly to F. Blouin[†], who died tragically during the course of the study. We also thank R. Galois, Ph. Gouilletquer, P. Richard and P. Riera for discussions and I. Jenkinson for helpful comments, which helped to improve the manuscript. This project was funded by the Région Poitou-Charentes, Ifremer MOREST programme and CNRS. N.M. was supported by a grant from Conseil Général de la Charente-Maritime.

Chapitre 5.

Echelles de variabilité du signal isotopique chez l'huître creuse

***Crassostrea gigas* des Pertuis Charentais**

Chapitre 5. Echelles de variabilité du signal isotopique chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* des Pertuis Charentais

1. Introduction

Deux questions fondamentales sous-tendent notre compréhension du fonctionnement de l'écologie des écosystèmes 1) quelles sont la ou les sources de matière organique qui fournissent l'énergie aux organismes hétérotrophes et 2) comment s'effectuent les transferts de cette matière organique dans les réseaux trophiques ?

Ces deux questions représentent un défi pour les biologistes étudiant les écosystèmes estuariens, milieux d'interface par définition complexes, car il n'existe pas de méthode directe pour mesurer la contribution relative de chaque source de nourriture potentielle au régime alimentaire des consommateurs primaires. La méthode indirecte utilisant l'analyse des isotopes stables (AIS) a cependant permis d'élucider en partie les questions de l'origine des sources et des voies de transfert. Cette méthode est basée sur les principes suivants : 1) la composition isotopique du consommateur reflète la composition isotopique de ses sources de nourriture avec toutefois une discrimination isotopique entre le consommateur et sa nourriture (DeNiro & Epstein 1978, 1981, Vander Zanden & Rasmussen 2001, Post 2002, McCutchan et al. 2003) et 2) la contribution relative des différentes sources organiques peut être estimée grâce à la caractérisation isotopique des producteurs primaires. L'AIS est par conséquent devenue une technique efficace pour identifier les liens trophiques au sein des écosystèmes (McConnaughey & McRoy 1979, Fry et al. 1983, Fry et al. 1984, Peterson et al. 1985, Dauby 1989, Wainright & Fry 1994, Maksymowska et al. 2000, Bouillon et al. 2002, Kaldy et al. 2005). L'interprétation des résultats de l'AIS reste cependant ambiguë pour les systèmes estuariens où convergent de multiples sources de matière organique provenant de l'imbrication complexe des systèmes : rivière – estuaire - vasière (- marais) - baie - mer ouverte (Canuel et al. 1995, Middelburg & Nieuwenhuize 1998, Fry 1999, De Brabandere et al. 2002, Hsieh et al. 2002, Melville & Connolly 2003, Bouillon et al. 2004). De nombreuses études

se sont donc concentrées sur un système simplifié, tel le gradient de salinité (des systèmes dulçaquicoles aux systèmes marins ouverts) et permettent de conclure qu'il existe un enrichissement progressif en ^{13}C du seston et des consommateurs dans le sens de ce gradient (Fontugne & Jouanneau 1987, Cai et al. 1988, Riera 1998, Maksymowska et al. 2000, Goñi et al. 2003, Page & Lastra 2003, Doi et al. 2005, Wilson et al. 2005). Ce type d'étude, le long de gradients estuariens, a aussi été appliqué en considérant l'estuaire de la Charente (Riera & Richard 1997, Riera 1998). Cependant, comment réaliser le changement d'échelle entre le gradient estuarien et l'ensemble du système littoral qui inclut non seulement le bassin estuarien mais aussi les zones intertidales éloignées de l'influence directe de l'estuaire ? Dans les systèmes marins, il est admis que la production secondaire du large est adjacente aux eaux côtières, à forte productivité primaire ce qui conduit à l'hypothèse de transfert de carbone vers le large (Odum 1968). Pour certains estuaires de type mangrove, il a été constaté que de tels transferts de carbone étaient négligeables. Par exemple, les transferts de carbone des mangroves à l'estuaire de la rivière Embley (Australie) et aux organismes sont négligeables (Loneragan et al. 1997) ou décroissent très rapidement en direction du large (Malaisie) (Loneragan et al. 1997). De plus, des résultats plus récents suggèrent que les transferts de carbone dans les estuaires apparaissent à de plus fines échelles spatiales que celles antérieurement prises en compte (Guest & Connolly 2004, Guest et al. 2004). Par exemple, Hiesh et al. (2000) grâce à l' AIS des crabes ocypodes sur différents sites séparés d'une centaine de mètres ont montré que les crabes incorporent le carbone de leur habitat proche. Guest et al. (2004) proposent les mêmes conclusions pour une étude menée dans les marais et les mangroves de la baie de Moreton en Australie grâce à l' AIS de crabes et de mollusques.

Sur le carbone comme sur l'azote, les mollusques bivalves semblent de bons intégrateurs de la variabilité saisonnière (Lorrain et al. 2002) et spatiale (Fry 1999) de leur nourriture. Ainsi Fry (1999) utilise la corbule comme un organisme intégrateur de son environnement nutritionnel qu'il nomme "trophometer". Les "tropho-indicateurs" sont des indicateurs de l'environnement trophique et de sa variabilité temporelle. De plus, les mollusques bivalves suspensivores ont accès au pool de matière organique pélagique mais également au pool de matière organique benthique remis en suspension, et leur régime alimentaire omnivore peut se composer de phytoplancton,

microzooplancton, détritus et de bactéries associées (Crosby et al. 1989, Crosby et al. 1990, Langdon & Newell 1990, Le Gall et al. 1997). Par conséquent, ils peuvent potentiellement assimiler toutes les sources de nourriture disponibles.

Le but de notre étude est donc de comprendre sur quelles sources de matière organique se nourrissent les consommateurs primaires des Pertuis Charentais et plus particulièrement du bassin de Marennes-Oléron. La baie de Marennes-Oléron couvre une surface de 180 Km² dont 110 Km² de vasière intertidale. Elle est caractérisée par une turbidité élevée (Héral et al. 1984) qui limite la production primaire phytoplanctonique (Raillard & Ménesguen 1994, Zurburg et al. 1994). Cette production primaire est principalement soutenue par les apports en nutriment du fleuve Charente (Ravail et al. 1988) situé à l'est de la baie. Cependant, une part considérable de la chlorophylle *a* présente dans la colonne d'eau est attribuée à la remise en suspension du microphytobenthos, principalement des diatomées benthiques, produit à la surface des vasières intertidales (Prou et al. 1994, Zurburg et al. 1994, Guarini et al. 1998). Ce bassin est l'une des plus importantes régions ostréicoles d'Europe (Gouletquer & Le Moine 2002). Les huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, sont cultivées traditionnellement sur table en poche ou à plat sur le sédiment sur les parties moyennes et basses de la zone intertidale. Cependant, existent de nombreux gisements naturels d'huîtres creuses disséminés sur les substrats rocheux de la côte (par exemple à Fouras, Chatellaillon, île de Ré, île d'Oléron) ainsi que sur tous les supports ostréicoles et anciens parcs abandonnés.

Nous proposons dans cette étude de tester l'hypothèse de l'existence de sous-systèmes trophiques dans un bassin estuarien, et de vérifier si une discrimination peut être faite selon plusieurs échelles géographiques. L'huître *Crassostrea gigas* est choisie comme organisme « intégrateur » de l'environnement trophique ou “ tropho-indicateur ” car 1) cet organisme sessile présente une large distribution sur l'ensemble des Pertuis et du bassin de Marennes-Oléron, 2) le turnover lent du tissu musculaire enregistre, surtout pendant ses périodes de croissance printanière et estivale, la moyenne des compositions isotopiques des sources de nourriture incorporées, 3) il a un mode alimentaire suspensivore qui lui permet d'avoir accès aux sources de nourriture benthique remises en suspension comme aux sources pélagiques et 4) son régime alimentaire oscille entre la

phytophagie et l'omnivorie. L'AIS sur l'azote et le carbone du muscle d'huîtres, prélevées en juillet et août, prend en compte trois échelles spatiales : 1) une échelle « large » des Pertuis Charentais et plus particulièrement du bassin de Marennes-Oléron (plusieurs dizaines de kilomètres), 2) une échelle « intermédiaire » de la vasière intertidale (d'une centaine de mètres au kilomètre) et enfin 3) une échelle « fine » verticale sur un site ostréicole, entre une culture à plat et sur table.

2. Matériels et méthodes

2.1. Echantillonnage des huîtres des Pertuis Charentais

L'échantillonnage a été réalisé lors de la campagne de 2001 d'évaluation des stocks d'huîtres (juillet et août 2001) par le LERPC (IFREMER Ronce-les-Bains). Cet échantillonnage consistait en un prélèvement d'une dizaine d'huîtres d'élevage sur poche 1 an / 2 ans sur chacune des stations du plan d'échantillonnage des stocks ostréicoles des Pertuis Charentais. Il prenait également en compte les deux modes de culture traditionnelle utilisés, à plat sur le sédiment ou en poche sur table en fer de 70 cm de haut (Fig. 45). A chaque site de prélèvement, référencé selon des coordonnées géographiques en Lambert II étendu, a été attribué un code comprenant, la strate échantillonnée, un numéro d'identification des lots d'huître, et le type de culture ostréicole. 164 sites de culture sur table et 58 sites de culture à plat ont été échantillonnés. Pour notre étude, utilisant l'analyse des isotopes stables, 40 sites de culture sur table et 9 sites de culture à plat ont été retenus selon un critère géographique sur l'ensemble des Pertuis et selon leur position sur l'estran. Des 40 sites de cultures sur table, 10 ont été choisis afin qu'ils définissent un transect selon un gradient hypsométrique (hauteur d'eau en haut d'estran = $2,5 \pm 0,2$ m ; hauteur d'eau en bas estran = $1,4 \pm 0,4$ m) sur la vasière est de l'île d'Oléron.

2.2. Suivi temporel des huîtres cultivées sur estran (sur table et à plat)

Selon la pratique traditionnelle, des huîtres stockées en claire un mois et demi en hiver, ont été replacées en mars 2002 sur le banc ostréicole de Perquis (sud du bassin de Marennes-Oléron).

Les huîtres replacées sur estran, en poche de 100, ont été soit disposées à 15 cm du substrat afin de mimer les cultures traditionnelles à plat, soit disposées à 70 cm du substrat. L'échantillonnage a été réalisé mensuellement jusqu'en avril 2003.

2.3. Echantillonnage des sources de matière organique

Le microphytobenthos a été prélevé par raclage des 5 premiers millimètres du sédiment à marée basse sur l'estran de Ronce-les-Bains. Les microalgues pures ont été extraites du sédiment grâce à leur migration ascendante à marée basse selon la méthode de Paterson & Crawford (1986). Le sédiment a été étalé régulièrement dans un plateau sur 1 cm d'épaisseur puis recouvert de trois filets en nylon de vide de maille de 100 μm . Le plateau a été placé à température ambiante et exposé à la lumière naturelle. Le lendemain, les diatomées épipéliques ont migré (lors de la marée basse). Le filet supérieur, sur lequel se trouvent les diatomées épipéliques, a été rincé à l'eau de mer filtrée sur filtre Whatman GF/C afin de collecter les microalgues.

Tableau 16. Stations de prélèvements hydrobiologiques échantillonnées. Les stations en gris ont été sélectionnées selon un critère géographique permettant de définir les environnements nutritionnels de l'île de Ré, de l'estuaire de la Charente et du bassin de Marennes-Oléron.

Suivi hydrobiologique	Stations échantillonnées	Date de prélèvement	
		Début	Fin
RAZLEC	Les Fontenelles (Charente)	mars 2002	décembre 2003
	Boyard	mars 2002	décembre 2003
	Le Chapus	mars 2002	décembre 2003
	Mus de Loup (Seudre)	mars 2002	décembre 2003
	Auger	mars 2002	décembre 2003
REPHY	Eperon	mai 2002	janvier 2004
	Filière	mai 2002	janvier 2004
	La Carrelère	mai 2002	janvier 2004
	Le Cornard	mai 2002	janvier 2004
	Ile d'Aix	mai 2002	janvier 2004
Stations supplémentaires	Ronce-les-Bains	mars 2002	décembre 2003
	Baie de l'Embellie	mars 2002	décembre 2003

La matière organique particulaire en suspension a été prélevée en surface en différentes stations des Pertuis Charentais (Tableau 16). Ces stations correspondent à celles échantillonnées

lors des suivis hydrobiologiques RAZLEC (http://www.ifremer.fr/lcpc/resultats_2001/razlec.htm) en baie de Marennes-Oléron, le réseaux de surveillance du phytoplancton et des phytotoxines REPHY (<http://www.ifremer.fr/lerpc/reseaux>) dans le Pertuis Breton et d'Antioche et sur deux sites supplémentaires dans le sud de la baie de Marennes-Oléron. Les échantillons d'eau ont été filtrés sur filtre Whatman GF/C, maintenus au congélateur à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à leur analyse isotopique.

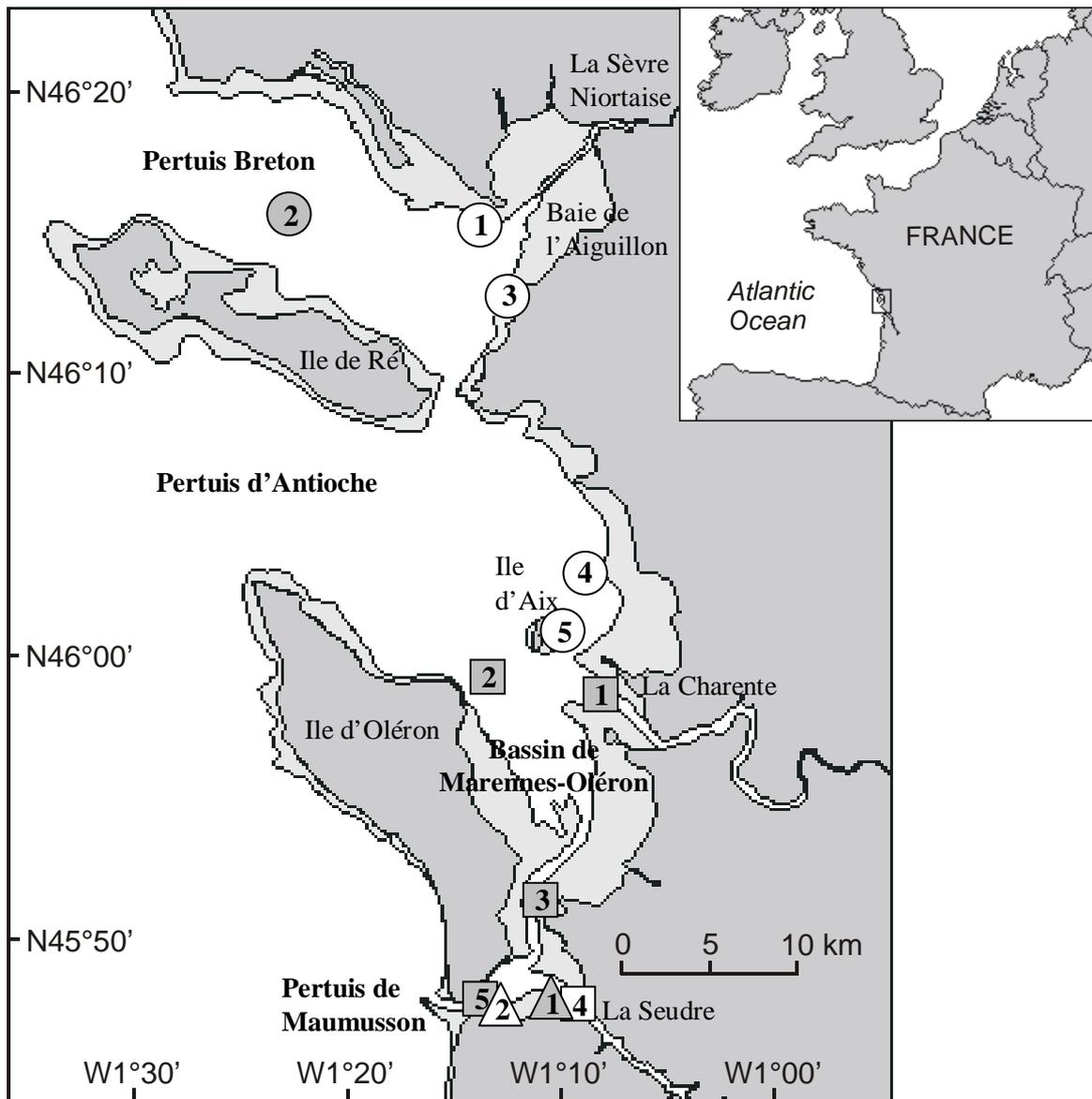


Figure 45. Situation géographique des Pertuis Charentais. Stations de prélèvement hydrobiologiques : RAZLEC (carrés) : 1- Les Fontenelles (Charente), 2- Boyard, 3- Le Chapus, 4- Mus de Loup (Seudre), 5- Auger ; REPHY (ronds) : 1- Eperon, 2- Filières, 3- La Carrelère, 4- Le Cornard, 5- Ile d'Aix ; Point supplémentaires (triangles) : 1- Ronce-les-Bains, 2- Baie de l'Embellie.

2.4. Biométrie

La longueur totale des huîtres a été mesurée au millimètre près et les tissus lyophilisés ont été pesés au 10^{-5} g.

2.5. Analyses isotopiques

Chaque huître a été disséquée puis les tissus lavés à l'HCl 10 % et rincés brièvement deux fois à l'eau déminéralisée puis congelés. Le muscle a été découpé au scalpel, et la glande digestive broyée puis les tissus ont été placés à l'intérieur de capsule d'étain pour analyse. L'analyse isotopique est réalisée sur le muscle et la glande digestive car ces tissus ont l'intérêt d'incorporer le signal isotopique avec des cinétiques différentes (chapitres 2 et 3). Le renouvellement isotopique lent du muscle permet à ce tissu d'intégrer sur le long terme les variabilités isotopiques de l'environnement et par conséquent de rendre compte, comme par exemple chez les poissons corégone (Perga & Gerdeaux 2005), d'un signal isotopique moyen sur environ une année. Au contraire, la glande digestive a un renouvellement isotopique rapide qui intègre la variabilité temporelle de la nourriture sur une période de quelques semaines (Tieszen et al. 1983, Hesslein et al. 1993) (chapitres 2 et 3).

Les filtres chargés de matière particulaire ont été acidifiés avec des vapeurs d'acide HCl 2N afin d'ôter les carbonates puis conservés congelés jusqu'à analyse. La matière particulaire a été récupérée en grattant la surface du filtre et placée dans des capsules d'étain.

Les ratios isotopiques du carbone et de l'azote des tissus de trois huîtres et de la matière particulaire ont été mesurés par spectrométrie de masse de rapport isotopique à flux continu (CF-IRMS) un utilisant un spectromètre de masse IsoPrime (Micromass, Manchester, U.K.) relié à un analyseur élémentaire EuroEA3024 (Eurovector, Milan, Italie). La précision de 10 analyses consécutives est inférieure à 0,15 ‰ pour les ratios isotopiques du carbone et de l'azote. Les données sont exprimées en δ ‰ par rapport aux standards conventionnels, le rostre de bélemnites fossile pour le carbone et l'azote atmosphérique N_2 pour l'azote selon la notation :

$\delta^A X = ((R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}}) - 1) * 10^3 (\text{‰})$, avec A la masse atomique de l'isotope lourd de l'élément X et R = $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ pour le carbone et $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ pour l'azote.

2.6. Analyses statistiques

Une classification ascendante hiérarchique (CAH) a permis de définir une typologie géographique de la moyenne de la composition isotopique du carbone et de l'azote du muscle des huîtres des Pertuis Charentais (n = 35) selon la méthode de la variance minimum de Ward (Davenport & Bax 2002, Le Loc'h & Hily 2005).

Avant toute analyse de variance, l'homoscédasticité des variances a été vérifiée par le test de Bartlett ou celui de Levene dans le cas d'une série de données continues telle qu'une série temporelle. A la suite de la CAH, des analyses de variance à un facteur (zones géographiques) ont été réalisées sur la composition isotopique en carbone et azote du muscle des huîtres, sur le poids sec du muscle, le poids sec total des huîtres, la longueur totale ainsi que sur les ratios C/N. Les données isotopiques sur le carbone correspondant aux transects ont été analysées par transect dans un premier temps grâce au test de comparaison de moyenne de Student puis par une analyse de variance à deux facteurs croisés (hypsométrie et transect). Une analyse de covariance selon la longueur à deux facteurs croisés (hypsométrie et transect) a été réalisée sur la composition isotopique de l'azote après détection d'une relation significative avec ce paramètre. Selon le cas, les tests sont bilatéraux ou unilatéraux avec un seuil à 0,05.

La discrimination isotopique à la fois sur le carbone et l'azote des huîtres cultivées à plat et sur table a été montrée grâce au test des K-means. Enfin, la série temporelle de la composition isotopique des huîtres cultivées sur table et à plat a été analysée par une analyse de variance à deux facteurs croisés (date de prélèvement et type de culture) pour le muscle et la glande digestive, à laquelle a été ajoutée la covariable longueur pour la composition isotopique de l'azote. L'ensemble des analyses statistiques a été effectué grâce aux logiciels Minitab 10.2[®] et Xlstat[®] et la présentation des cartes des stations de prélèvement sur le Système d'Information Géographique (SIG) Arcview[®] 3.2.

3. Résultats

3.1. Composition de la matière organique particulaire et des producteurs primaires des Pertuis Charentais

La composition de la matière organique et des producteurs primaires des Pertuis Charentais est résumée par la figure 46. Seules les sources de matière organique potentiellement assimilable par l'huître *Crassostrea gigas* en chacun des sites d'échantillonnage ont été prises en compte (données de cette étude et de la littérature tableau 17).

La composition isotopique de la MOP d'origine continentale s'échelonne entre -32,0 et -28,5 ‰ sur le carbone et entre 6,0 et 7,2 ‰ sur l'azote. La MOP néritique rassemble l'ensemble de la MOP prélevée dans les Pertuis Breton (Filière), d'Antioche (Boyard) et de Maumusson (Auger) ainsi que du bassin de Marennes-Oléron (Chapus, Ronce-les-Bains). La composition isotopique de cette matière particulaire est comprise entre -24,7 et -19,9 ‰ sur le carbone et 5,5 et 7,3 ‰ sur l'azote pour les années 1998 à 2002 et -19,8 et -17,0 ‰ sur le carbone et 4,5 et 6,5 sur l'azote en 2003.

La composition isotopique des diatomées benthiques varie peu sur le carbone entre -16,1 et -14,3 ‰ quelle que soit la station de prélèvement. Par contre, il est à noter un enrichissement en ^{15}N du microphytobenthos des zones intertidales échantillonnées depuis la station intertidale de Ronce-les-Bains la plus au sud avec 4,3 ‰, la station intermédiaire Les palles de l'embouchure de la Charente avec 5,5 ‰, jusqu'à la station la plus au nord sur la vasière de la baie de l'Aiguillon avec 7,0 ‰.

Les producteurs primaires tels que les phanérogames marines et les macroalgues sont facilement distinguables, à la fois sur le carbone et sur l'azote, des autres sources de MOP et des diatomées benthiques. Les spartines et les zostères sont enrichies en ^{15}N avec des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ de 8,6 ‰ et enrichies en ^{13}C avec des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ comprises entre -13,1 et -10,7 ‰. La composition isotopique des macroalgues est toujours plus enrichie en ^{15}N que les phanérogames

marine avec des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ comprises entre 9,2 et 10,6 ‰ et toujours plus appauvries en ^{13}C avec des valeur de $\delta^{13}\text{C}$ de l'ordre de -16,2 ‰.

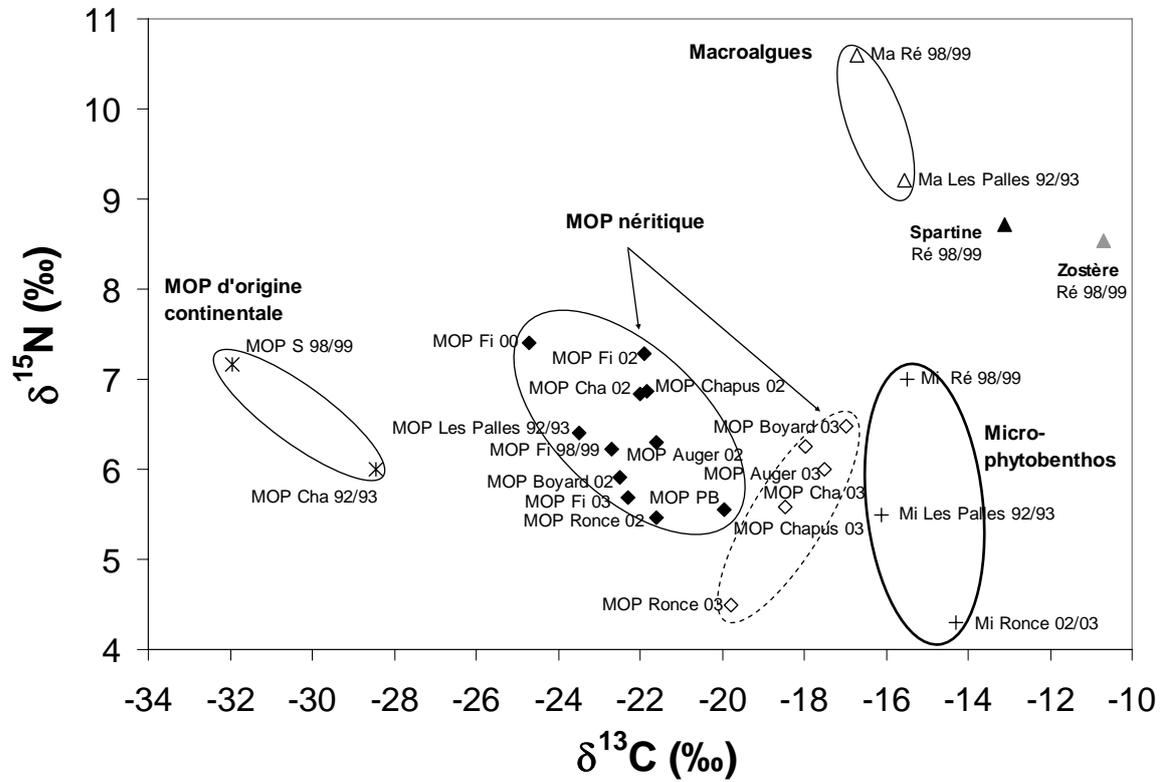


Figure 46. Composition isotopique en carbone et azote des sources de matière organique des Pertuis Charentais. MOP : matière organique particulaire, Ma : macroalgue, Mi : microphytobenthos. (Voir le détail en Tableau 2).

Tableau 17. Composition isotopique des sources de matière organique (moyenne \pm écart-type).

Sources	Stations	Année	Intitulé	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Références
Apports continentaux (Rivières)	Sèvre Niortaise	1998 et 1999	MOP S 98/99	$-32,0 \pm 2,3$	$7,2 \pm 3,3$	(Richard 2000, Richard et al. 2001)
	Charentes (St Savinien)	1992 et 1993	MOP Cha 92/93	$-28,5 \pm 1,6$	$6,0 \pm -$	(Richard et al. 1997, Riera 1998)
	Filière (Baie de l'Aiguillon)	1998 et 1999	MOP Fi 98/99	$-22,7 \pm 2,2$	$6,2 \pm 0,5$	(Richard 2000, Richard et al. 2001)
		2000	MOP Fi 00	$-24,7 \pm 0,8$	$7,4 \pm 1,8$	(Malet 2001)
		2002	MOP Fi 02	$-21,9 \pm 0,9$	$7,3 \pm 1,5$	Cette étude
2003	MOP Fi 03	$-22,3 \pm 1,1$	$5,7 \pm 1,5$	Cette étude		
Matière organique particulaire	large île de Ré (Pertuis Breton)	1988 et 1999	MOP PB	$-19,9 \pm 0,8$	$5,6 \pm 0,5$	(Richard 2000, Richard et al. 2001)
	Fontenelles (Razlec)	2002	MOP Cha 02	$-22,0 \pm 1,3$	$6,8 \pm 1,0$	Cette étude
		2003	MOP Cha 03	$-18,0 \pm 4,2$	$6,3 \pm 1,6$	Cette étude
	Charente (Les Palles)	1992 et 1993	MOP Les Palles 92/93	$-23,5 \pm 1,5$	$6,4 \pm -$	(Richard et al. 1997, Riera 1998)
	Boyard (Razlec)	2002	MOP Boyard 02	$-22,5 \pm 1,0$	$5,9 \pm 0,9$	Cette étude
		2003	MOP Boyard 03	$-17,0 \pm 5,0$	$6,5 \pm 1,1$	Cette étude
	Chapus (Razlec)	2002	MOP Chapus 02	$-21,9 \pm 0,7$	$6,9 \pm 0,9$	Cette étude
		2003	MOP Chapus 03	$-18,5 \pm 4,3$	$5,6 \pm 1,3$	Cette étude
	Auger (Razlec)	2002	MOP Auger 02	$-21,6 \pm 2,4$	$6,3 \pm 0,6$	
		2003	MOP Auger 03	$-17,5 \pm 4,5$	$6,0 \pm 0,9$	
Estran de Ronce-les-Bains	2002	MOP Ronce 02	$-21,6 \pm 1,1$	$5,5 \pm 1,1$	Cette étude	
	2003	MOP Ronce 03	$-19,8 \pm 3,4$	$4,5 \pm 1,0$	Cette étude	
Micro-phytobenthos	Ré	1998 et 1999	Mi Ré 98/99	$-15,5 \pm 0,3$	$7,0 \pm 0,2$	(Richard 2000, Richard et al. 2001)
	Les Palles	1992 et 1993	Mi Les Palles 92/93	$-16,1 \pm 0,7$	$5,5 \pm -$	(Richard et al. 1997, Riera 1998)
	Ronce	2002 et 2003	Mi Ronce 02/03	$-14,3 \pm 1,1$	$4,3 \pm 0,8$	Cette étude
Phanérogames marines	Ré	1998 et 1999	Spartine Ré 98/99	$-13,1 \pm 1,1$	$8,7 \pm 0,7$	(Richard 2000, Richard et al. 2001)
	Ré	1999 et 1999	Zostère Ré 98/99	$-10,7 \pm 1,9$	$8,5 \pm 1,3$	(Richard 2000, Richard et al. 2001)
Macroalgues	Ré	1999 et 1999	Ma Ré 98/99	$-16,7 \pm 0,7$	$10,6 \pm 0,5$	(Richard 2000, Richard et al. 2001)
	Les Palles	1992 et 1993	Ma Les Palles 92/93	$-15,6 \pm 3,5$	$9,2 \pm 1,2$	(Richard et al. 1997, Riera 1998)

3.2. Typologie à l'échelle des Pertuis Charentais selon la composition isotopique du muscle des huîtres

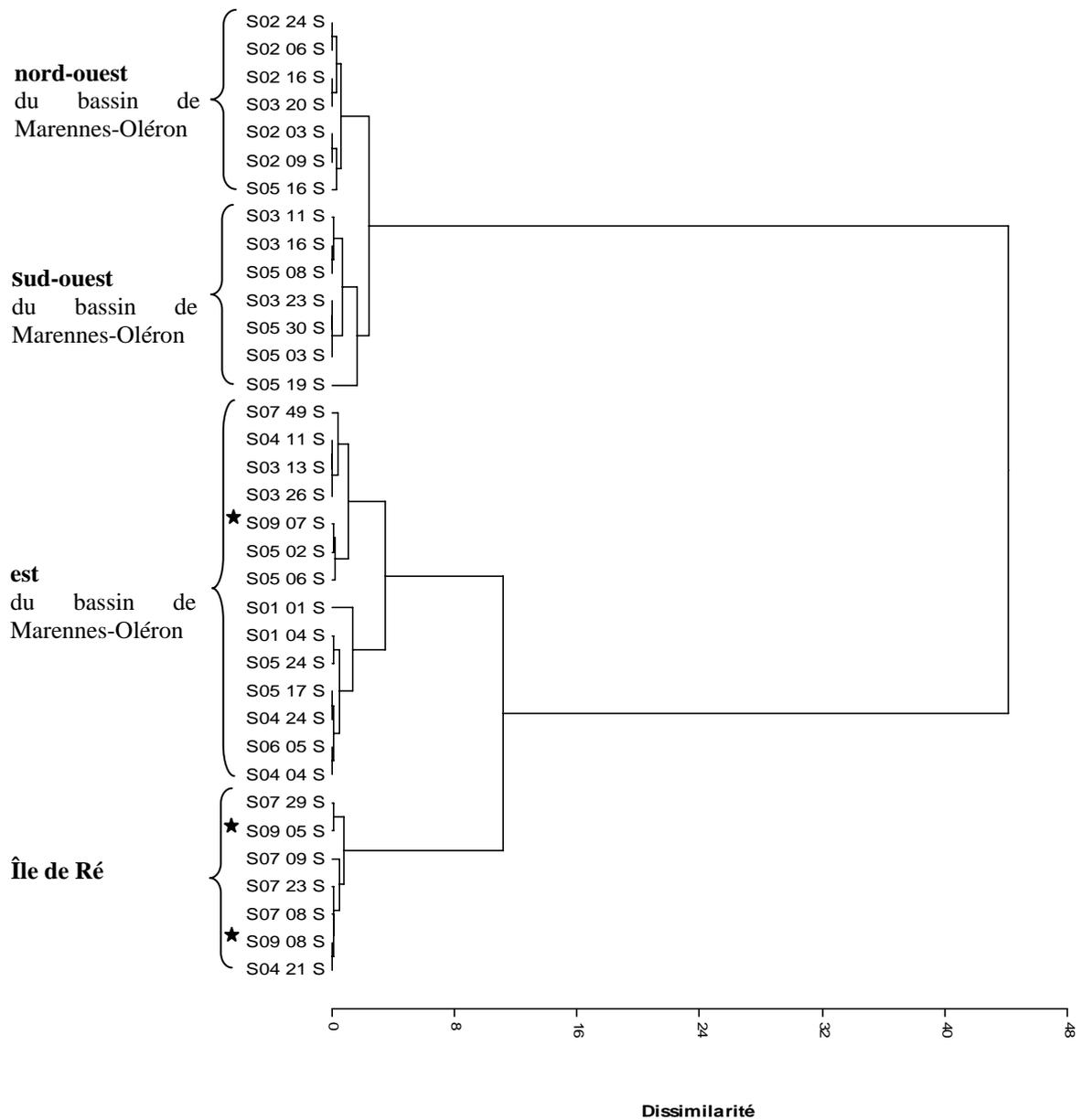


Figure 47. Typologie par zones de culture ostréicole à l'échelle des Pertuis Charentais selon une classification ascendante hiérarchique (méthode de la variance minimum de Ward) des isotopes stables du carbone et de l'azote des muscles d'huîtres ($n = 35$). Les stations Fourras sont indiquées par une étoile.

La classification ascendante hiérarchique permet d'identifier 4 grands groupements selon la composition isotopique du muscle des huîtres (Fig. 47). Le choix des nœuds est arbitraire mais chaque nœud choisi doit discriminer clairement une zone géographique de culture ostréicole. La typologie à l'échelle des Pertuis décrit donc 4 zones de culture ostréicole : île de Ré et Marennes-Oléron divisé entre l'est, le nord-ouest et le sud-ouest du bassin (Fig. 48). La zone de l'est apparaît hétérogène avec un mélange des stations dans deux sous-groupes (Fig. 48). Les stations du site de Fouras, SO9 07 S, S09 08 S et S09 05 S sont dispersées dans deux zones géographiques (Fig. 47) mais représentent, de part leur fonctionnement écologique clairement identifié (Riera & Richard 1996) , une 5^{ème} zone de culture ostréicole, à l'entrée de l'estuaire de la Charente (Fig. 48).

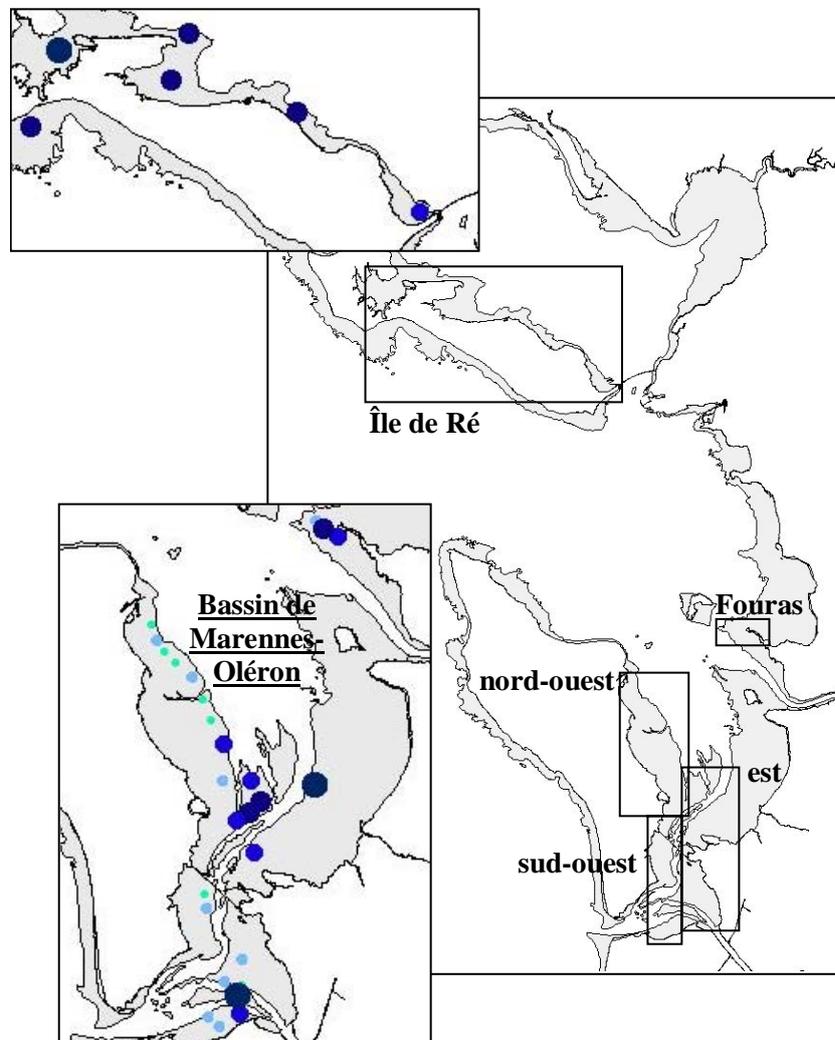


Figure 48. Localisation des zones de culture à l'échelle des Pertuis Charentais définies grâce à une classification ascendante hiérarchique sur les $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ du muscle de *Crassostrea gigas*. La graduation du plus petit au plus grand cercle et la couleur verte à bleue foncée indique des $\delta^{13}\text{C}$ échelonnés de -20,2 à -16,9 ‰ (Représentation par SIG Arcview 3.2).

Des analyses de variance à un facteur (zone ostréicole) ont permis de vérifier qu'il n'existait pas de différence significative sur les poids sec du muscle, les poids sec totaux, la longueur totale des huîtres ainsi que les ratios C/N validant *a posteriori* que les différences entre zones de culture sont uniquement dues à des différences de composition isotopique du muscle. En effet, entre zones de culture, la composition isotopique du muscle sur le carbone et sur l'azote est significativement différente ($F_{4/92} = 28,02$, $P < 0,001$ pour le carbone et $F_{4/92} = 31,50$, $P < 0,001$ pour l'azote) (Fig. 49). La composition isotopique du muscle pour chaque zone de culture ostréicole est :

Ile de Ré : $\delta^{13}\text{C} = -17,5 \pm 0,4 \text{ ‰}$; $\delta^{15}\text{N} = 9,6 \pm 0,5 \text{ ‰}$ (n = 18)

Fouras : $\delta^{13}\text{C} = -18,3 \pm 0,6 \text{ ‰}$; $\delta^{15}\text{N} = 9,6 \pm 0,5 \text{ ‰}$ (n = 9)

est du bassin de Marennes-Oléron : $\delta^{13}\text{C} = -18,0 \pm 0,7 \text{ ‰}$; $\delta^{15}\text{N} = 9,2 \pm 0,4 \text{ ‰}$ (n = 30)

nord-ouest du bassin de Marennes-Oléron : $\delta^{13}\text{C} = -18,9 \pm 0,5 \text{ ‰}$; $\delta^{15}\text{N} = 8,5 \pm 0,5 \text{ ‰}$ (n = 23)

sud-ouest du bassin de Marennes-Oléron : $\delta^{13}\text{C} = -18,9 \pm 0,6 \text{ ‰}$; $\delta^{15}\text{N} = 8,7 \pm 0,4 \text{ ‰}$ (n = 17)

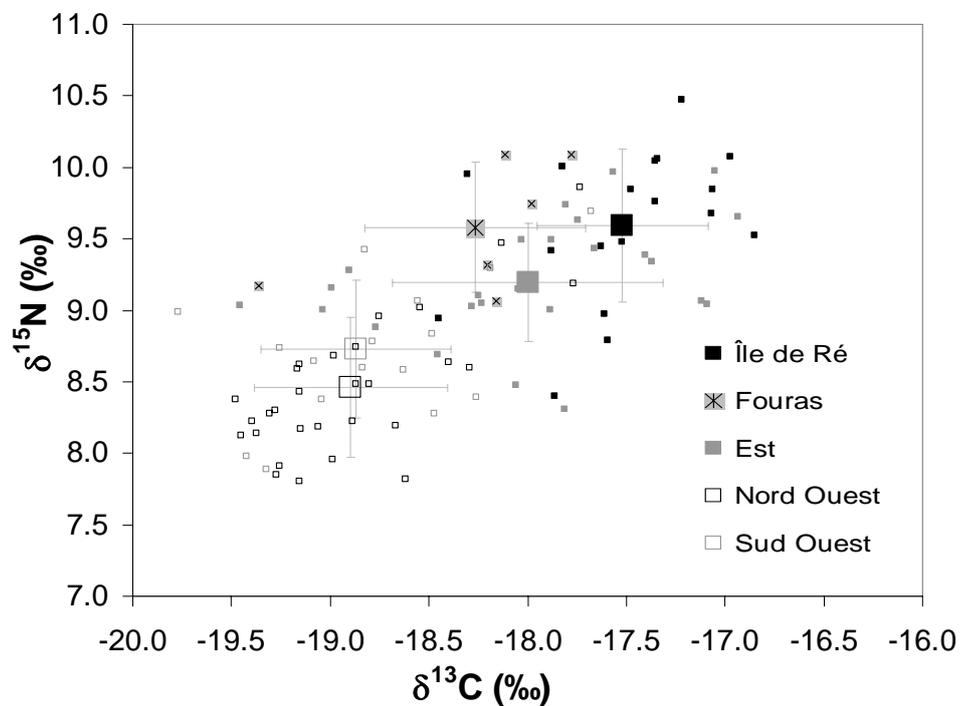


Figure 49. Représentation duale de la composition isotopique du carbone et de l'azote du muscle des huîtres par zone de culture ostréicole.

Selon une représentation en fréquence de valeurs de la composition isotopique du muscle (Fig. 50) il est possible de mieux distinguer les zones de culture ostréicole. L'île de Ré présente un mode pour les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ à $-17,5$ ‰, l'est du bassin à -18 ‰, le nord-ouest et le sud-ouest entre -19 et $-19,5$ ‰. Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ de la zone ostréicole Fouras sont entre $-17,5$ et $-18,5$ ‰. Pour la composition isotopique en azote, la zone ostréicole sud-ouest présentent les valeurs les plus appauvries en ^{15}N avec un mode des $\delta^{15}\text{N}$ à $8,5$ ‰, puis les compositions isotopiques s'enrichissent légèrement en ^{15}N pour les zones ostréicoles du sud-ouest avec 9 ‰, de l'est du bassin avec $9,5$ ‰, et Fouras et l'île de Ré avec 10 ‰.

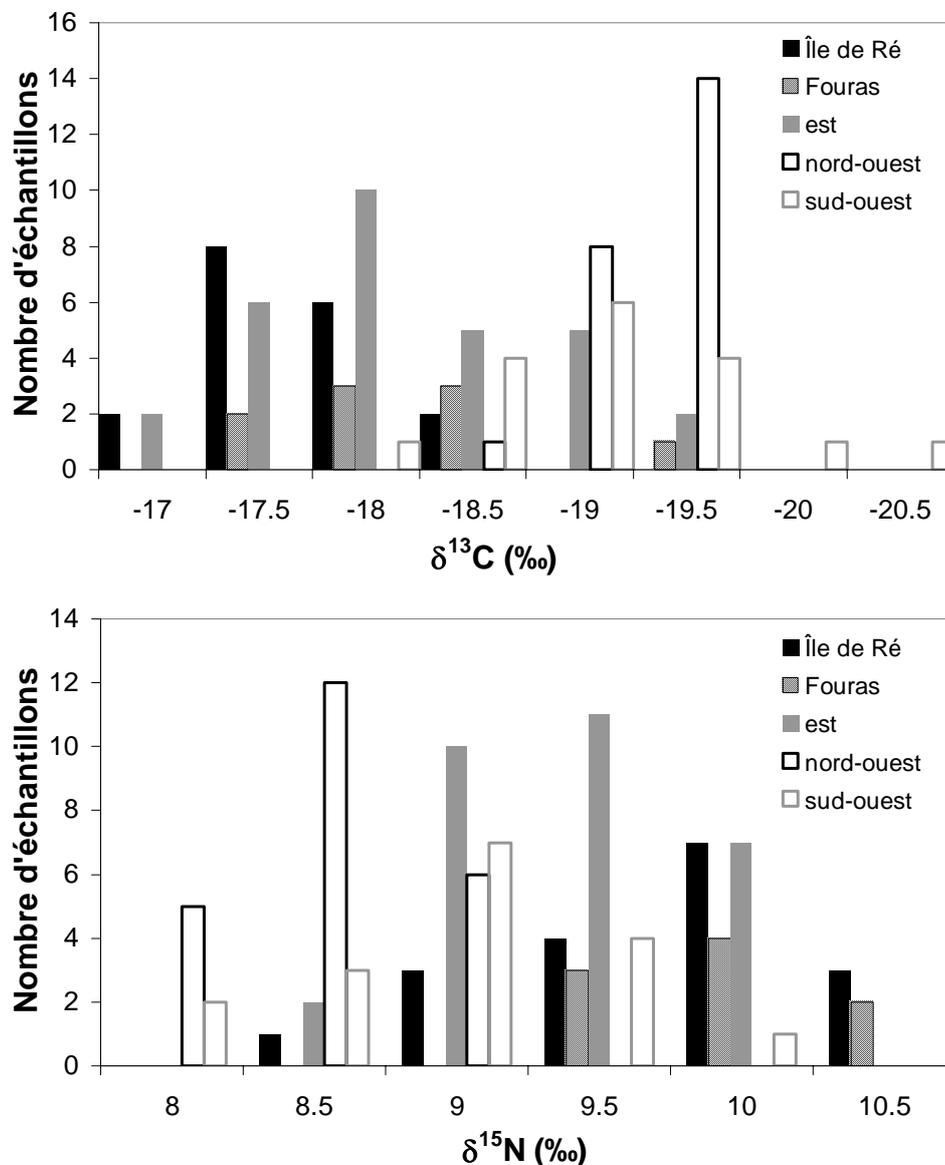


Figure 50. Composition isotopique de carbone et de l'azote du muscle des huîtres par zone de culture ostréicole. Notez que l'échelle des abscisses sur le carbone est inversée.

Pour chaque zone de culture ostréicole, aucune corrélation significative n'a été montrée entre la composition isotopique de l'azote ou du carbone et le poids sec total de l'huître, du muscle et le ratio C/N. Il existe cependant une corrélation significative entre la composition isotopique de l'azote et la longueur totale de l'huître pour toute les zones de culture sauf l'île de Ré alors qu'aucune corrélation de ce type n'existe entre la valeur du $\delta^{13}\text{C}$ et la longueur totale de l'huître (Fig. 51, tableau 18).

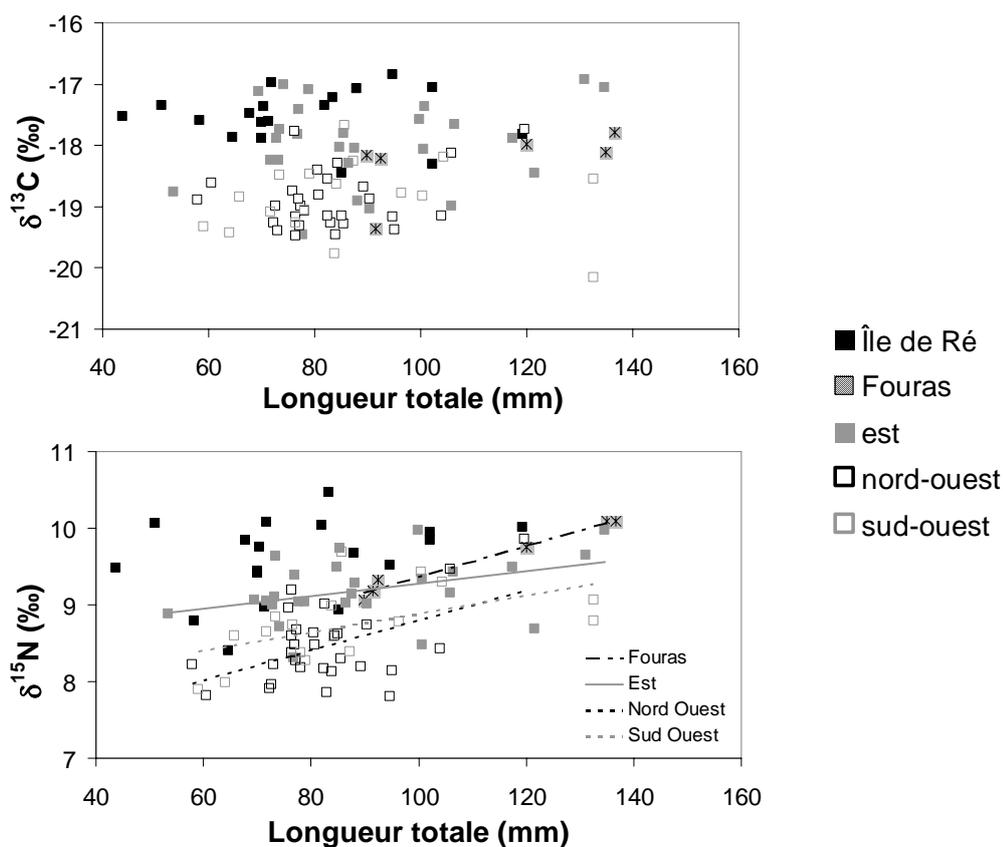


Figure 51. Relation entre la composition isotopique du carbone et de l'azote du muscle et la longueur totale de l'huître pour chaque zone de culture ostréicole. Les régressions linéaires significatives sont représentées (voir Tableau 3 pour le détail).

Tableau 18. Corrélation entre la composition isotopique de l'azote du muscle et la longueur totale de l'huître pour chaque zone de culture ostréicole.

Zones de culture ostréicoles	n	r ²	P
Fouras	6	0,98	< 0,001
est	26	0,15	< 0,05
nord-ouest	29	0,26	< 0,01
sud-ouest	17	0,28	< 0,05

3.3. Influence de la position des cultures ostréicoles à l'échelle de la vasière d'Oléron sur la composition isotopique du muscle de l'huître

Il a été montré qu'il existait une corrélation entre le $\delta^{15}\text{N}$ et la longueur totale de l'huître. Ceci implique de prendre en compte dans les analyses de variances suivantes sur la composition en azote la longueur comme une covariable. Les ANOVA à deux facteurs (hypsométrie « haut et bas d'estran » et transect « 1 à 5 sur la côte d'Oléron ») montrent que la composition isotopique de l'huître sur le carbone est dépendante à la fois de leur position hypsométrique sur l'estran ($P < 0,001$) et de la distribution nord sud des transects qui se traduit par une interaction hautement significative entre les deux facteurs ($P < 0,001$) (Tableau 19). En effet, la différence entre la composition isotopique du carbone des huîtres de haut et bas d'estran est de moins en moins marquée si l'on se déplace du nord vers le sud des transects. En revanche pour le $\delta^{15}\text{N}$, l'effet de la longueur étant soustrait, l'ANCOVA ne permet pas de détecter d'effet significatif des variables hypsométrie et du positionnement des transects (Tableau 19).

Tableau 19. Analyses de variance et de covariance à deux facteurs (hypsométrie et transect) sur les compositions isotopiques du carbone et de l'azote des muscles d'huîtres.

	Sources	DF	MS	F	P
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Hypsométrie	1	7,698	61,61	< 0,001
	Transect	4	0,847	6,78	< 0,001
	Hypsométrie * Transect	4	0,777	6,21	< 0,001
	Erreur	46	0,125		
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Covariable longueur	1	2,076	12,79	0,002
	Hypsométrie	1	0,633	3,90	0,063
	Transect	4	0,385	2,38	0,088
	Hypsométrie * Transect	4	0,003	0,02	0,999
	Erreur	19	0,162		

Le test de Student sur chacun des transects confirme qu'il existe un effet de l'hypsométrie sur les $\delta^{13}\text{C}$ des muscles d'huître (Fig. 52) ainsi qu'un effet de la position nord sud du transect avec une différence significative (test de Student unilatéral) entre haut et bas estran pour les transects numéro 1, 2 et 3 et une réponse non significative pour les transects sud numéro 4 et 5.

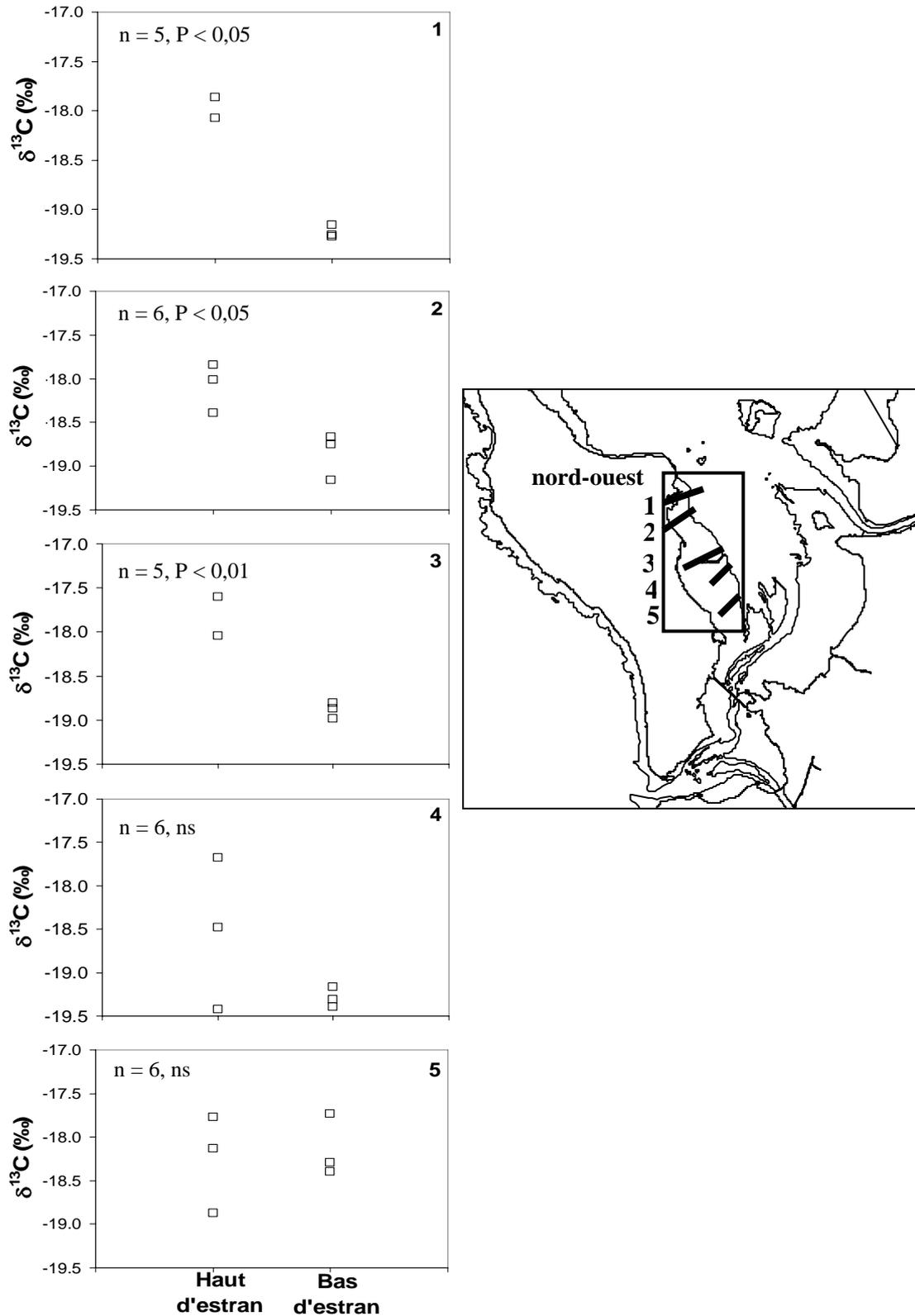


Figure 52. Localisation des transects 1 à 5 selon un critère hypsométrique (haut et bas d'estran) sur la zone de culture ostréicole nord-ouest du bassin de Marennes-Oléron et compositions isotopiques associées sur le carbone du muscle. ns : test unilatéral de Student non significatif.

3.4. Distribution de la composition isotopique des huîtres à fine échelle selon le type de culture ostréicole

La composition isotopique des huîtres cultivées à plat et sur table a été comparée de deux façons : 1) sur l'ensemble de la zone ostréicole sud du bassin de Marennes-Oléron où la culture à plat est bien représentée et 2) en un point d'une parcelle de culture ostréicole (zone d'étude IFREMER la Tremblade) dont les huîtres cultivées à plat et sur table étaient distantes d'un mètre avec un suivi mensuel sur un an de la signature isotopique du muscle et de la glande digestive des huîtres.

Sur l'ensemble de la zone ostréicole du sud-ouest du bassin de Marennes-Oléron où les parcs à plat ont été échantillonnés, le test des K-means montre qu'il est possible de discriminer la composition isotopique du muscle des huîtres selon leurs modes de culture. En effet, sur le carbone, le muscle des huîtres cultivées à plat est significativement différent de celles cultivées sur table (ANOVA à un facteur, $F = 36,47$, $P < 0,001$). Une analyse de covariance avec la longueur comme covariable, montre également une discrimination sur la composition isotopique en azote du muscle ($F_{\text{covariable longueur}} = 13,88$, $P < 0,001$; $F = 20,80$, $P < 0,001$) (Fig. 53).

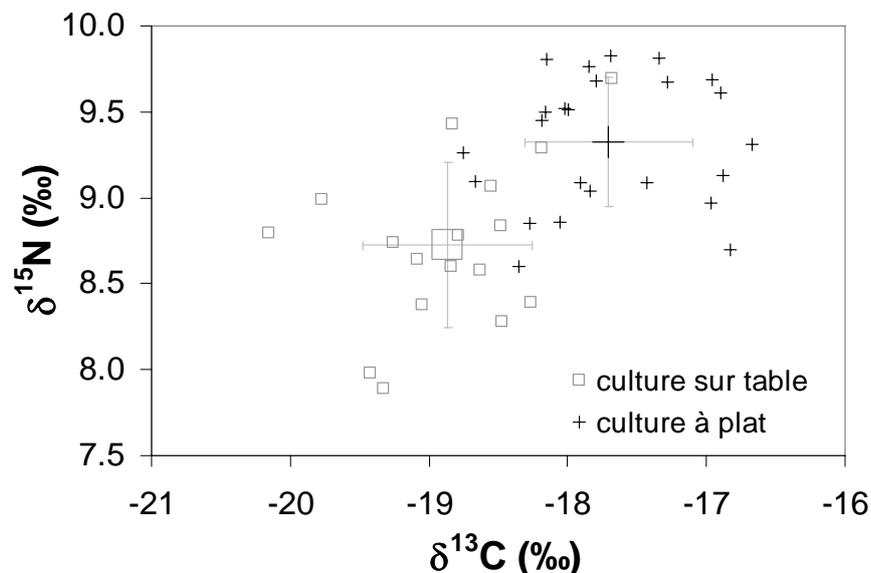


Figure 9. Composition isotopique du carbone et de l'azote du muscle d'huîtres cultivées à plat et sur table de la zone sud-ouest du bassin de Marennes-Oléron ($n = 41$).

En revanche, le suivi temporel sur un an (Fig. 54) ne permet pas de montrer de différence significative systématique dans la composition isotopique du carbone des muscles des huîtres cultivées à plat et sur table (ANOVA à deux facteurs croisés, dates de prélèvement et types de culture) (Fig. 54a & Tableau 20). Il existe une variation temporelle ($P < 0,001$) mais l'effet culture n'est pas significatif ($P = 0,72$). Cependant le fait que l'interaction date culture soit significative ($P < 0,001$) indique qu'il existe pour certaines dates des différences significatives de la composition isotopique en carbone sur le muscle (Fig. 54a). En ce qui concerne le $\delta^{15}\text{N}$ du muscle, une fois soustrait l'influence de la longueur, seule une variation significative temporelle apparaît ($P < 0,001$) (Fig. 54b).

Le suivi temporel sur un an permet de montrer une différence systématique selon la culture dans la composition isotopique du carbone de la glande digestive ($P < 0,001$) quelle que soit la date (Fig 55a & Tableau 20) ainsi qu'une interaction significative ($P < 0,05$) indiquant que pour certaines dates l'effet type de culture est exacerbé. Sur l'azote, l'analyse de covariance ne révèle pas de différence significative selon la culture, seule une variation temporelle significative apparaît ($P < 0,001$) (Fig 55b).

Tableau 20. Résultats des analyses de variance et de covariance à deux facteurs (date de prélèvement et type de culture sur table et à plat) des composition isotopiques sur le carbone et l'azote du muscle et glande digestive d'huîtres.

		Sources	DF	F	P
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Muscle	Date	17	54,75	< 0,001
		Culture	1	0,13	0,72
		Date * Culture	17	3,73	< 0,001
	Glande digestive	Date	17	31,28	< 0,001
		Culture	1	23,89	< 0,001
		Date * Culture	17	2,16	< 0,05
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Muscle	Covariable longueur	1	0,34	0,56
		Date	17	6,43	< 0,001
		Culture	1	1,24	0,27
		Date * Culture	17	1,05	0,42
	Glande digestive	Covariable longueur	1	2,05	0,16
		Date	17	17,30	< 0,001
		Culture	1	0,39	0,53
		Date * Culture	17	1,59	0,09

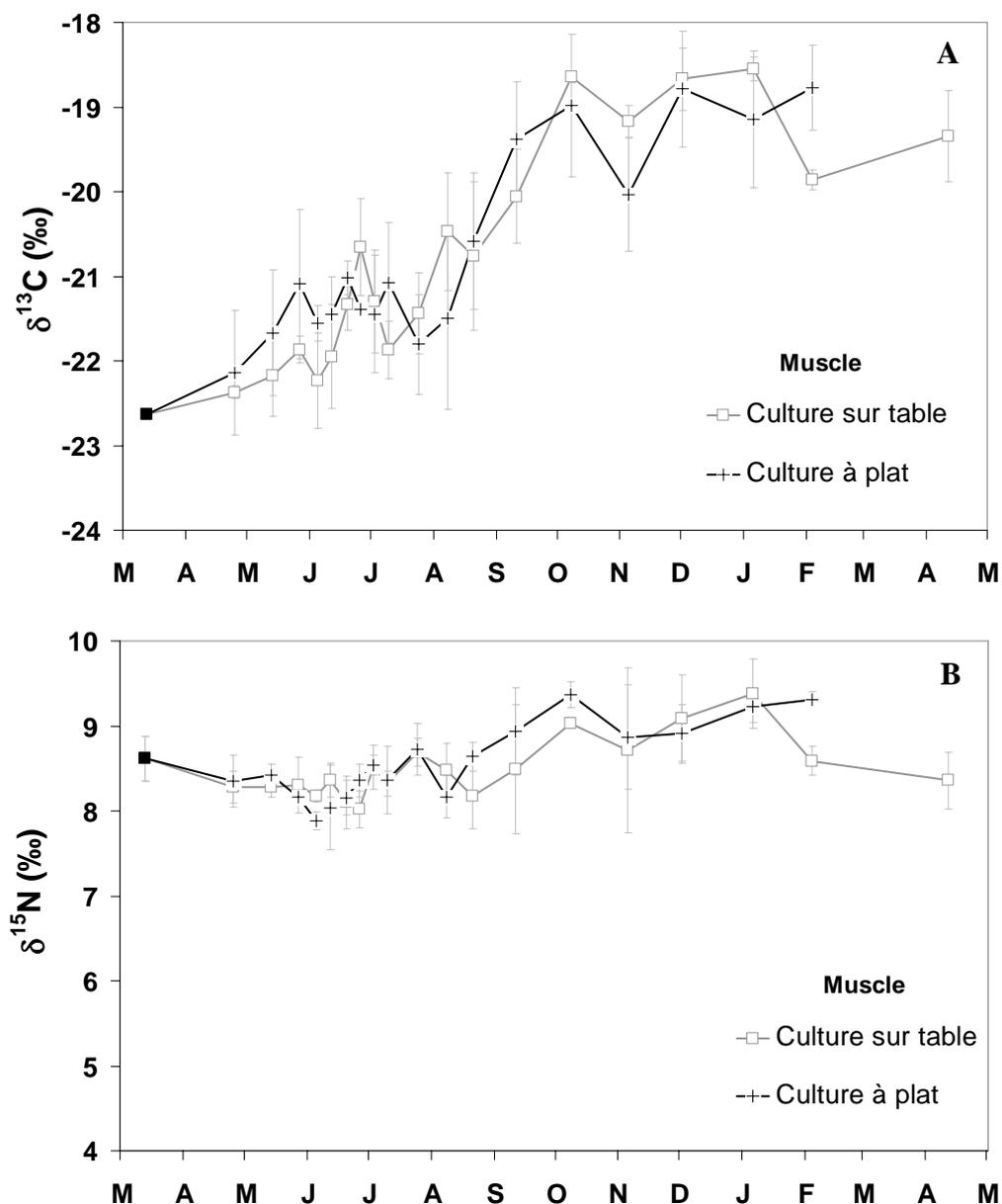


Figure 54. Composition isotopique du carbone (A) et de l'azote (B) du muscle d'huîtres (moyenne \pm écart-type, $n = 3$) cultivées sur estran sur table de mars 2002 à février 2003 et à plat de mars 2002 à avril 2003. Le carré noir correspond au moment où les huîtres ont été transplantées de leur site de stockage en claire ostréicole sur le site de culture expérimentale sur estran.

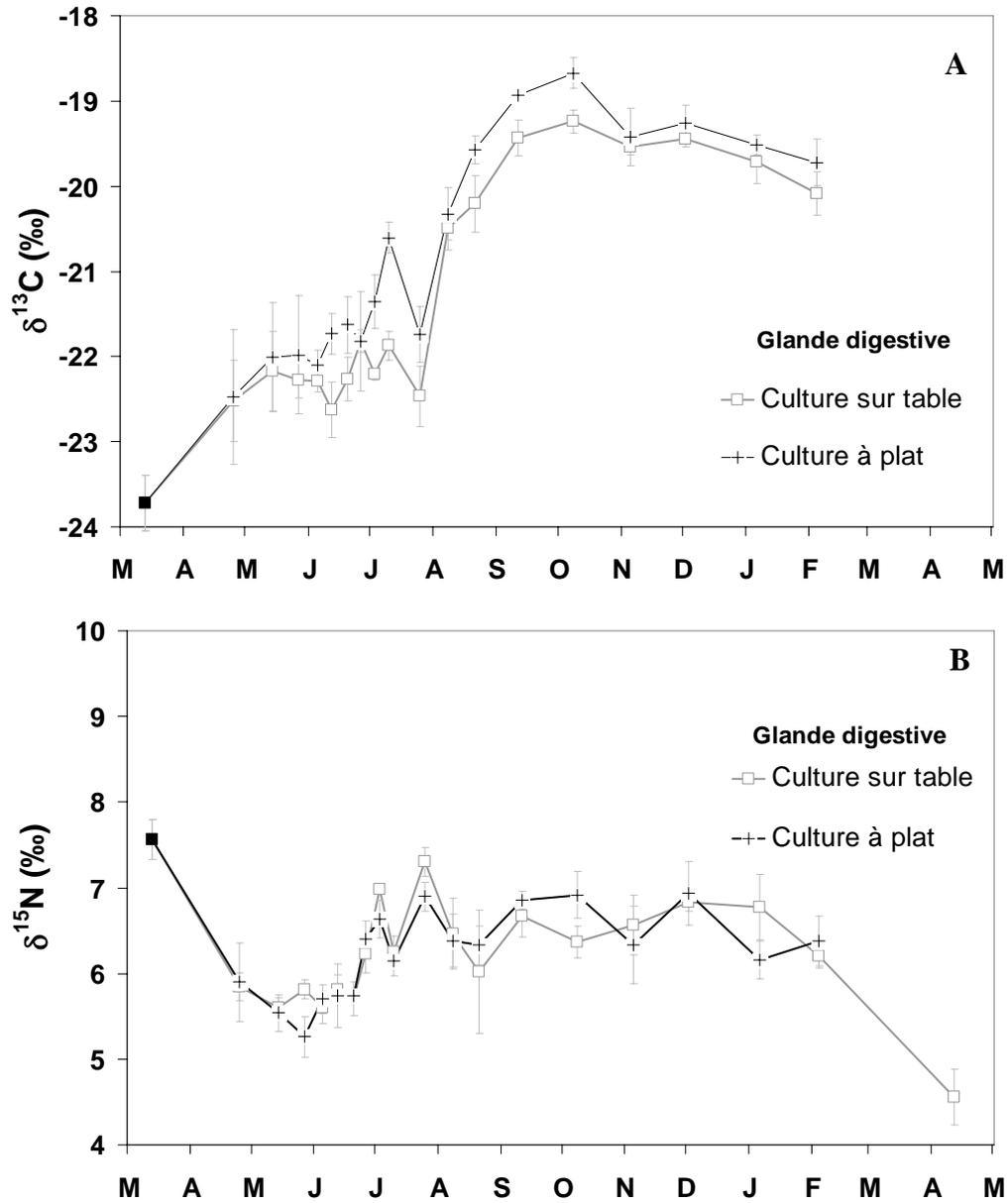


Figure 55. Composition isotopique du carbone (A) et de l'azote (B) de la glande digestive d'huîtres (moyenne \pm écart-type, $n = 3$) cultivées sur estran de mars 2002 à février 2003 et à plat de mars 2002 à avril 2003. Le carré noir correspond au moment où les huîtres ont été transplantées de leur site de stockage en claire ostréicole sur le site de culture expérimentale sur estran.

4. Discussion

4.1. Identification des sous-systèmes trophiques

L'étude spatialisée de la composition en isotopes stables naturels sur le muscle de l'huître creuse *Crassostrea gigas* démontre principalement que cette composition isotopique n'est pas homogène sur l'ensemble de la zone intertidale des Pertuis Charentais. En revanche, il est possible, à plus petite échelle, de distinguer des zones ostréicoles dans les Pertuis Charentais et le bassin de Marennes-Oléron pour lesquelles la composition isotopique du muscle des huîtres est homogène. La composition isotopique du muscle de cet organisme sessile reflète sur le moyen terme la composition isotopique des sources disponibles et incorporées pour chaque site ostréicole. Par inférence, les valeurs des $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ du muscle indiqueront sur quelles sources de nourriture l'huître s'est alimentée. De plus, la corrélation positive qui existe entre la longueur de l'huître et les ratios isotopiques de l'azote devrait préciser le degré d'omnivorie de ce suspensivore. Chacun de ces points est abordé ci-dessous :

□ Composition isotopique de la matière organique particulaire

La composition isotopique de la matière organique particulaire signe la contribution des sources organiques de diverses origines au pool de matière organique (chapitre 1). Les valeurs de la composition isotopique en $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique particulaire (MOP) inférieure à -28 ‰ reflètent sur l'ensemble des Pertuis les apports continentaux fluviaux en période hivernale (Fig. 46). La MOP des environnements estuariens (MOP de l'estuaire externe de la Charente) et néritiques (Pertuis Breton, d'Antioche et de Maumusson) ont des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ comprises entre -24,7 et -19,9 de 1998 à 2002 et jusqu'à -17 ‰ pour l'année 2003 qui présentait des valeurs exceptionnellement enrichies en ^{13}C (chapitre 1). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ supérieures à -16,7 ‰ permettent également de discriminer les sources primaires d'origine intertidale comme le microphytobenthos, les macroalgues et phanérogames marines légèrement plus enrichies en ^{13}C (Riera & Richard 1996, Richard et al. 1997, Riera & Richard 1997, Kang et al. 1999).

Selon les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$, il est difficile de discriminer les sources détritiques provenant du fleuve Charente de la MOP néritique. Riera (1998) avait également fait ce constat dans son étude le long du gradient entre l'estuaire de la Charente et la mer ouverte en montrant que l'enrichissement en ^{15}N était faible le long du gradient, au contraire de ce qui a été montré par Mariotti et al. (1984), avec des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ en aval de l'estuaire de l'Escaut de 1,5 ‰ et des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ à l'embouchure de l'estuaire ou en mer du Nord de l'ordre de 8 ‰. Des observations similaires ont également été rapportées dans l'estuaire du Tay en Ecosse par Thornton & McManus (1994). En fait, dans les systèmes estuariens, une partie du pool de matière organique est d'origine déritique ce qui rend difficile le traçage par la signature isotopique sur l'azote de la matière organique provenant des fleuves de celle présente à l'embouchure de l'estuaire, en raison des processus de diagenèse dont la minéralisation microbienne (Mariotti et al. 1984, Owens 1985, Cifuentes et al. 1988). En effet, les $\delta^{15}\text{N}$ tracent ces processus ainsi que la décomposition de la matière organique au lieu de tracer l'origine de la source organique. Enfin, les valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ toujours supérieures à 8,5 ‰ permettent de discriminer les macroalgues et les phanérogames marines des autres sources (Riera & Richard 1997, Riera 1998, Richard 2000, Richard et al. 2001).

En définitive, trois pools de matériel particulaire organique se dégagent donc clairement : celui provenant des apports fluviaux avec la matière organique continentale, la matière particulaire néritique pélagique et la matière particulaire produite sur les vasières intertidales dont le microphytobenthos, les macroalgues et phanérogames marines.

□ Le degré d'omnivorie

Il a été montré une corrélation significative entre la composition isotopique du muscle en azote et la longueur des huîtres. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ce résultat :

- La première est liée à l'intégration du signal isotopique par le muscle des sources de nourriture assimilée. Le muscle a un renouvellement tissulaire lent de l'ordre de quelques mois comme l'ont également montré Perga & Gerdeaux (2005) et Herzka (2005) pour les poissons. Pour

les organismes endothermes comme les oiseaux et les petits mammifères dont le renouvellement tissulaire est plus rapide, le muscle présente cependant le renouvellement isotopique le plus lent en comparaison par exemple de la glande digestive (Tieszen et al. 1983, Hobson & Clark 1994a). Comme le renouvellement isotopique du muscle est lent, il intègre, à la fois sur le carbone et sur l'azote, la variabilité temporelle de la composition isotopique de la matière organique sur le moyen ou long terme. En conséquence, il devrait donc exister également une corrélation entre la composition isotopique du muscle sur le carbone et la longueur de l'huître. Ceci n'est pas le cas et nous conduit donc à rejeter cette hypothèse de lien entre le taux de renouvellement et la variabilité temporelle de la composition isotopiques des sources.

- Une seconde hypothèse est relative à la variabilité ontogénique du signal isotopique. Les petites huîtres consommeraient préférentiellement du phytoplancton pélagique ou benthique, alors que les plus grandes seraient susceptibles de filtrer une plus large gamme de nourriture, dans un milieu où la charge particulaire peut être élevée, constituée de phytoplancton mais également de détritrus, bactéries et microzooplancton. Il existerait donc un degré d'omnivorie croissant avec la taille des huîtres en relation avec leur capacité de filtration. Rossi et al. (2004) ont montré au contraire chez le bivalve *Macoma balthica* un appauvrissement en ^{15}N des adultes par rapport aux juvéniles. Pour ces auteurs cette corrélation est relative à un changement de régime alimentaire entre juvéniles et adultes et à leurs distributions verticales différentes dans le sédiment. Les petits individus se nourrissent à la surface du sédiment alors que les grands individus possèdent la capacité de s'enfouir plus ou moins profondément et donc de se nourrir à la fois sur le sédiment et sur la colonne d'eau. Minagawa & Wada (1984) ont également testé cette hypothèse sur des moules *Mytilus edulis* et *Septifer virgatus* mais ne montrent pas de relation entre les $\delta^{15}\text{N}$ et la longueur des individus. Ceci est certainement dû 1) à la capacité de filtration plus élevée des moules en comparaison des huîtres ce qui masque cet effet ontogénique et surtout comme le signalent ces auteurs 2) à l'environnement nutritionnel estuarien des moules limité à des détritrus en suspension.

□ Origine des sources de nourriture de l'huître par sous-systèmes trophiques

Quatre zones de culture ostréicole ont pu être décrites d'après leur composition en $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ du muscle des huîtres : la zone ostréicole de l'île de Ré, du nord-ouest, du sud-ouest et de l'est du bassin de Marennes-Oléron. Il a également été choisi de différencier arbitrairement la zone de culture ostréicole de Fouras dont l'habitat, l'embouchure de la Charente, est clairement défini géographiquement (Riera & Richard 1996, Riera 1998).

1 - Les huîtres de la zone ostréicole de l'île de Ré présentent des valeurs en $\delta^{13}\text{C}$ et en $\delta^{15}\text{N}$ très enrichies en comparaison des autres zones ostréicoles identifiées. Les huîtres incorporent la matière organique néritique du Pertuis Breton mais l'enrichissement en ^{13}C des huîtres de l'île de Ré ne peut s'expliquer que par une contribution principale des sources locales disponibles et enrichies en ^{13}C , soit les macroalgues et phanérogames marines du nord de l'île et le microphytobenthos (Riera & Richard 1996, Richard 2000, Richard et al. 2001). La production microphytobenthique produite sur la vasière de la baie de l'Aiguillon participe peu ou pas au pool de matière organique du Pertuis Breton et par conséquent seule la production microphytobenthique localisée de l'île de Ré peut contribuer au régime alimentaire de l'huître (Richard 2000, Richard et al. 2001).

2 - La zone ostréicole du nord-ouest du bassin de Marennes-Oléron regroupe les huîtres dont la composition isotopique du muscle est la plus appauvrie sur le carbone avec un $\delta^{13}\text{C}$ de -18,9 ‰ et sur l'azote avec un $\delta^{15}\text{N}$ de 8,5 ‰ (Fig. 49, 50). Ces huîtres assimilent principalement du phytoplancton néritique produit dans le Pertuis d'Antioche en période printanière et estivale. Il est possible de supposer que les courants entrants par le Pertuis d'Antioche, frangeants la côte nord Est de l'île d'Oléron (Dechambenoy et al. 1977) poussent cette production phytoplanctonique pélagique estivale le long de la côte nord de l'île d'Oléron. La contribution des apports de la Charente et / ou de la Gironde est alors réduite. Les valeurs très appauvries en ^{13}C sur cette partie de la vasière d'Oléron montrent que la contribution du microphytobenthos y est également réduite. (Une conclusion plus précise sur la contribution relative du microphytobenthos au régime alimentaire de l'huître sera donnée grâce à l'étude réalisée selon des transects sur ce secteur).

Bien que la composition isotopique de l'ensemble des huîtres collectées dans le bassin de Marennes-Oléron s'explique en partie par une assimilation de phytoplancton néritique, il existe des décalages entre les compositions isotopiques des différentes zones ostréicoles dues à l'assimilation d'autres sources de nourriture provenant des apports fluviaux ou intertidaux. Deux modifications du régime alimentaire de l'huître expliquent les enrichissements en isotopes lourds à la fois sur le carbone et l'azote : 1) l'augmentation de la contribution du microphytobenthos et 2) l'augmentation du degré d'omnivorie.

L'enrichissement sur le carbone implique que la contribution relative du microphytobenthos au régime alimentaire de l'huître augmente. Les diatomées benthiques, produites à la surface des vasières, peuvent être remises en suspension et ainsi participer au pool de matière organique pélagique (Ravail et al. 1988, de Jonge & Van Beusekom 1992, Zurburg et al. 1994, de Jonge & Van Beusekom 1995). De plus, Guarini et al. (1998) montrent à partir des cartographies krigées de la biomasse de chlorophylle *a* contenue dans le premier centimètre supérieur du sédiment, que le nord-ouest, le sud et le sud-est du bassin de Marennes-Oléron sont les zones les plus productives. Les courants de circulation résiduelle nord sud ainsi que les fortes productions microphytobenthiques de fond de baie impliquent que les diatomées benthiques remises en suspension y sont potentiellement plus disponibles pour l'huître. La zone de culture ostréicole de Fouras révèle des compositions isotopiques les plus enrichies en ^{13}C en comparaison des autres zones ostréicole décrites, avec des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ comprises entre -17,4 à -18,2 et seulement une valeur à -19,4 ‰. Riera & Richard (1996) ont par ailleurs montré que la composition isotopique des huîtres prélevées sur une station située face à Fouras, les Palles, à l'embouchure de l'estuaire de la Charente, était très enrichie en ^{13}C et concluent à l'assimilation par les huîtres d'un mélange d'apport détritique fluvial, de phytoplancton néritique et de diatomées benthiques. Les macroalgues ont des compositions isotopiques également très enrichies en ^{13}C mais leur présence réduite à Fouras, du fait de la turbidité des eaux de l'estuaire, (Riera & Richard 1996) implique qu'elles ne participent pas au pool de matière organique disponible pour les huîtres.

L'enrichissement des compositions isotopiques des huîtres sur l'azote implique soit l'assimilation d'une source de nourriture enrichie en ^{15}N , soit une modification du positionnement

trophique de l'huître. Les compositions isotopiques des sources potentiellement assimilables, la matière organique provenant des apports fluviaux, le phytoplancton néritique et le microphytobenthos, ont une moyenne sur le $\delta^{15}\text{N}$ de $6,4 \pm 1,1$ ‰. Seules les macroalgues ont des compositions isotopiques sur l'azote plus enrichies et toujours supérieures à 9 ‰. La faible répartition de ces macroalgues sur l'ensemble du bassin de Marennes-Oléron et l'embouchure de la Charente, excepté sur quelques rares estrans rocheux, leurs confèrent une faible participation au pool de matière organique. Par conséquent, la différence de 2,3 ‰, entre les huîtres les plus appauvries en ^{15}N de la zone ostréicole du nord-ouest du bassin et les huîtres les plus enrichies à Fouras, peut être attribuée à un échelon trophique supérieur de l'huître comme Riera (1998) en avait déjà émis l'hypothèse. Si l'on considère une discrimination entre le muscle de l'huître et sa source de nourriture de 3 ‰ (chapitre 3), les valeurs isotopiques appauvries en ^{15}N de la zone nord-ouest du bassin suggèrent donc une nourriture de l'ordre de 5,5 ‰. Les huîtres assimilent donc d'une nourriture composée de phytoplancton néritique pur ce qui correspond à un niveau trophique. Au contraire, l'enrichissement en ^{15}N des huîtres du sud-ouest du bassin et qui s'amplifie pour les huîtres de l'est du bassin et de Fouras suggère un niveau trophique intermédiaire supérieur des huîtres. Les huîtres assimilent alors de la nourriture détritique et les bactéries associées (Crosby et al. 1990, Langdon & Newell 1990) provenant de la colonne d'eau et du sédiment remis en suspension mais probablement également du microzooplancton (Le Gall et al. 1997, Dupuy et al. 1999, Dupuy et al. 2000b) se nourrissant lui-même de particule détritique, de bactéries et de phytoplancton.

3 – La zone ostréicole sud-ouest regroupe des huîtres dont les compositions isotopiques du muscle sont les plus appauvries en ^{13}C avec -18,9 ‰ et en ^{15}N avec 8,7 ‰. Ces compositions isotopiques sont similaires aux compositions isotopiques du muscle des huîtres de la zone ostréicole nord-ouest du bassin de Marennes-Oléron. On peut toutefois supposer que les huîtres de la zone sud-ouest ont à leur disposition une plus grande diversité de matière organique particulière en raison de la position de la zone ostréicole dans la moitié sud du bassin et du transport de matériel organique vers cette zone par les courants résiduels nord sud (Dechambenoy et al. 1977). Il est ainsi possible de faire l'hypothèse que ces compositions isotopiques du carbone et de l'azote

appauvries ne sont pas la conséquence des apports majeurs de phytoplancton néritique mais le résultat de l'assimilation par les huîtres de plusieurs sources de nourriture, le phytoplancton néritique, les apports estuariens et fluviaux appauvrie en ^{13}C et le microphytobenthos enrichi en ^{13}C .

4 – La zone ostréicole est du bassin de Marennes-Oléron est identifiée grâce aux compositions isotopiques sur le carbone et sur l'azote les plus enrichies de tout le bassin. Le phytoplancton néritique intervient peu dans l'alimentation de l'huître au contraire du microphytobenthos. Nous pouvons également supposer la participation du pool détritique associé aux bactéries ainsi que celle des organismes hétérotrophes comme les protozoaires au régime alimentaire de l'huître. En effet, la zone est du bassin est considérée comme une zone d'accumulation où le temps de résidence des masses d'eau est plus élevé (Struski com. pers.) favorisant ainsi la décomposition du matériel particulaire organique. Cette zone est, selon la cartographie krigée de Guarini et al. (1998), une zone à plus faible biomasse microphytobenthique, mais on peut toutefois supposer qu'elle bénéficie des apports microphytobenthiques produits sur les vasières intertidales proches de l'estuaire externe de la Charente (Riera & Richard 1996).

4.2. Importance du microphytobenthos dans le régime alimentaire de l'huître

La contribution du microphytobenthos au régime alimentaire de l'huître n'est pas négligeable comme le montrent les compositions isotopiques enrichies en ^{13}C des huîtres du bassin de Marennes-Oléron de Fouras et de l'île de Ré. Des échantillonnages supplémentaires ont été réalisés dans les zones ostréicoles du nord-ouest du bassin (Fig. 52) et les zones sud-ouest et est du bassin (Fig. 53, 54, 55) pour préciser la contribution du microphytobenthos au régime alimentaire de l'huître. Il a ainsi été montré que la disponibilité du microphytobenthos et par conséquent sa contribution au régime alimentaire de l'huître dépend de la position de la culture ostréicole sur l'estran. La contribution du microphytobenthos pour les huîtres situées en bas d'estran est moins importante comme le montre la composition isotopique du muscle de l'huître appauvrie en ^{13}C . Ceci a certainement pu être mis en évidence dans la zone ostréicole du nord-ouest du bassin car la source phytoplanctonique y est majoritaire pour l'huître et de plus, les apports continentaux ou

détritiques interfèrent peu avec le signal isotopique du muscle de l'huître. En effet, cet effet est de plus en plus difficile à mettre en évidence à mesure que l'on se rapproche de la zone ostréicole du sud du bassin où plusieurs sources, phytoplanctoniques, mais également détritiques, bactériennes et microzooplanctoniques se mélangent. Plusieurs hypothèses peuvent alors être envisagées : 1) les huîtres situées en bas d'estran de la zone nord-ouest subissent les apports plus importants de phytoplancton néritique grâce aux courants frangeants la côte de l'île d'Oléron (Dechambenoy et al. 1977) et par conséquent le microphytobenthos contribue moins au pool phytoplanctonique, 2) la production microphytobenthique en haut d'estran est plus importante comme cela a été montré par Guarini et al (1998) et augmente donc la disponibilité de cette ressource pour l'huître, 3) le temps d'exondation plus faible en bas d'estran implique également que ces huîtres ont plus longtemps à leur disposition une colonne d'eau enrichie en nourriture phytoplanctonique et appauvrie en microphytobenthos remis en suspension qui lui est issu des estrans situés en amont.

Il a également été montré que la composition isotopique des muscles d'huîtres prélevées sur des sites ostréicoles de culture à plat était enrichie en ^{13}C mais également en ^{15}N par rapport aux huîtres cultivées sur table. A l'échelle d'une table ostréicole séparée d'une distance de moins d'un mètre d'une culture à plat, les mêmes résultats ont été montrés sur une série temporelle mais uniquement sur la glande digestive. Les huîtres cultivées à plat bénéficient de la remise en suspension du microphytobenthos mais également de la couche superficielle du sédiment et du matériel détritique associé. Il est donc intéressant de noter que les huîtres cultivées à plat semblent avoir un niveau trophique supérieur intermédiaire aux huîtres cultivées sur table car elles présentent, comme nous l'avons évoqué précédemment, un degré d'omnivorie croissant avec une position verticale sur l'estran plus proche du sédiment.

5. Conclusion : L’huître *Crassostrea gigas* intégrateur temporel de sous-systèmes trophiques

L’huître apparaît comme un organisme intégrateur de son environnement trophique. A un instant donné la signature isotopique sur le carbone et l’azote du tissu musculaire de l’huître rend compte de la moyenne des sources assimilées par l’huître et de leur variabilité temporelle sur un pas de temps de l’ordre d’une année (chapitre 3). En effet, le taux de renouvellement du muscle de l’huître est lent, à la fois sur le carbone et sur l’azote, en comparaison avec les autres organes (chapitres 2 et 3). La glande digestive rend compte à court terme de la variabilité de la contribution des sources benthiques et pélagiques et permet de suivre la variabilité temporelle de l’ordre du mois sur le carbone et de la semaine sur l’azote (chapitre 3).

En complément des études de Riera & Richard (1997) et Riera (1998) sur le gradient estuarien de la Charente à l’île de Ré, nous avons donc pu montrer qu’il était possible d’utiliser *Crassostrea gigas* pour caractériser des sous-systèmes trophiques à différentes échelles spatiales d’intégration du signal isotopique à la fois sur le carbone et l’azote au cours de la saison estivale.

Les sites ostréicoles de l’île de Ré sont caractérisés par les ressources nutritives en phytoplancton néritique mais également les apports en matière organique (carbone et azote) d’origine intertidale, issue surtout du microphytobenthos et potentiellement des macroalgues et phanérogames marines si elles sont prépondérantes. La contribution de la matière organique d’origine intertidale y est la plus forte pour les habitats benthiques de cette zone ostréicole en comparaison du bassin de Marennes-Oléron, en cette période printanière et estivale.

Le nord-ouest du bassin de Marennes-Oléron est caractérisé par une dominance de la ressource pélagique néritique car 1) le phytoplancton néritique est produit localement dans le Pertuis d’Antioche, 2) le courant frangeant la côte est de l’île d’Oléron rend cette ressource accessible aux consommateurs benthiques, 3) le microphytobenthos remis en suspension est dilué dans la colonne d’eau par les apports pélagiques néritiques du Pertuis d’Antioche et ce en fonction

du temps d'émergence et enfin 4) les apports continentaux de la Charente sont négligeables en période printanière et estivale. Il a également été montré que la contribution du microphytobenthos, faible en comparaison des sous-systèmes décrits à l'est du bassin, était plus importante en haut d'estran. Il serait par ailleurs intéressant de valider ces résultats grâce à l'analyse de la composition isotopique du muscle d'huîtres sauvages prélevées à l'extrême nord de l'île d'Oléron, côte plus rocheuse où cette fois la disponibilité en microphytobenthos est négligeable devant les sources pélagiques néritiques.

Les habitats benthiques est du bassin de Marennes-Oléron et Fouras sont plus largement influencés par les apports microphytobenthiques bien que les vasières à l'est du bassin soient les moins riches en biomasse microphytobenthique vis-à-vis de la côte d'Oléron (Guarini et al. 1998). En effet, les habitats benthiques du sud et est du bassin bénéficient de la remise en suspension du microphytobenthos, de l'ensemble de la vasière, drainée par les courants de marée. De plus, les courants de la Charente permettent également des apports microphytobenthiques, produits sur les vasières de l'embouchure de l'estuaire externe de la Charente, vers le sud du bassin. Il serait par ailleurs intéressant de vérifier si les compositions isotopiques du muscle d'huître du nord est du bassin de Marennes-Oléron sont effectivement enrichies en ^{13}C . En effet, la collecte d'huîtres lors des échantillonnages des stocks 2001 sur cette zone était rendue impossible suite à la tempête de l'hiver 1999 qui avait en partie détruit toutes les installations ostréicoles. De plus, ces environnements sont caractérisés par un mélange de sources nutritives autres que les apports phytoplanctoniques pélagiques ou benthiques. La contribution du matériel particulaire des complexes détritiques, composés de matière organique décomposée par les bactéries, est plus importante dans ces eaux à forte charge particulaire de fond de bassin et de l'embouchure de la Charente. Il est aussi possible de supposer une contribution de microzooplancton, se nourrissant de phytoplancton mais également de ces complexes détritiques, à la colonne d'eau. Il semble que la contribution de ces sources augmente entre le sud-ouest, et l'est du bassin de Marennes-Oléron décrivant ainsi des environnements où les consommateurs suspensivores peuvent avoir un niveau trophique supérieur.

Il est finalement intéressant de remarquer la convergence entre les résultats ici présentés et l'occupation des sols par les types de culture ostréicole (Fig. 56), en tenant en compte que les plus petites huîtres à caractère phytophage assimilent du phytoplancton pélagique ou benthique alors que les plus grandes, omnivores, ont la capacité d'assimiler également les complexes détritiques ainsi que le microzooplancton. La figure 56 montre que, les élevages de type, collecteur de un an et deux ans et poche de un an, sont essentiellement localisés dans la zone nord-ouest que nous avons décrite comme essentiellement influencée au printemps et été par les apports phytoplanctoniques alors que les poches de deux ans sont localisées essentiellement dans le sud-ouest et l'est du bassin.

Il est montré depuis 1989 que la station de Ronce-les-Bains dans le sud du bassin de Marennes-Oléron connaît une croissance en coquille et poids sec significativement plus forte que les autres stations (nord, ouest, est et Fouras), en particulier durant l'automne (Le Moine et al. 2002). Pour ces huîtres de taille commercialisable, le régime fortement omnivore sous influence microphytobenthique ne semble donc pas contradictoire avec une croissance maximale et s'avère être un processus bien connu de l'utilisation des ressources alimentaire par les bivalves (Bayne et al. 1987, Bayne et al. 1989, Crosby et al. 1989, Hawkins et al. 1996, Hawkins et al. 1997) .

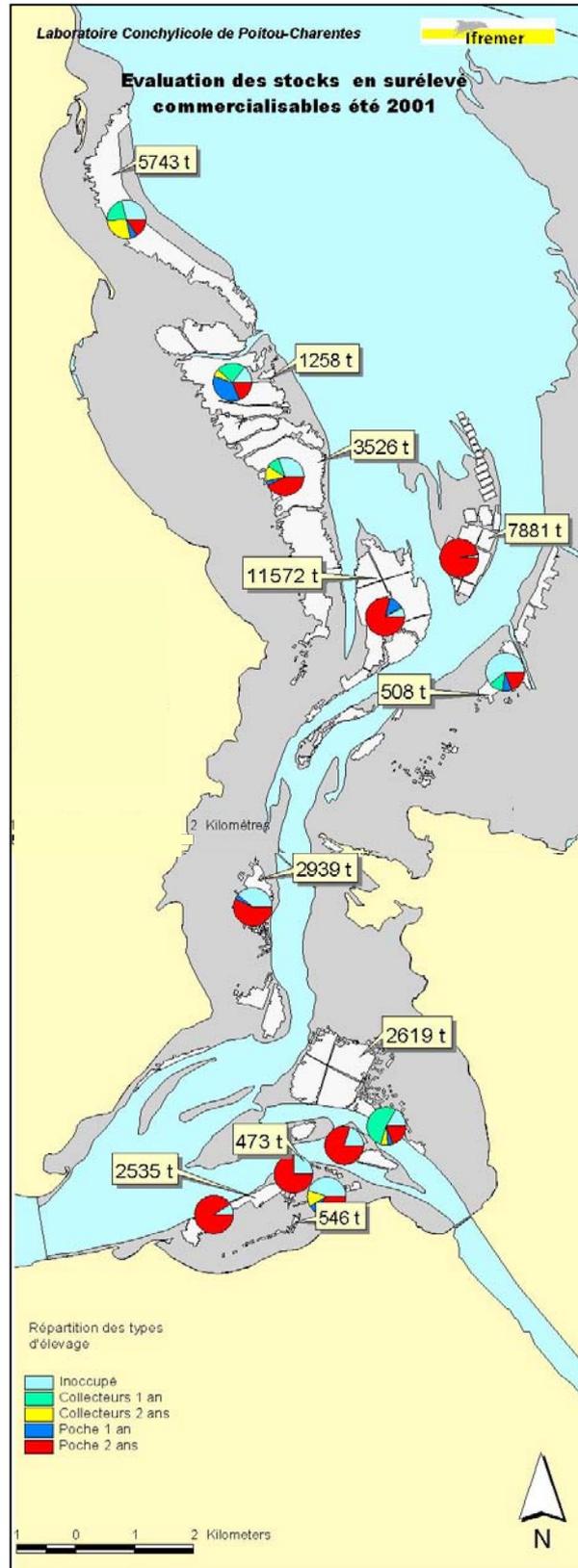


Figure 56. Répartition des types d'élevage lors de l'évaluation des stocks de 2001 des huîtres cultivées sur table et commercialisables. Notez la prépondérance des élevages en poche de deux ans sur le centre et sud du bassin et la prépondérance des collecteurs 1 an et 2 ans sur le nord-ouest.

**Chapitre 6. Essai de modélisation de la contribution des sources
de matière organique au régime alimentaire de l’huître creuse**

Chapitre 6. Essai de modélisation de la contribution des sources de matière organique au régime alimentaire de l'huître creuse

Il apparaît à présent essentiel, après avoir décrit l'origine et la dynamique temporelle des sources de nourriture puis les signaux isotopiques résultants chez l'huître, de mettre en concordance la composition isotopique des sources de nourriture disponibles et celle de ses tissus dans la mesure où les paramètres liés à l'incorporation tissulaire de la nourriture accessible à un instant donné par l'huître ont été déterminés. Une telle synthèse se fait classiquement par l'utilisation d'un modèle de mélange (Fry & Sherr 1984, Peterson & Fry 1987, Dauby 1989, Kasai et al. 2004, Kasai & Nakata 2005). En d'autres termes, sera étudiée la dynamique trophique temporelle et spatiale de l'huître creuse des Pertuis Charentais et particulièrement du sud du bassin de Marennes-Oléron.

Les modèles de mélange ont fait l'objet de controverses concomitantes à leurs récents développements (Hilderbrand et al. 1998, Ben-David & Schell 2001, Phillips 2001, Phillips & Gregg 2001, Koch & Phillips 2002, Phillips & Koch 2002, Robbins et al. 2002, Phillips & Gregg 2003). Lors de l'application de l'analyse des isotopes stables dans une démarche quantitative, l'hypothèse d'une assimilation uniforme des différents composés, quelles que soient les sources de nourriture, leur qualité, leur quantité et / ou la période de consommation, est tacitement admise. Ceci suppose que la composition isotopique des composés assimilés est systématiquement reflétée dans celles des tissus du consommateur, c'est-à-dire que le routage isotopique est supposé uniforme. L'exemple suivant persuade pourtant de l'écueil caché derrière une telle hypothèse : l'ours de Gannes *et al* (1997). Il s'agit d'un exemple théorique mais plausible d'une espèce d'ours omnivore (l'ours brun *Ursus arctos*) dans un environnement côtier. La proximité du milieu marin lui permet d'accéder aux poissons, qui lui fournissent protéines et lipides, tandis que l'environnement terrestre lui fournit des baies, sources de glucides. Les lipides sont alors stockés tandis que les glucides sont catabolisés directement. Les protéines alimentaires sont, quant à elles,

utilisées dans la construction et le renouvellement des protéines tissulaires. Par conséquent la composition isotopique des tissus dépendra uniquement de celle des poissons : la composition isotopique des tissus de cet ours sous-estimera largement la contribution des sources terrestres de nourriture dans son alimentation. L'analyse des isotopes stables est souvent considérée comme une méthode qui fournit des informations sur la nourriture assimilée. En fait, parmi les composés assimilés, seuls ceux qui participent à la synthèse tissulaire peuvent être tracés par l'analyse des isotopes stables. En définitive, la composition isotopique d'un tissu révèle celle des nutriments de la nourriture à partir desquels ce tissu a été synthétisé.

Les modèles de mélange ont progressivement été améliorés et intègrent à présent de plus en plus la conservation des équilibres de masse (Phillips 2001), la variabilité de la composition isotopique des sources (Phillips & Gregg 2001) ou du fractionnement trophique en fonction du rapport C/N (Koch & Phillips 2002, Phillips & Koch 2002). Ces modèles étaient limités par le nombre de sources $n + 1$ prises en compte avec n isotopes (Phillips & Gregg 2001). Ils atteignent maintenant une approche probabiliste avec le modèle IsoSource utilisant n isotopes pour des systèmes complexes dont le nombre de sources peut être supérieur à $n + 1$ (Phillips & Gregg 2003) (<http://www.epa.gov/wed/pages/models>). Les proportions estimées par ce dernier modèle sont alors accompagnées d'un intervalle de confiance. Les études de sensibilité concernant ce modèle montrent que les estimations sont peu sensibles au % d'incrémentation (valeur qui spécifie le nombre de calcul des contributions des sources de 0 à 100 %) et à la valeur de tolérance (une valeur de tolérance de 0,1 signifie que toutes les estimations de contribution des sources qui prédisent une composition isotopique du consommateur différente de 0,1 ‰ avec la valeur observée sont considérées comme possibles).

Le modèle de mélange statique IsoSource, bien que peu utilisé (Phillips & Gregg 2003, Kasai & Nakata 2005), est un moyen efficace de synthétiser les informations entre les sources disponibles et accessibles incorporées par le consommateur en rendant compte de la contribution de chaque source de nourriture au régime alimentaire du consommateur. J'utiliserai donc le modèle IsoSource avec deux objectifs :

- Etablir un profil trophique temporel pluriannuel des sources disponibles pour l'huître. La contribution des différentes sources sera calculée afin qu'elle décrive la composition isotopique de la matière organique particulaire de la colonne d'eau.

- Etablir un profil saisonnier de la contribution des sources accessibles et incorporées par l'huître définissant ainsi son régime alimentaire. La comparaison entre les profils des sources disponibles et accessibles apportera un complément d'information concernant le statut de tropho-indicateur de l'huître. Enfin, l'estimation de la contribution relative des sources microalgales pélagiques et benthiques au régime alimentaire de l'huître sera abordée à l'échelle des sous-systèmes trophiques décrits dans le chapitre 5.

1. Profil trophique temporel pluriannuel des sources disponibles

L'analyse des données hydrobiologiques et de la composition en isotopes stables du carbone et de l'azote a permis de mettre en évidence la dynamique saisonnière (Fig. 57) et pluriannuelle de la matière organique particulaire (chapitre 1). L'interprétation combinée des paramètres les plus pertinents, la concentration en chlorophylle *a*, les ratios C/N et POC/Chl *a*, la composition isotopique mais également la biomasse microalgale de la colonne d'eau, a été riche d'enseignements concernant la contribution relative des sources d'origines allochtones (apports continentaux) et autochtones (apports néritiques et intertidaux) au pool de matière organique et reste conforme dans ses grandes lignes aux résultats antérieurs (Galois et al. 1996, Richard et al. 1997, Riera & Richard 1997, Riera 1998). Dans un système aussi complexe en terme de diversité des sources de matière organique et de leur devenir dans la colonne d'eau, un modèle de mélange basé uniquement sur la composition en carbone et azote peut-il se soustraire à une analyse hydrobiologique détaillée ?

Conditions d'application du modèle de mélange

La matière organique particulaire (MOP) en suspension dans la colonne d'eau est le résultat d'un mélange de plusieurs sources de différentes origines : les apports continentaux qui regroupent le matériel particulaire apporté par le fleuve Charente, les microalgues phytoplanctoniques néritiques et les sources produites sur les vasières intertidales. Ces dernières sont représentées par les microalgues benthiques mais également les zostères et les algues vertes (ulves et entéromorphes) présentes abondamment sur la vasière d'Oléron et sur les parcs ostréicoles (chapitre 1). Seulement trois sources de matière organique particulaire distinctes dans la colonne d'eau seront prises en compte. En effet, la production macroalgale et des phanérogames marines doit être dégradée sous forme particulaire pour contribuer au pool de matière organique (chapitre 1). Or, dans l'état actuel des connaissances, il est impossible de dégager une valeur de leur composition isotopique sous cette forme particulaire dégradée.

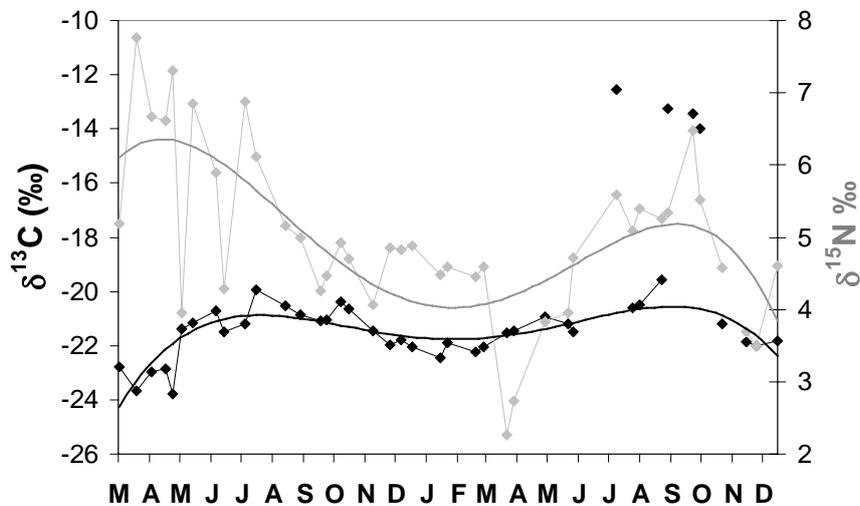


Figure 57. Evolution temporelle simultanée de la composition isotopique de la matière organique particulaire sur le carbone (en noir) et l'azote (en gris) de mars 2002 à décembre 2003 sur le site intertidal de Ronce-les-Bains. La tendance est estimée par un polynôme d'ordre 4.

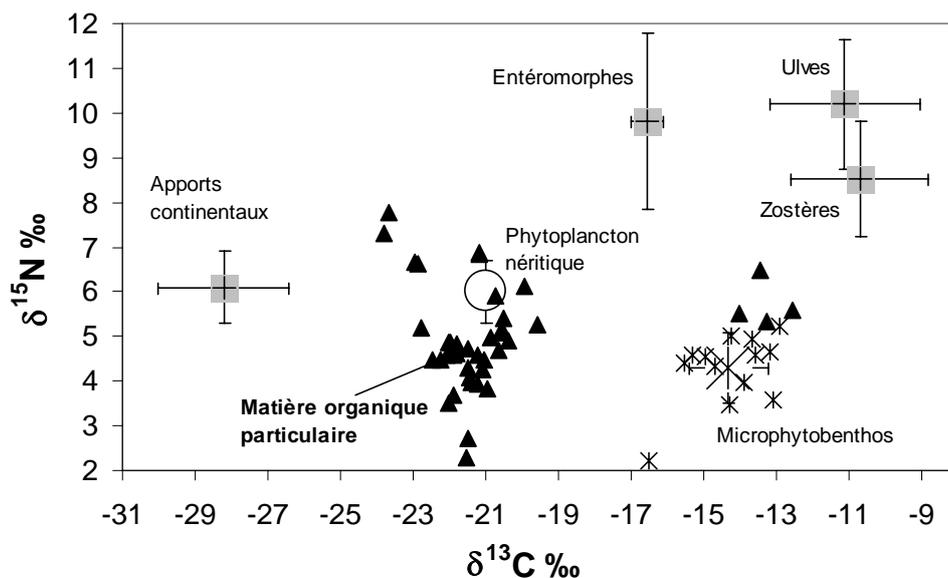


Figure 58. Compositions isotopiques sur le carbone et l'azote des sources primaires et d'origine continentale (les sources en grisées sont issues de la littérature) participant au pool de matière organique particulaire (triangles noirs) tel que mesuré sur le site de Ronce-les-Bains.

Estimations du modèle

Les estimations du modèle de mélange (Figs. 59 et 60) définissent un profil temporel de contribution des sources qui peut être résumé selon 3 schémas possibles :

- 1) une source contribue majoritairement au pool de matière organique particulaire (MOP) :
 - le phytoplancton néritique à hauteur de 88 % ponctuellement en juin et juillet 2002,
 - le microphytobenthos entre 87 et 99 % en juillet et septembre 2003,
- 2) deux sources contribuent à la MOP :
 - les apports continentaux entre 33 et 60 % et le microphytobenthos entre 39 et 63 % de août 2002 à mai 2003. Cette participation des apports continentaux et du microphytobenthos est dominante au cours du profil temporel de mars 2002 à décembre 2003,
 - les apports continentaux entre 32 et 46 % et le phytoplancton néritique entre 47 à 65 % en avril 2002,
- 3) trois sources contribuent à la MOP :
 - chaque source participe au pool de MOP à hauteur de 28 à 37 % ponctuellement en juin 2002 et août 2003.

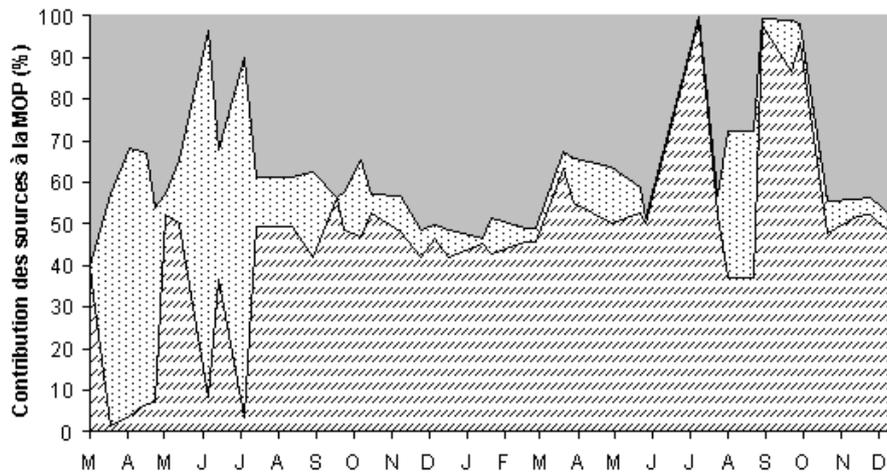


Figure 59. Evolution temporelle de la contribution des sources au pool de matière organique particulaire (MOP) de la colonne d'eau de mars 2002 à décembre 2003 sur l'estran sablo-vaseux de Ronce-les-Bains. Estimations du modèle de mélange IsoSource (Phillips & Gregg 2003) : apports continentaux (gris), phytoplancton néritique (pointillés) et microphytobenthos (traits obliques).

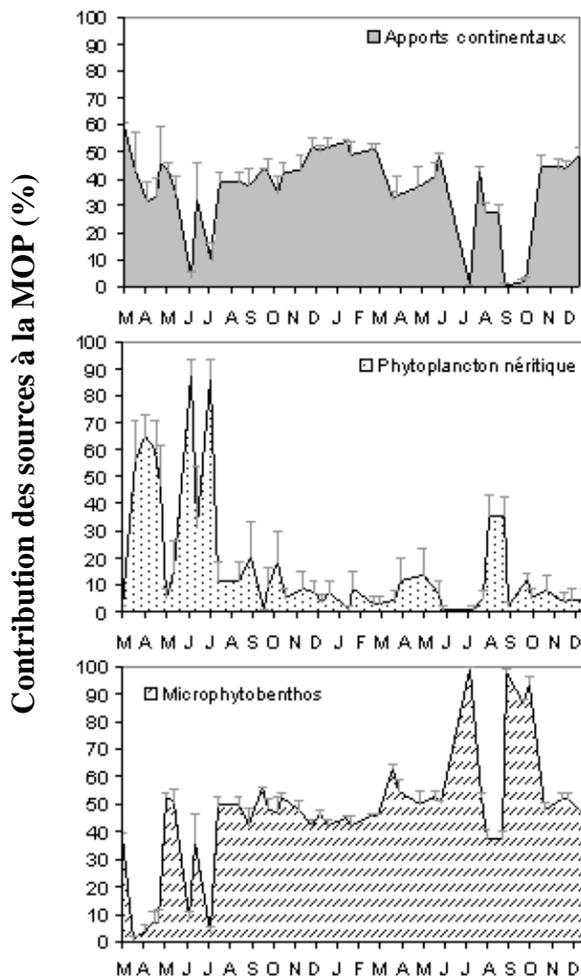


Figure 60. Contribution des sources (\pm écart type) à la matière organique particulaire (MOP) de mars 2002 à décembre 2003 sur l'estran sablo-vaseux de Ronce-les-Bains.

Il apparaît donc, d'après les estimations de ce modèle, que le pool de matière organique est largement influencé au cours des deux années par la contribution des apports continentaux et du microphytobenthos. Le phytoplancton néritique est moins représenté alors que les biomasses phytoplanctoniques sont élevées dans la colonne d'eau au printemps 2002 avec environ 1,8 million de cellules l⁻¹ mais également au printemps 2003 avec 1,3 million de cellules l⁻¹.

- L'hypothèse la plus probable pour comprendre la mauvaise représentation pour 2003 des estimations du modèle a trait à une mauvaise identification de la composition isotopique de l'azote de la matière organique particulaire d'origine continentale. En effet, il est connu que de l'amont à l'aval d'un estuaire la valeur des $\delta^{15}\text{N}$ de la matière organique particulaire varie. Riera (1998) a montré le long du gradient de salinité du fleuve Charente jusqu'à la pointe de l'île de Ré que l'enrichissement en ^{15}N est faible. Il existe cependant un enrichissement en ^{15}N entre les stations de St-Savinien, en amont de l'estuaire, et Les Palles, à l'aval de l'estuaire externe de la Charente, avec des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ comprises entre 5,5 à 6,7 ‰ et de 6,1 à 7,5 ‰ respectivement. De la même manière, Mariotti et al. (1984) ont montré des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ en aval de l'estuaire de l'Escaut de 1,5 ‰ et des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ à l'embouchure de l'estuaire ou en mer du Nord enrichie en ^{15}N de l'ordre de 8 ‰. Des observations similaires ont également été rapportées dans l'estuaire du Tay en Ecosse par Thornton & McManus (1994) et dans l'estuaire de l'Escaut par Middelburg & Nieuwenhuize (1998). Ces enrichissements en ^{15}N sont le résultat des intenses processus biologiques de dégradation de la matière organique dans les estuaires à forte turbidité (Owens 1985). En fait, dans les systèmes estuariens, une partie du pool de matière organique provenant des fleuves est d'origine détritique en raison des processus de diagenèse dont la minéralisation microbienne (Mariotti et al. 1984, Owens 1985, Cifuentes et al. 1988). En effet, les $\delta^{15}\text{N}$ tracent les processus de décomposition de la matière organique au lieu de tracer l'origine de la source organique. La dégradation du matériel organique particulaire entraîne donc un enrichissement isotopique sur l'azote. De plus, comme le suggèrent Mariotti et al. (1984), Cifuentes et al. (1988) et Middelburg & Nieuwenhuize (1998), le phytoplancton produit dans un estuaire externe fixe une source azotée de résidu d'ammonium enrichi en ^{15}N . La matière organique en sortie de l'estuaire de

la Charente s'enrichit donc en ^{15}N et participe ainsi au pool de matière organique du bassin de Marennes-Oléron. En conséquence, les apports continentaux sont probablement surestimés par le modèle et les apports du phytoplancton néritique sous-estimés.

- Le microphytobenthos atteint des pourcentages de contributions dans la colonne d'eau très élevés en juillet et septembre 2003 difficilement explicables. L'hypothèse la plus vraisemblable est la participation de la matière organique d'origine intertidale enrichie en ^{13}C , le microphytobenthos mais également une participation d'autres productions primaires des vasières intertidales (chapitre 1), sous leur forme dégradée, au pool de matière organique particulaire. En effet, les algues vertes (dont les entéromorphes et les ulves) ainsi que les zostères sont très abondantes sur la vasière intertidale de la côte est de l'île d'Oléron ainsi que les algues vertes sur les poches à huître traditionnellement utilisées dans les parcs ostréicoles sur table. Cette production primaire doit être fragmentée et donc dégradée pour participer au pool de matériel particulaire de la colonne d'eau. Les différences isotopiques entre le matériel vivant et dégradé ne sont pas connues pour le microphytobenthos et peu détaillées chez les phanérogames marines et les macroalgues (Fenton & Ritz 1988). La décomposition du matériel organique par les micro-organismes induit des fractionnements encore mal définis, qui dépendent notamment de leurs fonctions biochimiques de nitrification/dénitrification lors de l'assimilation du carbone ou de l'azote (Mariotti et al. 1984, Coffin et al. 1994). Dans l'ensemble, les relations entre compositions isotopiques sur l'azote des bactéries et leur substrat sont mal connues (Coffin et al. 1994).

Cette dégradation de la production primaire peut également être le résultat de leur consommation par broutage des consommateurs primaires tels que le zooplancton de la colonne d'eau et l'ensemble des organismes phytophages. Les fèces de ces organismes mais également des fèces et pseudo-fèces des huîtres en culture participent également à la matière organique particulaire de la colonne d'eau (Sornin et al. 1983). Leur participation au pool de matière organique de la colonne d'eau est peu connue et, à ma connaissance, aucune estimation de leur composition isotopique n'a fait l'objet d'étude expérimentale. Ce matériel particulaire, ne doit faire l'objet que d'une ressource de faible qualité nutritionnelle principalement consommée par des organismes exclusivement détritivores, mais il a pourtant été montré que des algues piégées dans

les pseudo-fèces pouvaient expérimentalement poursuivre leur développement (Cognie & Barillé 1999)

En définitive, il est montré que dans le bassin de Marennes-Oléron d'importantes sources organiques complémentaires restent indéfinies sous la forme de matière particulaire dégradée mais également sous la forme organique dissoute (Alber & Valiela 1994a, b). Les apports continentaux présentent au fur et à mesure de leurs déplacements vers l'estuaire externe une décomposition du matériel organique. Toutes les sources organiques autochtones comme le phytoplancton néritique, ou la production intertidale sont également susceptibles de se décomposer sous l'action bactérienne. La composition isotopique de ce complexe matériel dégradé - bactéries est peu connue du fait de la difficulté d'isoler en milieu naturel les bactéries du stock de matière détritique. En conséquence, les estimations du modèle de mélange ne nous permettent donc pas de nous affranchir d'une analyse détaillée des paramètres hydrobiologiques couplée à l'analyse de la composition isotopique des sources disponibles (chapitre 1). Ces estimations sont maintenant confrontées aux estimations du régime alimentaire de l'huître.

2. Profil trophique saisonnier et spatial des sources accessibles

2.1. Evolution temporelle du régime alimentaire de *Crassostrea gigas* de Ronce-les-Bains

Les conditions d'application du modèle de mélange

Les sources de matière organique disponibles et susceptibles de contribuer au régime alimentaire de l'huître sont présentées par la figure 61. La glande digestive a été choisie afin, de rendre compte de façon temporelle de la nourriture assimilée et donc incorporée dans les tissus de l'huître. En effet, il a été montré que la glande digestive avait un renouvellement isotopique rapide et qu'il existait un délai court de l'ordre du mois sur le carbone et de la semaine sur l'azote pour que la glande digestive reflète la composition isotopique de la nourriture de la colonne d'eau

(chapitres 2 et 3). Il existe cependant un enrichissement trophique de l'ordre de 1 ‰ sur l'azote et négligeable sur le carbone (chapitre 3) qui sera pris en compte dans le calcul (Fig. 61).

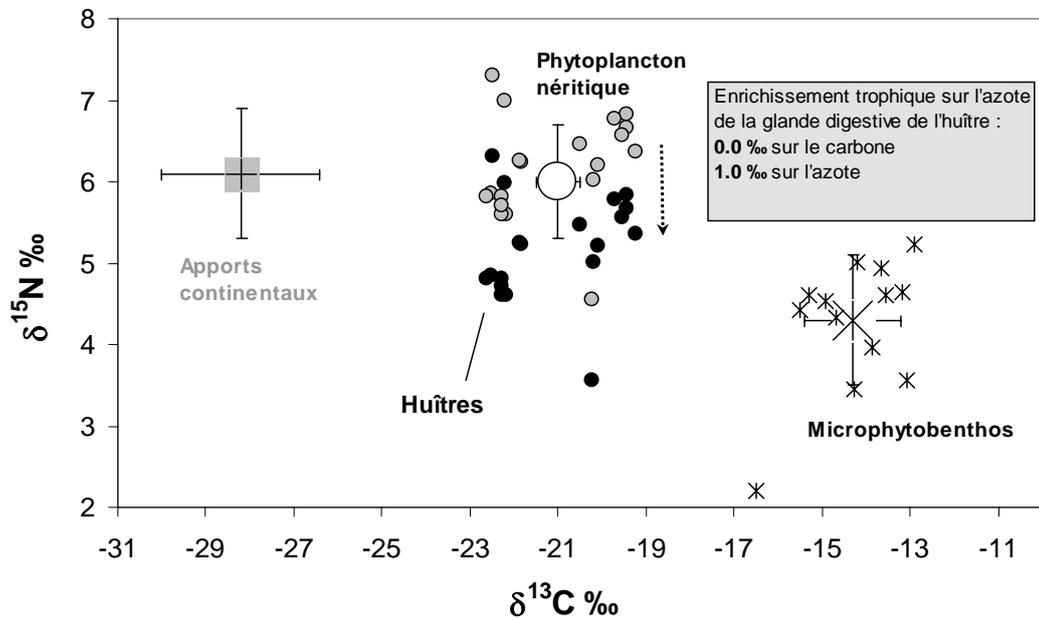


Figure 61. Composition isotopique du carbone et de l'azote des sources primaires et d'origine continentale disponibles pour l'huître et composition isotopique de la glande digestive des huîtres avant (ronds gris) et après (ronds noirs) correction de l'enrichissement trophique.

Estimations du modèle de mélange

Le profil temporel du régime alimentaire de l'huître peut être défini avec deux schémas selon la contribution majeure de deux sources de nourriture (Fig. 62 et 63) :

1) la contribution des apports continentaux (de 32 à 54 %) et du microphytobenthos (de 37 à 63 %) au printemps 2002 et 2003.

2) la contribution du phytoplancton néritique (de 53 à 77 %) et du microphytobenthos (de 21 à 37 %) en été et automne.

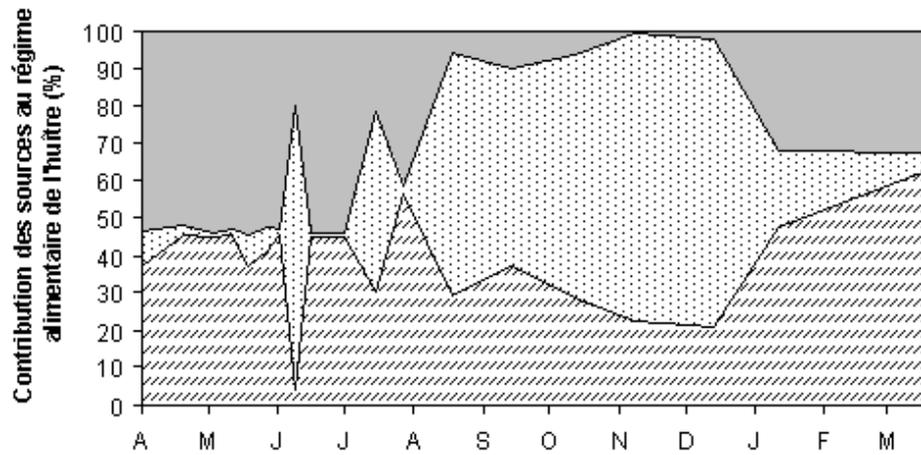


Figure 62. Evolution temporelle de la contribution des sources de nourriture au régime alimentaire de l'huître d'avril 2002 à avril 2003. Estimations du modèle de mélange Isosource (Phillips & Gregg 2003) : apports continentaux (en gris), phytoplancton néritique (pointillé) et microphytobenthos (traits obliques).

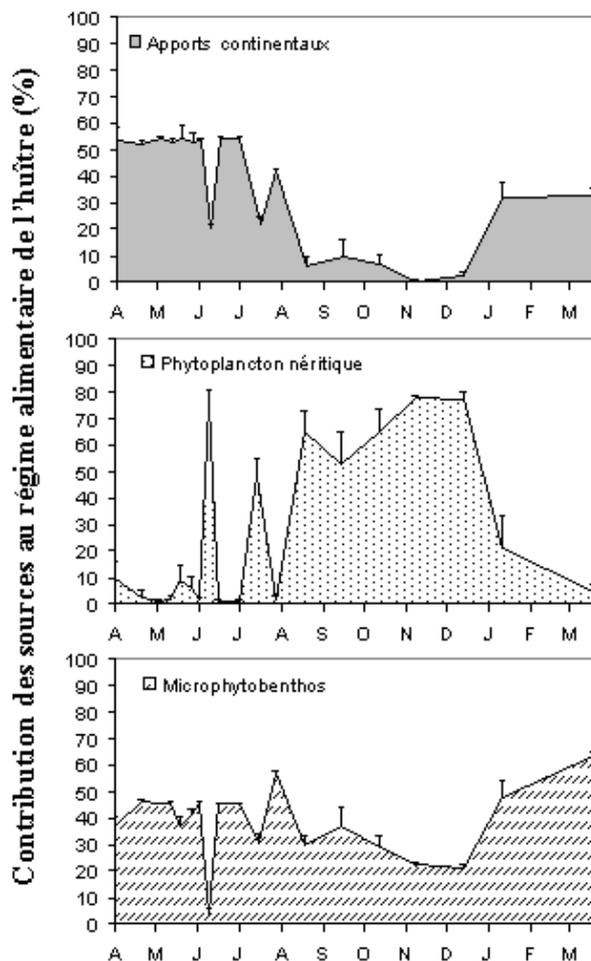


Figure 63. Contribution (\pm écart type) des sources au régime alimentaire de l'huître d'avril 2002 à avril 2003.

Accessibilité des sources de nourriture pour l'huître dans la colonne d'eau

Les apports intertidaux microphytobenthiques au régime alimentaire de l'huître sont les plus constants tout au long de l'année avec une contribution de 38 ± 14 %.

Au printemps, il existe une forte production phytoplanctonique printanière due au bloom de *Skeletonema costatum* (chapitre 1). Or, à cette même période, les fleuves charrient la matière particulaire d'origine continentale. Les deux sources de nourriture, les apports continentaux et le phytoplancton néritique, sont donc disponibles dans la colonne d'eau au printemps. Le modèle de mélange surestime probablement l'accessibilité de la source continentale et microphytobenthique au détriment du phytoplancton néritique pour l'huître.

Durant l'été et l'automne, l'huître incorpore surtout des microalgues avec majoritairement le phytoplancton néritique. La biomasse phytoplanctonique néritique estivale et automnale reste élevée. Cette source de nourriture semble rester accessible dans la colonne jusqu'à fin décembre 2002. En effet, considérant un temps d'incorporation de la nourriture de l'ordre de 1 mois, la signature "phytoplancton néritique" de l'huître est observée jusqu'à janvier 2003.

Les apports continentaux sont de nouveau accessibles pour l'huître en janvier 2003 alors que la production phytoplanctonique qui diminue (chapitre 1) devient peu accessible. Le pourcentage de microphytobenthos par rapport à celui du phytoplancton augmente alors dans la colonne d'eau à hauteur de 50 % (chapitre 1) et devient accessible pour l'huître.

Le profil temporel de contribution des sources de nourriture au régime alimentaire de l'huître reflète les sources accessibles à ce filtreur suspensivore. Au cours de l'année, le régime alimentaire de l'huître se compose essentiellement de microalgues avec le phytoplancton et le microphytobenthos remis en suspension. Nous avons observé que les apports continentaux contribuaient également à son régime alimentaire mais qu'ils étaient restreints au printemps en raison de la saisonnalité des débits fluviaux. L'huître a donc un régime alimentaire varié mais la phytophagie semble le caractère dominant en été et automne 2002. Le mode alimentaire détritivore (Langdon & Newell 1990) de l'huître ne semble exacerbé, par le modèle, qu'au printemps en

raison de la décomposition progressive du matériel particulaire charrié par le fleuve Charente et sans doute aussi de la Gironde pour le site de Ronce-les-Bains.

2.2. Evolution spatiale du régime alimentaire : contribution des sources phytoplanctoniques et phytobenthiques aux huîtres de la cartographie estivale de 2001

Les conditions d'application du modèle de mélange

Les sources de matière organique accessibles pour l'huître sont présentées dans la figure 8. Le modèle de mélange utilisé étant un modèle statique (Phillips & Gregg 2003), il n'est pas tenu compte du délai d'incorporation des compositions isotopiques par le muscle. Le tissu musculaire de l'huître a été prélevé en juillet et août 2001 (chapitre 5). D'après Deslous-Paoli & Héral, (1988) la croissance des huîtres s'effectue du printemps à l'automne. Le muscle de l'huître dont le renouvellement isotopique est lent (chapitres 2 et 3) reflète donc les sources de nourriture incorporées par ce tissu sur le long terme, de 3 à 5 mois, pendant les phases de croissances estivales de l'huître donc de l'année précédente 2000 et printanières de 2001. La composition isotopique du muscle est moyennée pour chaque sous-système trophique des Pertuis Charentais décrit dans le chapitre 5. La composition isotopique du muscle est corrigée de son enrichissement trophique sur le carbone de 1,7 ‰ et sur l'azote de 3,0 ‰ (chapitre 3) (Fig. 64).

J'ai choisi de présenter l'évolution spatiale de la contribution des sources microalgales en distinguant les apports pélagiques des apports benthiques. Les apports continentaux ne sont pas pris en compte car 1) toutes les valeurs isotopiques du muscle, corrigées de l'enrichissement trophique, apparaissent intermédiaires entre les deux sources microalgales, 2) il existe à l'échelle du bassin de Marennes-Oléron une gradation de la phytophagie à l'omnivorie selon l'âge des huîtres qui implique des variations des valeurs de $\delta^{15}\text{N}$ et 3) il existe une incertitude sur l'identification du matériel particulaire détritique de la colonne d'eau, largement représenté dans les apports continentaux, induisant certainement des erreurs sur les estimations du modèle.

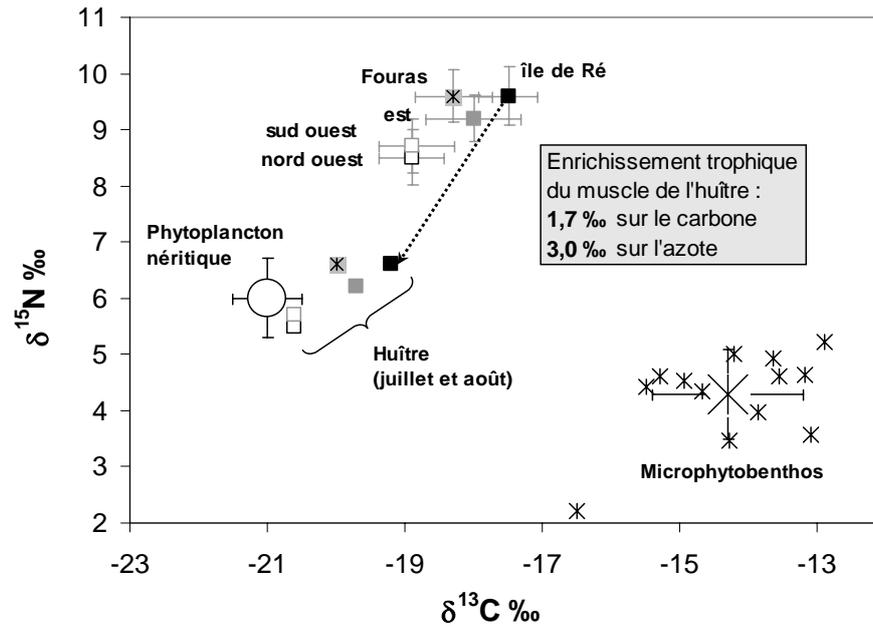


Figure 64. Composition isotopique du carbone et de l'azote des sources de nourriture accessibles à l'huître et du muscle des huîtres prélevées de juillet à août 2001 dans les Pertuis Charentais selon les sous-systèmes trophiques décrits dans le chapitre 5. La composition isotopique du muscle est corrigée de son enrichissement trophique sur le carbone et l'azote. Les sources microalgales sont représentées en référence à leur forte contribution au régime omnivore préférentiellement phytophage de l'huître.

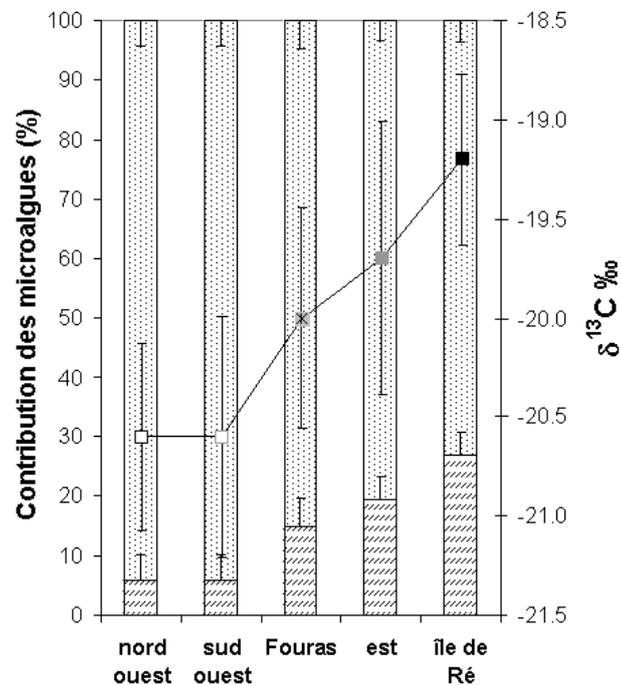


Figure 65. Contributions (\pm écart type) des sources phytoplanctoniques (pointillé) et phytobenthiques (traits obliques) au régime alimentaire de l'huître en relation avec les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ (\pm écart type) du muscle (courbe).

Résultats du modèle de mélange

La contribution du microphytobenthos augmente pour les huîtres situées à l'est du bassin de Marennes-Oléron et à l'embouchure du fleuve Charente (de 15 à 19 %) par rapport aux huîtres du nord ouest et sud ouest du bassin (6 %) en relation avec un enrichissement en ^{13}C de la composition isotopique du muscle (Fig. 65). Les huîtres cultivées sur l'île de Ré bénéficient également largement de la production microphytobenthique.

En fonction de la situation des parcs ostréicoles dans le Pertuis Charentais et en particulier le bassin de Marennes-Oléron, l'accessibilité entre les microalgues pélagiques et benthiques remises en suspension est différente avec de 6 à 30 % de contribution microphytobenthique au régime alimentaire de l'huître.

En définitive, il apparaît que l'utilisation du modèle de mélange IsoSource ne semble pas adaptée à l'estimation de la contribution des sources au pool du matériel organique particulaire de la colonne d'eau du bassin de Marennes-Oléron dans l'état actuel de nos connaissances sur l'identification des sources primaires. En effet, il existe une variabilité de la composition isotopique des apports continentaux de l'amont à l'aval de l'estuaire externe de la Charente induisant une difficulté à positionner sur le plan dual $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ les valeurs de ces apports disponibles. De plus, l'intégration de ces sources sous forme particulaire induit des processus de dégradation du matériel organique encore peu connus. Dans ce cas, l'utilisation d'un modèle de mélange ne peut se soustraire à une interprétation couplée de la composition isotopique de la matière organique et de paramètres hydrobiologiques pertinents (Galois et al. 1996, Meziane et al. 1997, Kharlamento et al. 2001) comme le suggéraient Cloern et al. (2002).

L'utilisation du modèle de mélange rend compte de meilleures estimations concernant l'accessibilité des sources pour l'huître. En effet, les profils temporels de contributions des sources au régime alimentaire de l'huître coïncident avec les interprétations, alliant paramètres hydrobiologiques et composition isotopique de la matière organique particulaire, mises en avant

dans le chapitre 1. L'huître filtreur suspensivore se nourrit préférentiellement de microalgues vivantes benthiques et pélagiques (Bougrier et al. 1997). Les résultats du modèle de mélange sous-estiment donc probablement la part de la matière particulaire détritique de la colonne d'eau excepté pendant les événements majeurs d'apport de matériel continental par le fleuve Charente. En contrepartie, l'huître omnivore préférentiellement phytophage s'avère être alors un bon indicateur de l'accessibilité de la ressource microalgale dans la colonne d'eau.

L'huître en période printanière et estivale s'avère refléter la prédominance des ressources microalgales dans la colonne d'eau des estrans ostréicoles des Pertuis Charentais bien qu'elle puisse, de par ses capacités d'omnivorie, refléter aussi des conditions trophiques exceptionnelles enrichies en matériel détritique comme décrit en période hivernale (Riera & Richard 1997, Riera 1998). L'assimilation, des bactéries associées à ce matériel en décomposition, via la boucle microbienne, mais également des bactéries libres dans la colonne d'eau, est un phénomène, par ailleurs étudié (Crosby et al. 1989, Crosby et al. 1990), pouvant fournir jusqu'à 6 % des besoins en carbone et 30 % des besoins en azote de l'huître *Crassostrea virginica* (Langdon & Newell 1990). Ces conclusions, non contradictoires, illustrent alors bien la notion de tropho-indicateur, capable de s'adapter et de refléter les variations spatio-temporelles des environnements nutritionnels des organismes phytophages à tendance omnivore.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Conclusion générale

L'objectif de cette étude a été de caractériser l'origine des sources de matière organique et leur devenir dans le réseau trophique de la zone littorale des Pertuis Charentais et, plus particulièrement, du bassin de Marennes-Oléron. L'origine de ces sources de matière organique et leur devenir lors du transfert vers les consommateurs primaires dans un tel écosystème estuarien, par nature complexe, ont été étudiés dans un cas simplifié c'est-à-dire pour l'huître creuse *Crassostrea gigas*, suspensivore épigé majoritaire en terme de biomasse dans le bassin de Marennes-Oléron (Héral et al. 1989) à partir des techniques de traçage isotopique naturel.

L'interprétation des signaux isotopiques observés chez l'huître creuse et de leur variabilité spatio-temporelle a nécessité de qualifier les mécanismes impliqués dans l'acquisition de la signature isotopique de l'huître. Les temps caractéristiques de ces mécanismes, en termes de fractionnement trophique, cinétique d'incorporation et différences de comportement physiologique des organes, sont maintenant clairement identifiés et quantifiés. Sont ainsi mis en évidence, la prééminence d'interactions entre la variabilité spatio-temporelle des sources trophiques et les processus physiologiques de l'huître, processus directement liés à la croissance et à la reproduction.

En définitive, ressortent de la démarche descriptive et cognitive proposée à travers l'étude de la relation huître creuse – environnement deux idées principales.

1) la validation de l'hypothèse « tropho-indicateur huître » permettant d'utiliser le signal isotopique de l'huître creuse comme indicateur des conditions trophiques des environnements estuariens et littoraux. En effet :

- cet organisme suspensivore, par l'intermédiaire de son signal isotopique, rend fidèlement compte de l'incorporation de la matière organique particulaire disponible telle qu'elle peut apparaître dans un bassin ostréicole comme Marennes-Oléron et plus généralement sur les zones intertidales des Pertuis Charentais,

- les signaux isotopiques relevés chez les différents organes de l'huître présentent, vis-à-vis de ceux observés sur la colonne d'eau environnante, des asynchronismes caractéristiques des temps d'intégration physiologique tissulaire. Ces temps d'intégration s'échelonnent sur plusieurs échelles de temps, depuis la semaine pour la glande digestive à quelques mois pour le muscle,
- chacun des signaux isotopiques observés chez l'huître et ses différents organes est cependant la résultante d'influences extrinsèques ou trophiques auxquelles s'ajoutent les influences intrinsèques dues aux remaniements physiologiques et, en particulier, ceux liés à la gestion des réserves énergétiques pour soutenir la maturation gonadique. Ces remaniements physiologiques ne concernent pas tous les organes et ceux qu'ils impliquent, comme la glande digestive ou le manteau pour alimenter le développement puis la maturation gonadique, présentent de façon transitoire une modification prévisible et quantifiable de leurs signaux isotopiques générés par les apports trophiques.

2) L'obligation de recourir à une méthode d'investigation dynamique et d'abandonner les méthodes d'interprétation statique. En effet :

- dans un écosystème sous influence estuarienne, la variabilité temporelle s'exerce à tous niveaux, tout d'abord sur la production primaire, sa disponibilité puis à travers les relations environnement – consommateur sur son accessibilité. A cette variabilité extrinsèque au consommateur, par exemple l'huître, s'ajoute une variabilité intrinsèque relative aux filtrages physiologiques (nutrition, croissance, reproduction) qui s'exercent à des échelles d'intégration différentes. Cette approche dynamique n'est pas foncièrement nouvelle car elle s'appuie sur les propositions de Gannes et al. (1997) et Herzka (2005). Elle s'oppose, de façon fondamentale, à l'approche classique d'interprétation simpliste des graphiques duaux $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ où sont juxtaposées les compositions isotopiques des sources potentiellement disponibles et celles des consommateurs. Cette nouvelle approche reste à promouvoir.

Perspectives

Des sources de matière organique primaire à leurs transferts trophiques dans les tissus, comme montré chez le consommateur primaire l'huître *Crassostrea gigas*, les résultats de cette étude ont mis en exergue qu'il subsistait des écueils à l'utilisation des isotopes stables naturels du carbone et de l'azote en écologie trophique. Les difficultés d'identification des signatures isotopiques des sources de matière organique engendrent par exemple une mésestimation de leurs contributions au pool de matière organique particulaire de la colonne d'eau. En contre partie, l'utilisation de ces isotopes stables et particulièrement la prise en compte de leurs dynamiques d'incorporation dans les tissus de l'huître ont potentiellement révélées de nouvelles actions de recherches visant à compléter notre connaissance de l'écologie trophique de l'huître mais également des applications qui découlent de ces travaux.

1. Identification des sources de matière organique dans la colonne d'eau et fonctionnement hydrobiologique des systèmes littoraux

L'utilisation conjointe de paramètres hydrobiologiques (charge particulaire, concentration en pigments chlorophylliens, rapports C/N et POC/Chl *a*), du suivi de la biomasse microalgale avec les rapports phytoplancton / phytobenthos remis en suspension dans la colonne d'eau et des compositions en isotopes stables de la matière organique particulaire s'est montrée pertinente pour l'étude de la contribution des apports allochtones et autochtones au pool de matière organique en suspension. Cette démarche reste cependant chronophage en terme d'acquisition de données *in situ* ien que la plupart de ces paramètres soit acquise en routine mais également en terme de traitement de cette somme d'information. Or l'analyse isotopique est un outil de synthèse relativement simple et rapide qui doit être optimisé pour chaque cas. Il conviendrait donc de compléter la caractérisation des différentes sources de matière organique avec en particulier l'identification de la

matière particulaire détritique et des bactéries mais également du microzooplancton et d'évaluer leur dynamique spatiale et temporelle sous l'effet des contraintes physiques et biologiques (périodes d'efflorescences phytoplanctoniques et microphytobenthiques, périodes d'étiage prolongé ou crues de forte amplitude). Sur le plan méthodologique, ces perspectives de recherche devront s'appuyer sur des approches combinées d'analyse de la matière organique particulaire :

1) l'analyse de biomarqueurs spécifiques du matériel organique tels que les lipides (Canuel et al. 1995, Galois et al. 1996) et l'analyse isotopique des composés spécifiques du matériel détritique (AICS) permettraient de discriminer le pool détritique participant au pool de matière organique et particulièrement aux apports continentaux (Boschker et al. 2000, Middelburg et al. 2000). L'AICS sera développée dans une seconde partie.

2) des expérimentations portant sur l'effet de la décomposition du matériel organique et particulièrement de la production primaire des vasières intertidales (microphytobenthos, zostères, macroalgues) sur la composition isotopique de ces sources pourraient être conduites.

Un second point est apparu essentiel au vu des premiers résultats concernant la composition isotopique de la matière organique de trois systèmes hydrologiques proches, les Pertuis Breton et d'Antioche et le bassin de Marennes-Oléron. Ces résultats n'ont pas été présentés dans ce manuscrit mais les échantillonnages hydrologiques ainsi que l'analyse des paramètres hydrobiologiques et de la composition en isotopes stables de la matière organique ont été réalisés. Tout en restant prudent sur d'éventuelles interprétations et discussions qui restent à développer, il semble évident qu'il existe une différence de fonctionnement entre ces systèmes littoraux. Il semblerait que le système Marennes-Oléron soit largement influencé par la contribution des apports intertidaux au pool de matière organique, ce qui engendre des compositions isotopiques de la matière organique très enrichie en ^{13}C (cf. année de la sécheresse de 2003) au contraire du système Pertuis Breton et d'Antioche (Fig. 66). La variabilité interannuelle des compositions isotopiques de la matière organique du bassin de Marennes-Oléron (chapitre 1) ne s'exercerait donc pas dans les Pertuis d'Antioche et Breton. Une étude spatialisée hydrologique et isotopique sur ces deux types de systèmes me semble donc indispensable à la compréhension de ces variabilités interannuelles.

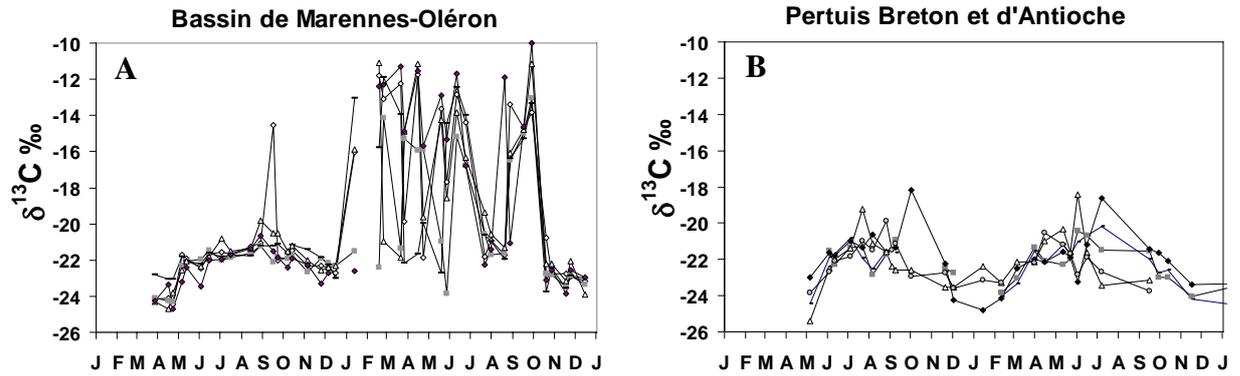


Figure 66. Evolution temporelle du $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique particulaire du bassin de Marennes-Oléron de janvier 2002 à décembre 2003 (Les Fontenelles, Boyard, Le Chapus, Auger, Mus de Loup) (A) et du Pertuis Breton et d'Antioche de mai 2002 à janvier 2004 (Filière, Eperon, La Carrelère, le Cornard, Île d'Aix)(B) (Voir le détail des stations dans le chapitre 5.)

2. Transferts trophiques de matière organique vers un consommateur primaire

2.1. Analyse Isotopique des Composés Spécifiques aux faibles niveaux trophiques

L'analyse isotopique des composés spécifiques (AICS) est permise par le développement de la GC-C-IRMS (Gas Chromatography-Combustion-Isotope Ratio Mass Spectrometry). Initialement, l'analyse isotopique des biomarqueurs avait pour but de discriminer les groupes microbiens au sein des sédiments. Au lieu de séparer les micro-organismes de la matrice sédimentaire, seule la présence et la concentration de molécules spécifiques sont mesurées au sein du mélange de matière organique. Les biomarqueurs sont idéalement des macromolécules dont la synthèse est restreinte à certains groupes. Il s'agit donc de molécules à forte spécificité. La détection de ces biomarqueurs traduit la présence d'un groupe de micro-organismes (algues, champignons, bactéries...). L'analyse de la composition isotopique de ces biomarqueurs peut permettre d'augmenter leur pouvoir discriminant. Depuis, l'analyse isotopique des composés spécifiques a été étendue à l'étude des réseaux trophiques et a permis, notamment à partir de marquages artificiels au ^{13}C , de suivre les voies de transfert du carbone détritique dans les compartiments microbiens (Boschker et al. 1999, Boschker & Middelburg 2002). Parmi les composés spécifiques étudiés, figurent les acides aminés et les acides gras des phospholipides. L'idée générale de l'AICS appliquée à l'étude des réseaux trophiques repose sur la notion de

nutriments essentiels ou non essentiels et la détermination des enrichissements isotopiques associés. Les fractionnements isotopiques utilisés dans l'analyse isotopique, dite « classique », entre la nourriture et un tissu ou le corps entier du consommateur reposent sur l'hypothèse que tous les acides aminés ou tous les acides gras subissent le même devenir métabolique et montrent, par conséquent, le même fractionnement isotopique lors d'une transition trophique. Or les acides gras ou acides aminés essentiels ne subissent aucune transformation entre la digestion des tissus de la proie et leur intégration dans les tissus du consommateur et donc aucune différence isotopique entre leur valeur isotopique dans la nourriture et dans les tissus du consommateur. Il s'agit cependant d'une analyse qui reste onéreuse.

2.2. Influence de l'âge des huîtres sur leurs accessibilités aux sources de nourriture

L'étude spatialisée sur la signature isotopique du muscle des huîtres a révélé qu'il existait une différence isotopique sur l'azote. Elle est interprétée chez l'huître comme une gradation de son mode alimentaire de la phytophagie à l'omnivorie en fonction de l'âge de l'huître. Il semblerait que le phytoplancton pur constitue une source de nourriture préférentielle pour les petites huîtres alors que les plus grandes ont accès à une alimentation plus variée présente dans les eaux à forte charge particulaire (phytoplancton, phytobenthos, complexe détritique – bactéries, microzooplancton). Des travaux expérimentaux seraient donc à entreprendre afin de vérifier l'hypothèse de ce comportement alimentaire en fonction de l'âge et si comme nous le supposons ce comportement est lié à une capacité de filtration accrue des huîtres de plus grandes tailles.

2.3. Suivi des translocation d'huîtres

Les organismes incorporent dans leurs tissus, par l'intermédiaire du transfert trophique, la signature en isotopes stables naturels de leur environnement nutritionnel. C'est ce qui a été montré dans le cas d'huîtres transplantées de l'estuaire de L'Escaut au bassin de Marennes-Oléron (chapitre 2). De plus, chaque tissu incorpore la composition isotopique de la nourriture avec un taux de renouvellement isotopique différent. Par exemple, la glande digestive incorpore rapidement

et avec de courts délais, de l'ordre de un mois sur le carbone et une semaine sur l'azote (chapitres 2 et 3), la signature isotopique de l'environnement nutritionnel. Il est alors vraisemblable, dès lors que la composition isotopique de la matière organique accessible aux huîtres est identifiée et distincte, de suivre la transplantation des organismes entre deux systèmes. Par exemple, la composition isotopique du carbone de la matière organique de la colonne d'eau du bassin de Marennes-Oléron à Ronce-les-Bains est en moyenne égale à $21,6 \pm 1,1$ ‰ alors qu'elle est appauvrie en ^{13}C en claire ostréicole avec des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ de $24,6 \pm 1,8$ ‰ (données non présentées). Il est donc envisageable de suivre l'évolution du signal isotopique d'huîtres transplantées en claire ostréicole et le temps nécessaire au renouvellement isotopique de leurs tissus. Les huîtres sont transplantées en claire ostréicole, riche en biomasse phytoplanctonique, pour une ultime phase de préparation afin d'améliorer la qualité de leur chair et leur saveur. Certaines claires permettent également le verdissement de l'huître grâce à la diatomée, la navicule bleue *Haslea ostrearia*. Quatre labels existent en fonction du temps d'affinage, de la densité des huîtres par m² et de la qualité de la chair : fine de claires, fines de claires label rouge, spéciales de claires et pousse en claire. L'analyse des isotopes stables pourrait donc permettre de suivre l'acquisition par l'huître du «terroir Marennes-Oléron» et ainsi pourrait s'avérer être un outil de surveillance des temps d'affinage et un outil décisionnel en terme d'acquisition du terroir.

2.4. Modélisation de la composition isotopique de l'huître

Un travail préliminaire de modélisation de la signature isotopique de l'huître, en collaboration avec C. Bacher, sous Stella 8.0[®], a été entrepris avec comme objectif premier de montrer qu'il était possible de prédire la signature isotopique de l'huître grâce à l'utilisation d'un modèle dynamique de croissance (Ren & Ross 2001) (Fig. 67). Ce modèle permet de simuler la croissance des huîtres *Crassostrea gigas* du Bassin de Marennes-Oléron et indique que la croissance de l'huître est largement influencée par la biomasse phytoplanctonique. Ce modèle a ensuite été modifié afin que deux sources de nourriture soient prises en compte, le phytoplancton néritique de composition isotopique en carbone égale à -21 ‰ et le matériel détritique auquel est attribué une composition isotopique égale à -25 ‰. L'ensemble du modèle fonctionnant en carbone

a ensuite été converti en carbone 13. Les résultats préliminaires présentés dans la figure 67 sont simulés à partir d'une efficacité d'assimilation de 0,7 pour le phytoplancton et de 0,15 pour le matériel détritifique conformément aux estimations de Barillé (1995).

Ce travail pourrait ainsi être poursuivi dans le but de décrire la dynamique temporelle des rapports isotopique d'isotopes stables chez les huîtres grâce à la mise au point d'un modèle basé sur la bioénergétique qui relie les rapports isotopiques à la croissance, elle-même influencée par la température, les sources de nourriture incorporées et les taux d'assimilation associés. Cet outil offrirait ainsi une alternative dynamique, récemment initiée chez les poissons par Harvey et al. (2001), aux modèles statiques des modèles de mélange linéaire décrits par Phillips & Gregg (2001, 2003).

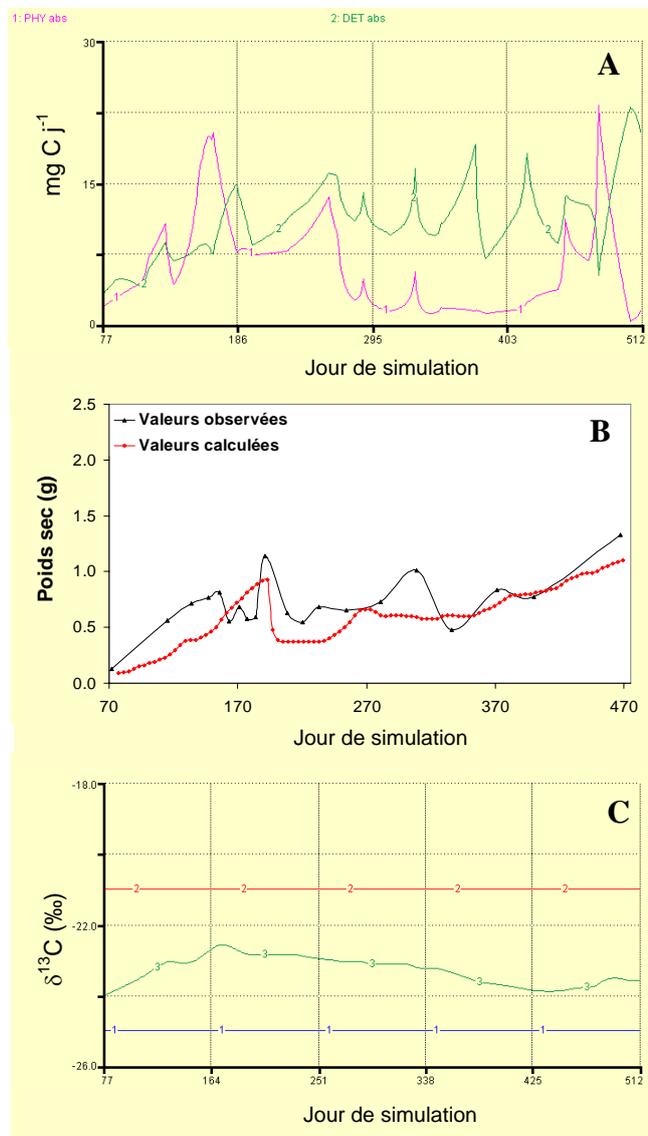


Figure 67. A) Assimilation du phytoplancton (rose) et du matériel détritifique (vert) en mg C jour^{-1} , B) Poids sec observés et calculés (g) et C) $\delta^{13}\text{C}$ de l'huître (vert) entre la valeur isotopique du phytoplancton (rouge) et du matériel détritifique (bleu).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abal EG, Loneragan N, Bowen P, Perry CJ, Udy JW, Dennison WC (1994) Responses of the seagrass *Zostera capricorni* Aschers, to light intensity. *J Exp Mar Biol Ecol* 178:113-129
- Adams TS, Sterner RW (2000) The effect of dietary nitrogen content on trophic levels ¹⁵N enrichment. *Limnol Oceanogr* 45:601-607
- Alber M, Valiela I (1994a) Incorporation of organic aggregates by marine mussel. *Mar Biol* 121:259-265
- Alber M, Valiela I (1994b) Production of microbial organic aggregates from macrophyte-derived dissolved organic material. *Limnol Oceanogr* 39:37-50
- Anonyme (2003) Résultats de la surveillance de la qualité du milieu marin littoral, IFREMER, Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral, LERPC La Rochelle & La Tremblade, 64 p
- Bacher C (1989) Capacité trophique du bassin de Marennes-Oléron : couplage d'un modèle de transport particulaire et d'un modèle de croissance de l'huître *Crassostrea gigas*. *Aquat Living Resour* 2:199-214
- Bardonnet A, Riera P (2005) Feeding of glass eels (*Anguilla anguilla*) in the course of their estuarine migration: new insights from stable isotope analysis. *Estuar Coast Shelf Sci* 63:201-209
- Barillé L, Prou J, Héral M, Bougrier S (1993) No influence of food quality, but ration-dependent retention efficiencies in the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *J Exp Mar Biol Ecol* 171:91-106
- Barillé L (1995) Ecophysiologie de l'alimentation de l'huître *Crassostrea gigas* soumise aux variations naturelles et contrôlées de la nourriture particulaire : de l'ultrastructure à la modélisation. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, 179 p

- Barillé L, Prou J, Héral M, Razet D (1997) Effect of high natural seston concentration on the feeding, selection and absorption of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). J Exp Mar Biol Ecol 212:149-172
- Barillé L, Haure J, Cognie B, Leroy A (2000) Variations in pallial organs and eulatero-frontal cirri in response to high particulate matter concentrations in the oyster *Crassostrea gigas*. Can J Fish Aquat Sci 57:837-843
- Bassoullet P, Le Hir P, Gouleau D, Robert S (2000) Sediment transport over an intertidal mudflat: field investigations and estimation of fluxes within the "Baie de Marennes-Oléron" (France). Cont Shelf Res 20:1635-1653
- Baud J-P, Bacher C (1990) Use of saline ground water for intensive rearing of *Ruditapes philippinarum* juveniles in a nursery system. Aquaculture 88:157-178
- Bayne BL (1976) Aspects of reproduction in bivalve molluscs. In: Wiley M (ed) Estuarine processes, Vol 1. Uses, stresses and adaptation to the estuary. Academic Press, London, 432-448 pp
- Bayne BL, Hawkins AJS, Navarro JM (1987) Feeding and digestion by the mussel *Mytilus edulis* L. (Bivalvia : Mollusca) in mixtures of silt and algal cells at low concentrations. J Exp Mar Biol Ecol 111:1-22
- Bayne BL, Hawkins AJS, Navarro JM, Iglesias IP (1989) Effects of seston concentration on feeding, digestion and growth in the mussel *Mytilus edulis*. Mar Ecol Prog Ser 55:47-54
- Beaumont AR, Fairbrother JE (1991) Ploidy manipulation in molluscan shellfish: a review. Journal of Shellfish Research 10:1-18
- Ben-David M, Schell DM (2001) Mixing model in analyses of diet using multiple stable isotopes: a response. Oecologia 127:180-184
- Berg JA, Newell RIE (1986) Temporal and spatial variations in the composition of seston available to the suspension feeder *Crassostrea virginica*. Estuar Coast Shelf Sci 23:375-386
- Berthelin C, Kellner K, Mathieu M (2000) Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France). Comp Biochem Physiol 125B:359-369

- Blanchard GF, Cariou-Le-Gall V (1994) Photosynthetic characteristics of microphytobenthos in Marennes-Oléron Bay, France: preliminary results. *J Exp Mar Biol Ecol* 182:1-14
- Boschker HTS, De Brouwer JFC, Cappenberg TE (1999) The contribution of macrophyte-derived organic matter to microbial biomass in salt-marshes sediments: stable carbon isotope analysis of microbial biomarkers. *Limnol Oceanogr* 44:309-319
- Boschker HTS, Wielemaker A, Schaub BEM, Holmer M (2000) Limited coupling of macrophyte production and bacterial carbon cycling in the sediments of *Zostera* spp. meadows. *Mar Ecol Prog Ser* 203:181-189
- Boschker HTS, Middelburg JJ (2002) Stable isotopes and biomarkers in microbial ecology. *FEMS Microbiol Ecol* 40:85-95
- Bosley KL, Witting DA, Chambers RC, Wainright SC (2002) Estimating turnover rates of carbon and nitrogen in recently metamorphosed winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* with stable isotopes. *Mar Ecol Prog Ser* 236:233-240
- Bougrier S, Hawkins AJS, Héral M (1997) Preingestive selection of different microalgal mixtures in *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis*, analysed by flow cytometry. *Aquaculture* 150:123-134
- Bouillon S, Chandra Mohan P, Sreenivas N, Dehairs F (2000) Sources of suspended organic matter and selective feeding by zooplankton in an estuarine mangrove ecosystem as traced by stable isotopes. *Mar Ecol Prog Ser* 208:79-92
- Bouillon S, Raman AV, Dauby P, Dehairs F (2002) Carbon and nitrogen stable isotope ratios of subtidal benthic invertebrates in an estuarine mangrove ecosystem (Andhra Pradesh, India). *Estuar Coast Shelf Sci* 54:901-913
- Bouillon S, Koedam N, Baeyens W, Satyanarayana B, Dehairs F (2004) Selectivity of subtidal benthic invertebrate communities for local microalgal production in an estuarine mangrove ecosystem during the post-monsoon period. *J Sea Res* 51:133-144
- Cai D-L, Tan F-C, Edmond JM (1988) Sources and transport of particulate organic carbon in the Amazon river and estuary. *Estuar Coast Shelf Sci* 26:1-14

- Canuel EA, Cloern JE, Ringelberg DB, Guckert JB, Rau GH (1995) Molecular and isotopic tracers used to examine sources of organic matter and its incorporation into the food webs of San Francisco Bay. *Limnol Oceanogr* 40:67-81
- Cariou-Le Gall V, Blanchard GF (1995) Monthly HPLC measurements of pigment concentration from an intertidal muddy sediment of Marennes-Oléron Bay, France. *Mar Ecol Prog Ser* 121:171-179
- Cartier S, Pellerin J, Fournier M, Tamigneaux E, Girault L, Lemaire N (2004) Use of an index based on the blue mussel (*Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*) digestive gland weight to assess the nutritional quality of mussel farm sites. *Aquaculture* 241:633-654
- Cifuentes LA, Sharp JH, Fogel ML (1988) Stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry in the Delaware estuary. *Limnol Oceanogr* 33:1102-1115
- Cifuentes LA, Coffin RB, Solorzano L, Cardenas W, Espinoza J, Twilley RR (1996) Isotopic and elemental variations of carbon and nitrogen in a mangrove estuary. *Estuar Coast Shelf Sci* 43:781-800
- Cloern JE, Canuel EA, Harris D (2002) Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system. *Limnol Oceanogr* 47:713-729
- Coffin RB, Cifuentes LA, Elderidge PM (1994) The use of stable carbon isotopes to study microbial processes in estuaries. In: Lajtha K, Michener RH (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific, London, 222-240 pp
- Cognie B, Barillé L (1999) Does bivalve mucus favour the growth of their main food source, microalgae? *Oceanol Acta* 22:441-450
- Cognie B (2001) Alimentation de l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg) : étude des mécanismes de sélection des particules et des processus rétroactifs entre le bivalve et les microalgues. Thèse de doctorat, Université de Nantes, 152 p
- Cognie B, Barillé L, Massé G, Beninger PG (2003) Selection and processing of large suspended algae in the oyster *Crassostrea gigas*. *Mar Ecol Prog Ser* 250:145-152

- Conkright ME, Sackett WM (1986) A stable carbon isotope evaluation of the contribution of terrigenous carbon to the marine food web in Bayboro Harbor, Tampa Bay, Florida. *Contrib Mar Sci* 29:131-139
- Cook PLM, Revill AT, Clementson LA, Volkman JK (2004) Carbon and nitrogen cycling on intertidal mudflats of a temperate Australian estuary. III. Sources of organic matter. *Mar Ecol Prog Ser* 280:55-72
- Crosby MP, Langdon CJ, Newell RIE (1989) Importance of refractory plant material to the carbon budget of the oyster *Crassostrea virginica*. *Mar Biol* 100:343-352
- Crosby MP, Newell RIE, Langdon CJ (1990) Bacterial mediation in the utilization of carbon and nitrogen from detrital complexes by *Crassostrea virginica*. *Limnol Oceanogr* 35:625-639
- Currin CA, Newell SY, Paerl HW (1995) The role of standing dead *Spartina alterniflora* and benthic microalgae in salt marsh food webs: considerations based on multiple stable isotope analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 121:99-116
- Dalsgaard J, John MS (2004) Fatty acid biomarkers: validation of food web and trophic markers using ^{13}C -labelled fatty acids in juvenile sandeel (*Ammodytes tobianus*). *Can J Fish Aquat Sci* 61:1671-1680
- Dame RF (1996) Ecology of marine bivalves. An ecosystem approach. CRC Marine Science Series Press, Boca Raton, 254 p
- Dattagupta S, Bergquist DC, Szalai EB, Macko SA, Fisher CR (2004) Tissue carbon, nitrogen, and sulfur stable isotope turnover in transplanted *Bathymodiolus childressi* mussels: relation to growth and physiological condition. *Limnol Oceanogr* 49:1144-1151
- Dauby P (1989) The stable carbon isotope ratios in benthic food webs of the Gulf of Calvi, Corsica. *Cont Shelf Res* 9:181-195
- Davenport SR, Bax NJ (2002) A trophic study of a marine ecosystem off southeastern Australia using stable isotopes of carbon and nitrogen. *Can J Fish Aquat Sci* 59:514-530
- De Brabandere L, Dehairs F, Van Damme S, Brion N, Meire P, Daro N (2002) $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ dynamics of suspended organic matter in freshwater and brackish waters of the Scheldt estuary. *J Sea Res* 48:1-15

- de Jonge VN (1985) The occurrence of "epipsammic" diatom population: a result of interaction between physical sorting of sediment and certain properties of diatoms species. *Estuar Coast Shelf Sci* 21:607-622
- de Jonge VN, Van Beusekom JEE (1992) Contribution of resuspended microphytobenthos to total phytoplankton in the Ems Estuary and its possible role for grazers. *Neth J Sea Res* 30:91-105
- de Jonge VN, Van Beusekom JEE (1995) Wind- and tide-induced resuspension of sediment and microphytobenthos from tidal flats in the Ems estuary. *Limnol Oceanogr* 40:766-778
- de la Higuera M, Akharbach H, Hidalgo MC, Peragón J, Lupiáñez JA, García-Gallego M (1999) Liver and white muscle protein turnover rates in the European eel (*Anguilla anguilla*): effects of dietary protein quality. *Aquaculture* 179:203-216
- Dechambenoy C, Pontier L, Sirou F, Vouvé J (1977) Apport de la thermographie infrarouge aéroportée à la connaissance de la dynamique superficielle des estuaires (système Charente-Seudre-anse de l'Aiguillon). *CR Acad Sci Paris* 284:1269-1272
- Dègrémont L, Bédier E, Soletchnik P, Ropert M, Huvet A, Moal J, Samain J-F, Boudry P (2005) Relative importance of family, site, and field placement timing on survival, growth, and yield of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture* 249:213-229
- DeNiro MJ, Epstein S (1977) Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* 197:261-263
- DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 42:495-506
- DeNiro MJ, Epstein S (1981) Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 45:341-351
- Deslous-Paoli JM, Zanette Y, Héral M, Massé H, Garnier J (1982) Amélioration de la forme et de la qualité de l'huître *Crassostrea gigas* Thunberg dans les claires de Marennes-Oléron. *Rev Trav Inst Pêches Marit* 45:181-194

- Deslous-Paoli JM, Héral M (1988) Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. *Aquat Living Resour* 1:239-249
- Doi H, Matsumasa M, Toya T, Satoh N, Mizota C, Maki Y, Kikuchi E (2005) Spatial shifts in food sources for macrozoobenthos in an estuarine ecosystem: carbon and nitrogen stable isotope analyses. *Estuar Coast Shelf Sci* 64:316-322
- Doucett RR, Booth RK, Power G, McKinley RS (1999) Effects of the spawning migration on the nutritional status of anadromous Atlantic salmon (*Salmo salar*): insights from stable-isotope analysis. *Can J Fish Aquat Sci* 56:2172-2180
- Drebes G (1974) *Marines Phytoplankton*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 186 p
- Dupras TL, Schwarcz HP (2001) Strangers in a strange land: stable isotope evidence for human migration in the Dakhleh oasis, Egypt. *J Archaeol Sci* 28:1199-1208
- Dupuy C (1999) Rôle fonctionnel des protistes hétéro/mixotrophes dans le réseau trophique d'un écosystème conchylicole : le marais atlantique. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, 83 p
- Dupuy C, Le Gall S, Hartmann HJ, Bréret M (1999) Retention of ciliates and flagellates by the oyster *Crassostrea gigas* in French Atlantic coastal ponds: protists as a trophic link between bacterioplankton and benthic suspension-feeders. *Mar Ecol Prog Ser* 177:165-175
- Dupuy C, Pastoureaud A, Ryckaert M, Sauriau P-G, Montanié H (2000a) Impact of the oyster *Crassostrea gigas* on a microbial community in Atlantic coastal ponds near La Rochelle. *Aquat Microb Ecol* 22:227-242
- Dupuy C, Vaquer A, Lam-Hoai T, Rougier C, Mazouni N, Lautier J, Collos Y, Le Gall S (2000b) Feeding rate of the oyster *Crassostrea gigas* in a natural planktonic community of the Mediterranean Thau Lagoon. *Mar Ecol Prog Ser* 205:171-184
- Estep MF, Dabrowski H (1980) Tracing food webs with stable hydrogen isotopes. *Science* 209:1537-1538
- Faganeli J, Malej A, Pezdic J, Malacic V (1988) C:N:P ratios and stable C isotopic ratios as indicator of sources organic matter in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). *Oceanol Acta* 11:377-382

- Faury N, Razet D, Soletchnik P, Gouilletquer P, Ratiskol J, Garnier J (1999) Hydrologie du bassin de Marennes-Oléron. Analyse de la base de données "RAZLEC" 1977-1995, IFREMER, RA, LCPC, La Tremblade, 52 p
- Fenton GE, Ritz DA (1988) Changes in carbon and hydrogen stable isotope ratios of macroalgae and seagrass during decomposition. *Estuar Coast Shelf Sci* 26:429-436
- Fernández J, Panarello HO, Schobinger J (1999) The Inka mummy from Mount Aconcagua: decoding the geographic origin of the "Messenger to the deities" by means of stable carbon, nitrogen, and sulfur isotope analysis. *Geoarchaeology* 14:27-46
- Feuillet-Girard M, Héral M, Abrioux MF, Fontugne MR (1994) Carbone organique dissous et particulaire de la colonne d'eau et de l'interface eau-sédiment du bassin de Marennes-Oléron : influence des huîtres. *Oceanol Acta* 17:271-284
- Focken U, Becker K (1998) Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food web using $\delta^{13}\text{C}$ data. *Oecologia* 115:337-343
- Focken U (2001) Stable isotopes in animal ecology: the effect of ration size on the trophic shift of C and N isotopes between feed and carcass. *Isot Environ Healt S* 37:199-211
- Fontugne MR, Duplessy J-C (1981) Organic carbon isotope fractionation by marine plankton in the temperature range -1 to 31 °C. *Oceanol Acta* 4:85-90
- Fontugne MR, Jouanneau JM (1987) Modulation of the particulate organic carbon flux to the ocean by a macrotidal estuary: evidence from measurements of carbon isotopes in organic matter from the Gironde system. *Estuar Coast Shelf Sci* 24:377-387
- France R (1995a) Critical examination of stable isotope analysis as a means for tracing carbon pathways in stream ecosystems. *Can J Fish Aquat Sci* 52:651-656
- France RL (1995b) Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. *Mar Ecol Prog Ser* 124:307-312
- Frazer TK, Ross RM, Quetin LB, Montoya JP (1997) Turnover of carbon and nitrogen during growth of larval krill, *Euphausia superba* Dana: a stable isotope approach. *J Exp Mar Biol Ecol* 212:259-275

- Fry B, Arnold C (1982) Rapid $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*).
Oecologia 54:200-204
- Fry B, Scalan RS, Parker PL (1983) $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in marine food webs of the Torres Strait,
Queensland. Aust J Mar Freshwat Res 34:707-715
- Fry B, Anderson RK, Entzeroth L, Bird JL, Parker PL (1984) ^{13}C enrichment and oceanic food web
structure in the northwestern Gulf of Mexico. Contrib Mar Sci 27:49-63
- Fry B, Sherr EB (1984) $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater
ecosystems. Contrib Mar Sci 27:13-47
- Fry B, Macko SA, Zieman JC (1987) Review of stable isotopic investigations of food webs in
seagrass meadows. Flo Mar Res Publ 42:189-209
- Fry B (1988) Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic composition.
Limnol Oceanogr 33:1182-1190
- Fry B (1999) Using stable isotopes to monitor watershed influences on aquatic trophodynamics. Can
J Fish Aquat Sci 56:2167-2171
- Gabbott PA (1983) Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. In:
Hochachka PW (ed) The Mollusca, Vol 2. Academic press, New York, 165-217 pp
- Gailhard I, Gros P, Durbec JP, Beliaeff B, Belin C, Nézan E, Lassus P (2002) Variability patterns
of microphytoplankton communities along the French coasts. Mar Ecol Prog Ser 242:39-50
- Galois R, Richard P, Fricourt B (1996) Seasonal variations in suspended particulate matter in the
Marennes-Oléron Bay, France, using lipids as biomarkers. Estuar Coast Shelf Sci 43:335-
357
- Gannes LZ, O'Brien DM, Martínez del Rio C (1997) Stable isotopes in animal ecology:
assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. Ecology 78:1271-1276
- Garnier-Géré PH, Naciri-Graven Y, Bougrier S, Magoulas A, Héral M, Kotoulas G, Hawkins A,
Gérard A (2002) Influences of triploidy, parentage and genetic diversity on growth of the
Pacific oyster *Crassostrea gigas* reared in contrasting natural environments. Molecular
Ecology 11:1499-1514

- Gaye-Siessegger J, Focken U, Muetzel S, Abel H-J, Becker K (2004) Feeding level and individual metabolic rate affect $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ value in carp: implications for food web studies. *Oecologia* 138:175-183
- Gearing JN, Gearing PJ, Rudnick DT, Requejo AG, Hutchins MJ (1984) Isotopic variability of organic carbon in a phytoplankton-based, temperate estuary. *Geochim Cosmochim Acta* 48:1089-1098
- Gleason DF (1986) Utilisation of salt marsh plants by postlarval brown shrimp: carbon assimilation rates and food preferences. *Mar Ecol Prog Ser* 31:151-158
- Goericke R, Montoya JP, Fry B (1994) Physiology of isotopic fractionation in algae and cyanobacteria. In: Lajtha K, Michener RH (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 187-221 pp
- Gohin F, Lampert L, Guillaud JF, Herbland A, Nézan E (2003) Satellite and in situ observations of a late winter phytoplankton bloom in the northern Bay of Biscay. *Cont Shelf Res* 23:1117-1141
- Goñi MA, Teixeira MJ, Perkey DW (2003) Sources and distribution of organic matter in a river-dominated estuary (Winyah Bay, SC, USA). *Estuar Coast Shelf Sci* 57:1023-1048
- Gosling E (2003) *Bivalve Molluscs: Biology, Ecology and Culture*. Blackwell, 443 p
- Gouleau D, Jouanneau JM, Weber O, Sauriau P-G (2000) Short- and long-term sedimentation on Montportail-Brouage intertidal mudflat, Marennes-Oléron Bay (France). *Cont Shelf Res* 20:1513-1530
- Gouletquer P, Joly J-P, Gérard A, Le Gagneur E, Moriceau J, Peignon J-M, Heurtebise S, Phelipot P (1996) Performances of triploid Pacific Oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) reared in high carrying capacity ecosystem: survival, growth and proximate biochemical composition. *Haliotis* 25:1-12
- Gouletquer P, Héral M (1997) Marine molluscan production trends in France: from fisheries to aquaculture. In: Mac Kenzie CL, Burrell VG, Rosenfield A (eds) *The history, present condition, and future of the Molluscan fisheries of North America and Europe*, Vol 3. NOAA Tech Rep NMFS 129, 137-164 pp

- Gouletquer P, Le Moine O (2002) Shellfish farming and coastal zone management (CZM) development in the Marennes-Oléron Bay and Charentais Sounds (Charente Maritime, France): a review of recent developments. *Aquacult Int* 10:507-525
- Grey J, Jones RI, Sleep D (2001) Seasonal changes in the importance of the source of organic matter to the diet of zooplankton in Loch Ness, as indicated by stable isotope analysis. *Limnol Oceanogr* 46:505-513
- Grice AM, Loneragan NR, Dennison WC (1996) Light intensity and the interaction between physiology, morphology and stable isotope ratios in five species of seagrass. *J Exp Mar Biol Ecol* 195:91-110
- Guarini J-M, Blanchard GF, Bacher C, Gros P, Riera P, Richard P, Gouleau D, Galois R, Prou J, Sauriau P-G (1998) Dynamics of spatial patterns of microphytobenthic biomass: inferences from a geostatistical analysis of two comprehensive surveys in Marennes-Oléron Bay (France). *Mar Ecol Prog Ser* 166:131-141
- Guarini J-M, Gros P, Blanchard GF, Richard P, Fillon A (2004) Benthic contribution to pelagic microalgal communities in two semi-enclosed, european type littoral ecosystems (Marennes-Oleron Bay and Aiguillon Bay, France). *J Sea Res* 52:241-258
- Guest MA, Connolly RM (2004) Fine-scale movement and assimilation of carbon in saltmarsh and mangrove habitat by resident animals. *Aquat Ecol* 38:599-609
- Guest MA, Connolly RM, Loneragan NR (2004) Carbon movement and assimilation by invertebrates in estuarine habitats at a scale of metres. *Mar Ecol Prog Ser* 278:27-34
- Guillaumont B (1991) Utilisation de l'imagerie satellitaire pour les comparaisons spatiales et temporelles en zones intertidales. In: Elliott M, Ducrotoy JP (eds) *Estuaries and Coasts: Spatial and Temporal Intercomparisons*. ECSA 19 Symposium. Olsen & Olsen, Fredensborg, 63-68 pp
- Guo X, DeBrosse GA, Allen SK (1996) All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture* 42:149-161
- Hackney CT, Haines EB (1980) Stable carbon isotope composition of fauna and organic matter collected in a Mississippi estuary. *Estuar Coast Shelf Sci* 10:703-708

- Haines EB (1976) Relation between the stable carbon isotope composition of fiddler crabs, plants, and soils in a salt marsh. *Limnol Oceanogr* 21:880-883
- Haines EB, Montague CL (1979) Food sources of estuarine invertebrates analyzed using $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios. *Ecology* 60:48-55
- Harvey CJ, Hanson P, Essington TE, Brown PB, Kitchell JF (2001) Using bioenergetics models to predict stable isotope ratios in fishes. *Can J Fish Aquat Sci* 59:115-124
- Hawkins AJS (1985) Relationships between the synthesis and breakdown of protein, dietary absorption and turnovers of nitrogen and carbon in the blue mussel, *Mytilus edulis* L. *Oecologia* 66:42-49
- Hawkins AJS (1991) Protein turnover: a functional appraisal. *Funct Ecol* 5:222-233
- Hawkins AJS, Smith RFM, Bayne BL, Héral M (1996) Novel observations underlying the fast growth of suspension-feeding shellfish in turbid environments: *Mytilus edulis*. *Mar Ecol Prog Ser* 131:179-190
- Hawkins AJS, Smith RFM, Bougrier S, Bayne BL, Héral M (1997) Manipulation of dietary conditions for maximal growth in mussels, *Mytilus edulis*, from the Marennes-Oléron Bay, France. *Aquat Living Resour* 10:13-22
- Hecky RE, Hesslein RH (1995) Contributions of benthic algae to lake food webs as revealed by stable isotope analysis. *J N Am Benthol Soc* 14:631-653
- Hellings L, Dehairs F, Tackx M, Keppens E, Baeyens W (1999) Origin and fate of organic carbon in the freshwater part of the Scheldt Estuary as traced by stable isotope composition. *Biogeochemistry* 47:167-186
- Héral M, Razet D, Deslous-Paoli JM, Manaud F, Truquet I, Garnier J (1984) Hydrobiologie du bassin de Marennes-Oléron. Résultats du Réseau National d'Observation : 1977 à 1981. *Ann Soc Sc Nat Charente-Marit* 7:259-277
- Héral M, Bacher C, Deslous-Paoli JM (1989) La capacité biotique des bassins ostréicoles. In: Troadec JP (ed) *L'homme et les ressources halieutiques : essai sur l'usage d'une ressource renouvelable*, Plouzané IFREMER, 225-259 pp

- Herman PMJ, Middelburg JJ, Widdows J, Lucas CH, Heip CHR (2000) Stable isotopes as a trophic tracers: combining field sampling and manipulative labelling of food resources for macrobenthos. *Mar Ecol Prog Ser* 204:79-92
- Herzka SZ, Holt GJ (2000) Changes in isotopic composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae in response to dietary shifts: potential applications to settlement studies. *Can J Fish Aquat Sci* 57:137-147
- Herzka SZ (2005) Assessing connectivity of estuarine fishes based on stable isotope ratio analysis. *Estuar Coast Shelf Sci* 64:58-69
- Hesslein RH, Hallard KA, Ramlal P (1993) Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by $\delta^{34}\text{S}$, $\delta^{13}\text{C}$, and $\delta^{15}\text{N}$. *Can J Fish Aquat Sci* 50:2071-2076
- Hilderbrand GV, Robbins CT, Farley SD (1998) Response: Use of stable isotopes to determine diets of living and extinct bears. *Can J Biochem Physiol* 76:2301-2303
- Hily C (1976) *Ecologie benthique des Pertuis Charentais*. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle, Université de Bretagne Occidentale, Brest, 236 p
- Hobson KA, Alisauskas RT, Clark RG (1993) Stable-nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: implications for isotopic analyses of diet. *The Condor* 95:388-394
- Hobson KA, Clark RG (1993) Turnover of ^{13}C in cellular and plasma fractions of blood: implications for nondestructive sampling in avian dietary studies. *The Auk* 110:638-641
- Hobson KA, Clark RG (1994a) Assessing avian diets using stable isotopes I: turnover of ^{13}C in tissues. *The Condor* 94:181-188
- Hobson KA, Clark RG (1994b) Assessing avian diets using stable isotopes II: factors influencing diet-tissue fractionation. *The Condor* 94:189-197
- Hobson KA (1999) Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia* 120:314-326

- Hobson KA, Wassenaar LI, Taylor OL (1999) Stable isotopes (δD and $\delta^{13}\text{C}$) are geographic indicators of natal origins of monarch butterflies in eastern North America. *Oecologia* 120:397-404
- Hobson KA, Bairlein F (2003) Isotopic fractionation and turnover in captive Garden Warblers (*Sylvia borin*): implications for delineating dietary and migratory associations in wild passerines. *Can J Zool* 81:1630-1635
- Holm-Hansen O, Riemann B (1978) Chlorophyll-*a* determination: improvements in methodology. *Oikos* 30:438-447
- Hsieh H-L, Kao W-Y, Chen C-P, Liu P-J (2000) Detrital flows through the feeding pathway of the oyster (*Crassostrea gigas*) in a tropical shallow lagoon: $\delta^{13}\text{C}$ signals. *Mar Biol* 136:677-684
- Hsieh H-L, Chen C-P, Chen Y-G, Yang H-H (2002) Diversity of benthic organic matter flows through polychaetes and crabs in a mangrove estuary: $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{34}\text{S}$ signals. *Mar Ecol Prog Ser* 227:145-155
- Kaldy JE, Cifuentes LA, Brock D (2005) Using stable isotope analyses to assess carbon dynamics in a shallow subtropical estuary. *Estuaries* 28:86-95
- Kang CK, Sauriau P-G, Richard P, Blanchard GF (1999) Food sources of the infaunal suspension-feeding bivalve *Cerastoderma edule* in a muddy sandflat of Marennes-Oléron Bay, as determined by analyses of carbon and nitrogen stable isotopes. *Mar Ecol Prog Ser* 187:147-158
- Kang C-K, Park MS, Lee P-Y, Choi W-J, Lee W-C (2000) Seasonal variations in condition, reproduction, reproductive activity, and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in suspended culture in two coastal bays of Korea. *J Shellfish Res* 19:771-778
- Kasai A, Horie H, Sakamoto W (2004) Selection of food sources by *Ruditapes philippinarum* and *Macra veneriformis* (Bivalvia: Mollusca) determined from stable isotope analysis. *Fisheries Sci* 70:11-20

- Kasai A, Nakata A (2005) Utilization of terrestrial organic matter by the bivalve *Corbicula japonica* estimated from stable isotope analysis. *Fisheries Sci* 71:151-158
- Kelly JF (1999) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can J Zool* 78:1-27
- Kemp PF, Newell SY, Hopkinson CS (1990) Importance of grazing on the salt-marsh grass *Spartina alterniflora* to nitrogen turnover in a macrofaunal consumer, *Littorina irrorata*, and to decomposition of standing-dead *Spartina*. *Mar Biol* 104:311-319
- Kesarcodi-Watson A, Lucas JS, Klumpp DW (2001) Comparative feeding and physiological energetics of diploid and triploid Sydney rock oysters, *Saccostrea commercialis* I. Effect of oyster size. *Aquaculture* 203:177-193
- Kharlamento VI, Kiyashko SI, Imbs AB, Vyshkvartzev DI (2001) Identification of food sources of invertebrates from the seagrass *Zostera marina* community using carbon and sulfur stable ratio and fatty acid analyses. *Mar Ecol Prog Ser* 220:103-117
- Kline TCJ, Willette TM (2002) Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.) early marine feeding patterns based on $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ in Prince William Sound, Alaska. *Can J Fish Aquat Sci* 59:1626-1638
- Knox GA (1986) Estuarine ecosystems: a system approach. In: Press C (ed), Vol 1. Boca Raton, Florida, 289 pp
- Koch PL, Phillips DL (2002) Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models: a reply to Robbins, Hilderbrand and Farley (2002). *Oecologia* 133:14-18
- Kong L, Wang Z, Yu R, Wang R (2001) Comparison of biochemical composition and amino acid contents between diploid and triploid Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, pre-and-post spawning. *Trans Oceanol Limnol* 4:44-49
- Kreeger DA, Langdon CJ, Newell RIE (1988) Utilization of refractory cellulosic carbon derived from *Spartina alterniflora* by the ribbed mussel *Geukensia demissa*. *Mar Ecol Prog Ser* 42:171-179

- Kurle CM, Worthy GAJ (2002) Stable nitrogen and carbon isotope ratios in multiple tissues of the northern fur seal *Callorhinus ursinus*: implications for dietary and migratory reconstructions. *Mar Ecol Prog Ser* 236:289-300
- Kwak TJ, Zedler JB (1997) Food web analysis of southern California coastal wetlands using multiple stable isotopes. *Oecologia* 110:262-277
- Labry C, Herband A, Delmas D, Laborde P, Lazure P., Froidefond JM, Jegou AM, Sautour B (2001) Initiation of winter phytoplankton blooms within the Gironde plume waters in the Bay of Biscay. *Mar Ecol Prog Ser* 212:117-130
- Lajtha K, Marshall JD (1994) Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: Lajtha K, Michener RH (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1-21 pp
- Lajtha K, Michener RH (1994) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific, London, 299 p
- Langdon CJ, Waldock MJ (1981) The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *J Mar Biol Ass UK* 61:431-448
- Langdon CJ, Newell RIE (1990) Utilization of detritus and bacteria as food sources by two bivalve suspension-feeders, the oyster *Crassostrea virginica* and the mussel *Geukensia demissa*. *Mar Ecol Prog Ser* 58:299-310
- Lazure P, Jégou A-M (1998) 3D modelling of seasonal evolution of Loire and Gironde plumes on Biscay Bay continental shelf. *Oceanol Acta* 21:165-177
- Le Gall S, Bel Hassen M, Le Gall P (1997) Ingestion of a bacterivorous ciliate by the oyster *Crassostrea gigas*: protozoa as a trophic link between picoplankton and benthic suspension-feeders. *Mar Ecol Prog Ser* 152:301-306
- Le Loc'h F, Hily C (2005) Stable carbon and nitrogen isotope analysis of *Nephrops norvegicus* / *Merluccius merluccius* fishing grounds in the Bay of Biscay (Northeast Atlantic). *Can J Fish Aquat Sci* 62:123-132
- Le Moine O, Geairon P, Soletchnik P, Faury N, Gouilletquer P, Robert S, Heurtebise S, Taillade S (2002) Réseau de surveillance de la croissance et production de l'huître creuse *Crassostrea*

- gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron : bilan de 12 années de suivi (1986-1998),
IFREMER, RA, LCPC, La Tremblade, 44 p
- Leguerrier D, Niquil N, Boileau N, Rzeznik J, Sauriau P-G, Le Moine O, Bacher C (2003)
Numerical analysis of the food web of an intertidal mudflat ecosystem on the Atlantic coast
of France. *Mar Ecol Prog Ser* 246:17-37
- Leguerrier D, Niquil N, Petiau A, Bodoy A (2004) Modeling the impact of oyster culture on a
mudflat food web in Marennes-Oléron Bay (France). *Mar Ecol Prog Ser* 273:147-162
- Li Q, Osada M, Mori K (2000) Seasonal biochemical variations in Pacific oyster gonadal tissue
during sexual maturation. *Fisheries Sci* 66:502-508
- Lindeman RL (1942) The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology* 23:399-418
- Livingston J (2003) Trophic organization in coastal systems. Boca Raton, Florida, 388 p
- Loneragan N, Bunn SE, Kellaway DM (1997) Are mangroves and seagrasses sources of organic
carbon for penaeid prawns in a tropical Australian estuary? A multiple stable-isotope
study. *Mar Biol* 130:289-300
- Lorrain A, Paulet Y-M, Chauvaud L, Savoye N, Donval A, Saout C (2002) Differential $\delta^{13}\text{C}$ and
 $\delta^{15}\text{N}$ signatures among scallop tissues: implications for ecology and physiology. *J Exp Mar
Biol Ecol* 275:47-61
- Lorrain A, Savoye N, Chauvaud L, Paulet Y-M, Naulet N (2003) Decarbonation and preservation
method for the analysis of organic C and N contents and stable isotope ratios of low-
carbonated suspended particulate material. *Anal Chim Acta* 491:125-133
- Lucas CH, Banham C, Holligan PM (2001) Benthic-pelagic exchange of microalgae at a tidal flat.
2. Taxonomic analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 212:39-52
- MacAvoy SE, Macko SA, Garman GC (2001) Isotopic turnover in aquatic predators: quantifying
the exploitation of migratory prey. *Can J Fish Aquat Sci* 58:923-932
- Machás R, Santos R (1999) Sources of organic matter in Ria Formosa revealed by stable isotope
analysis. *Acta Oecol* 20:463-469
- Macko SA, Lee WY, Parker PL (1982) Nitrogen and carbon isotope fractionation by two species of
marine amphipods: laboratory and field studies. *Mar Biol Ecol* 63:145-149

- Maksymowska D, Richard P, Piekarek-Jankowska H, Riera P (2000) Chemical and isotopic composition of the organic matter sources in the Gulf of Gdansk (Southern Baltic Sea). *Estuar Coast Shelf Sci* 51:585-598
- Malet N (2001) Ressources trophiques de *Mytilus edulis* dans le pertuis breton pour trois conditions de culture (filières, têtes et pieds de bouchot) : apport du traçage isotopique naturel, DEA exploitation durable des écosystèmes littoraux, Université de La Rochelle 49 p
- Mariotti A (1983) Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural ^{15}N abundance measurements. *Nature* 303:685-687
- Mariotti A, Lancelot C, Billen G (1984) Natural isotopic composition of nitrogen as a tracer of origin for suspended organic matter in the Scheldt estuary. *Geochim Cosmochim Acta* 48:549-555
- Maruyama A, Yamada Y, Rusuwa B, Yuma M (2001) Change in stable nitrogen isotope ratio in the muscle tissue of a migratory goby, *Rhinogobius* sp., in a natural setting. *Can J Fish Aquat Sci* 58:2125-2128
- Mateo MA, Romero J (1996) Evaluating seagrass leaf litter decomposition: an experimental comparison between litter-bag and oxygen-uptake methods. *J Exp Mar Biol Ecol* 202:97-106
- Matus de la Parra A, García O, San Juan F (2005) Seasonal variations on the biochemical composition and lipid classes of the gonadal and storage tissues of *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1794) in relation to the gametogenic cycle. *Journal of Shellfish Research* 24:457-467
- McCarthy ID, Waldron S (2000) Identifying migratory *Salmo trutta* using carbon and nitrogen stable isotope ratios. *Rap Comm Mass Spectrom* 14:1325-1331
- McConnaughey T, McRoy CP (1979) Food-web structure and the fractionation of carbon isotopes in the Bering sea. *Mar Biol* 53:257-262
- McCutchan JHJ, Lewis WM, Kendall C, McGrath CC (2003) Variation in trophic shift for isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos* 102:378-390

- Melville AJ, Connolly RM (2003) Spatial analysis of stable isotope data to determine primary sources of nutrition for fish. *Oecologia* 136:499-507
- Meziane T, Bodineau L, Retiere C, Thoumelin G (1997) The use of lipid markers to define sources of organic matter in sediment and food web of the intertidal salt-marsh-flat ecosystem of Mont-Saint-Michel Bay, France. *J Sea Res* 38:47-58
- Michener RH, Schell DM (1994) Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. In: Lajtha K, Michener RH (eds) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific, London, 138-157 pp
- Middelburg JJ, Nieuwenhuize J (1998) Carbon and nitrogen stable isotopes in suspended matter and sediments from the Schelde Estuary. *Mar Chem* 60:217-225
- Middelburg JJ, Barranguet C, Boschker HTS, Herman PMJ, Moens T, Heip CHR (2000) The fate of intertidal microphytobenthos carbon: an in situ ^{13}C -labelling study. *Limnol Oceanogr* 45:1224-1234
- Minagawa M, Wada E (1984) Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochim Cosmochim Acta* 48:1135-1140
- Mizutani H, Fukuda M, Kabaya Y, Wada E (1990) Carbon isotope ratio of feathers reveals feeding behavior of Cormorants. *The Auk* 107:400-437
- Murphy DE, Abrajano TA (1994) Carbon isotope compositions of fatty acids in mussels from Newfoundland estuaries. *Estuar Coast Shelf Sci* 39:261-272
- Nybakken JW (1982) *Marine biology. An ecological approach*. Harper & Row Publishers, New York, 462 p
- Odum EP (1968) Evaluating the productivity of coastal and estuarine water. In: *Proceedings of the Second Sea Grant Conference*, University of Rhode Island, p 63-64
- Orvain F (2002) *Modélisation de la bioturbation et de ses conséquences sur les flux de remise en suspension des sédiments cohésifs en baie de Marennes-Oléron*. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, 191 p
- Ostrom PH, Colunga-Garcia M, Gage SH (1997) Establishing pathways of energy flow for insect predators using stable isotope ratios: field and laboratory evidence. *Oecologia* 109:108-113

- Owens NJP (1985) Variations in the natural abundance of ^{15}N estuarine suspended particulate matter: a specific indicator of biological processing. *Estuar Coast Shelf Sci* 20:505-510
- Owens NJP (1987) Natural variations in ^{15}N in the marine environment. *Adv Mar Biol* 24:389-451
- Page HM, Lastra M (2003) Diet of intertidal bivalves in the Ría de Arosa (NW Spain): evidence from stable C and N isotope analysis. *Mar Biol* 143:519-532
- Pastoureaud A, Héral M, Prou J, Razet D, Russu P (1995) Particle selection in the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) studied by pigment HPLC analysis under natural food conditions. *Oceanol Acta* 19:79-88
- Paterson DM, Crawford RM (1986) The structure of benthic diatom assemblages: a preliminary account of the use and evaluation of low-temperature scanning electron microscopy. *J Exp Mar Biol Ecol* 95:279-289
- Pazos AJ, Ruíz C, García-Martín O, Abad M, Sánchez JL (1996) Seasonal variations of the lipid content and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* cultured in El Grove, Galicia, N.W. Spain. *Comp Biochem Physiol* 114B:171-179
- Pearson SF, Levey DJ, Greenberg CH, Martinez del Rio C (2003) Effects of elemental composition on the incorporation of dietary nitrogen and carbon signatures in an omnivorous songbird. *Oecologia* 135:516-523
- Perga ME, Gerdeaux D (2005) 'Are fish what they eat' all year round? *Oecologia* 144:598-606
- Peterson BJ, Howarth RW, Garrit RH (1985) Multiple stable isotopes used to trace the flow of organic matter in estuarine food webs. *Science* 227:1361-1363
- Peterson BJ, Howarth RW, Garritt RH (1986) Sulfur and carbon isotopes as tracers of salt-marsh organic matter flow. *Ecology* 67:865-874
- Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Ann Rev Ecol Syst* 18:293-320
- Peterson BJ (1999) Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: a review. *Acta Oecol* 20:479-487
- Phillips DL (2001) Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia* 127:166-170

- Phillips DL, Gregg JW (2001) Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. *Oecologia* 127:171-179
- Phillips DL, Koch PL (2002) Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models. *Oecologia* 130:114-125
- Phillips DL, Gregg JW (2003) Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia* 136:261-269
- Pigeot J, Miramand P, Guyot T, Sauriau P-G, Fichet D, Le Moine O, Huet V (in press) Cadmium pathways in an exploited intertidal ecosystem with chronic Cd inputs (Marennes-Oléron, Atlantic coast, France). *Mar Ecol Prog Ser*
- Piveteau F, Gandemer G, Baud J-P, Demaimay M (1999) Changes in lipid and fatty acid compositions of European oysters fattened with *Skeletonema costatum* diatom for six weeks in ponds. *Aquacult Int* 7:341-355
- Pocklington R, Tan FC (1987) Seasonal and annual variations in the organic matter contributed by the St. Lawrence River to the Gulf of St. Lawrence. *Geochim Cosmochim Acta* 51:2579-2586
- Post DM (2002) Using stable isotope to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83:703-718
- Pouvreau S (1999) Etude et modélisation des mécanismes impliqués dans la croissance de l'huître perlière, *Pinctada margaritifera*, au sein de l'écosystème conchylicole du lagon de l'atoll de Takapoto (Polynésie Française). Thèse de docteur ingénieur, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Rennes, 267 p
- Preston NP, Smith DM, Kellaway DM, Bunn SE (1996) The use of enriched ^{15}N as an indicator of the assimilation of individual protein sources from compound diets for juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 147:249-259
- Prou J, Barillé L, Héral M, Ratiskol J, Soletchnik P, Bougrier S, Razet D, Geairon P (1994) Influence du cycle semi-diurne et vives-eaux mortes-eaux sur la disponibilité du matériel particulaire et son utilisation par une population de *Mytilus edulis*. *Haliotis* 23:139-153

- Raikow DF, Hamilton SK (2001) Bivalve diets in a midwestern U.S. stream: a stable isotope enrichment study. *Limnol Oceanogr* 46:514-522
- Raillard O (1991) Etude des interactions entre les processus physiques et biologiques intervenant dans la production de l'huître *Crassostrea gigas* du bassin de Marennes-Oléron : essais de modélisation. Thèse de doctorat, Université de Paris VI, 212 p
- Raillard O, Le Hir P, Lazure P (1994) Transport de sédiments fins dans le bassin de Marennes-Oléron : mise en place d'un modèle mathématique. *La Houille Blanche* 4:63-71
- Raillard O, Ménesguen A (1994) An ecosystem box model for estimating the carrying capacity of a macrotidal shellfish system. *Mar Ecol Prog Ser* 115:117-130
- Ravail B, Héral M, Maestrini S, Robert J-M (1988) Incidence du débit de la Charente sur la capacité biotique du bassin ostréicole de Marennes-Oléron. *J Rech Oceanogr* 13:48-52
- Ren JS, Ross AH (2001) A dynamic energy budget model of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Ecol Mod* 142:105-120
- Ricard M (1987) Atlas du phytoplancton marin : diatomophycées. 2. Edition du CNRS, Paris, 297 p
- Richard P, Riera P, Galois R (1997) Temporal variations in the chemical and carbon isotope compositions of marine and terrestrial organic inputs in the Bay of Marennes-Oléron, France. *J Coast Res* 13:879-889
- Richard P (2000) Etude des potentialités conchylicoles du Pertuis Breton : mise en évidence de l'utilisation des différentes sources de matière organique par traçage isotopique naturel. Rapport final de contrat n° 98000-127 à la Direction Départementale de l'Agriculture et de la Forêt de Charente-Maritime. - L'Houmeau, CREMA-L'HOUMEAU, rapport interne, 40 p
- Richard P, Blanchard GF, Gouletquer P (2001) Mise en évidence par traçage isotopique naturel des ressources trophiques des moules dans la baie de l'Aiguillon (France). *J Rech Oceanogr* 26:125-128

- Riera P, Richard P (1996) Isotopic determination of food sources of *Crassostrea gigas* along a trophic gradient in the estuarine bay of Marennes-Oléron. *Estuar Coast Shelf Sci* 42:347-360
- Riera P, Richard P, Grémare A, Blanchard GF (1996) Food source of intertidal nematodes in the Bay of Marennes-Oléron (France), as determined by dual stable isotope analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 142:303-309
- Riera P, Richard P (1997) Temporal variation of $\delta^{13}\text{C}$ in particulate organic matter and oyster *Crassostrea gigas* in Marennes-Oléron Bay (France): effect of freshwater inflow. *Mar Ecol Prog Ser* 147:105-115
- Riera P (1998) $\delta^{15}\text{N}$ of organic matter sources and benthic invertebrates along an estuarine gradient in Marennes-Oléron Bay (France): implications for the study of trophic structure. *Mar Ecol Prog Ser* 166:143-150
- Riera P, Stal LJ, Nieuwenhuize J, Richard P, Blanchard GF, Gentil F (1999) Determination of food sources for benthic invertebrates in a salt marsh (Aiguillon Bay, France) by carbon and nitrogen stable isotopes: importance of locally produced sources. *Mar Ecol Prog Ser* 187:301-307
- Riera P, Montagna PA, Kalke RD, Richard P (2000a) Utilization of estuarine organic matter during growth and migration by juvenile brown shrimp *Penaeus aztecus* in a South Texas estuary. *Mar Ecol Prog Ser* 199:205-216
- Riera P, Stal LJ, Nieuwenhuize J (2000b) Heavy $\delta^{15}\text{N}$ in intertidal benthic algae and invertebrates in the Sheldt Estuary (The Netherlands): effect of river nitrogen inputs. *Estuar Coast Shelf Sci* 51:365-372
- Riera P, Stal LJ, Nieuwenhuize J (2002) $\delta^{13}\text{C}$ versus $\delta^{15}\text{N}$ of co-occurring molluscs within a community dominated by *Crassostrea gigas* and *Crepidula fornicata* (Oosterschelde, The Netherlands). *Mar Ecol Prog Ser* 240:291-295

- Riera P, Stal L, Nieuwenhuize J (2004) Utilization of food sources by invertebrates in a man-made intertidal ecosystem (Westerschelde, the Netherlands): a $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ study. *J Mar Biol Ass UK* 84:323-326
- Robbins CT, Hilderbrand GV, Farley SD (2002) Incorporating concentration dependence in stable isotope mixing models: a response to Phillips and Koch (2002). *Oecologia* 133:10-13
- Robbins CT, Felicetti LA, Sponheimer M (2005) The effect of dietary protein quality on nitrogen isotope discrimination in mammals and birds. *Oecologia* 144:534-540
- Rossi F, Herman PMJ, Middelburg JJ (2004) Interspecific and intraspecific variation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in deposit- and suspension-feeding bivalves (*Macoma balthica* and *Cerastoderma edule*): evidence of ontogenetic changes in feeding mode of *Macoma balthica*. *Limnol Oceanogr* 49:408-414
- Roth JD, Hobson KA (2000) Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissue of captive red fox: implications for dietary reconstruction. *Can J Fish Aquat Sci* 78:848-852
- Rubenstein R, Hobson KA (2004) From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. *Trends Ecol Evol* 19:256-263
- Ruesink JL, Roegner GC, Dumbauld BR, Newton JA, Armstrong DA (2003) Contributions of coastal and watershed energy sources to secondary production in a northeastern pacific estuary. *Estuaries* 26:1079-1093
- Ruiz C, Abad M, Sedano F, Garcia-Martin LO, Sánchez López JL (1992) Influence of seasonal environmental changes on the gamete production and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in El Grove, Galicia, Spain. *J Exp Mar Biol Ecol* 155:249-262
- Ryther JH (1969) Photosynthesis and fish production in the sea. *Science* 166:72-76
- Sackett WM, Moore WS (1966) Isotopic variations of dissolved inorganic carbon. *Chem Geol* 1:323-328

- Salomons W, Mook WG (1981) Field observations of the isotopic composition of particulate organic carbon in the southern North Sea and adjacent estuaries. *Mar Geol* 41:11-20
- Sauriau P-G (1987) Les mollusques non-cultivés du bassin de Marennes-Oléron : quantification et répartition géographique des stocks. *Haliotis* 16:527-541
- Sauriau P-G (1992) Les mollusques benthiques du bassin de Marennes-Oléron : estimation et cartographie des stocks non cultivés, compétition spatiale et trophique, dynamique de population de *Cerastoderma edule* (L.). Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, 309 p
- Sauriau P-G, Kang CK (2000) Stable isotope evidence of benthic microalgae-based growth and secondary production in the suspension feeder *Cerastoderma edule* (Mollusca, Bivalvia) in the Marenne-Oléron Bay. *Hydrobiologia* 440:317-329
- Savoie N, Aminot A, Tréguer P, Fontugne MR, Naulet N, Kérouel R (2003) Dynamics of particulate organic matter $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ during spring phytoplankton blooms in a macrotidal ecosystem (Bay of Seine, France). *Mar Ecol Prog Ser* 255:27-41
- Shaffer GP, Sullivan MJ (1988) Water column productivity attributable to displaced benthic diatoms in well-mixed shallow estuaries. *Journal Phycol* 24:132-140
- Shultz JD, Calder JA (1976) Organic carbon $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in estuarine sediments. *Geochim Cosmochim Acta* 40:381-385
- Shumway SE, Cucci TL, Newell CR, Yentsch CM (1985) Particle selection, ingestion, and absorption in filter-feeding bivalves. *J Exp Mar Biol Ecol* 91:77-92
- Simenstad CA, Wissmar RC (1985) $\delta^{13}\text{C}$ evidence of the origins and fates of organic carbon in estuarine and nearshore food webs. *Mar Ecol Prog Ser* 22:141-152
- Soetaert K, Herman PMJ (1995) Estimating estuarine residence times in the Westerschelde (The Netherlands) using a box model with fixed dispersion coefficients. *Hydrobiologia* 311:215-224
- Sokal RR, Rohlf FJ (1981) *Biometry*. Freeman WH and Co, New York, 859 p

- Soletchnik P, Gouletquer P, Héral M, Razet D, Geairon P (1996) Evaluation du bilan énergétique de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, en baie de Marennes-Oléron (France). *Aquat Living Resour* 9:65-73
- 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 alimentaire (filtration, absorption) en fonction des différents stades de maturation. *Aquat Living Resour* 10:177-185
- Soletchnik P, Faury N, Razet D, Gouletquer P (1998) Hydrobiology of the Marennes-Oléron bay. Seasonal indices and analysis of trends from 1978 to 1995. *Hydrobiologia* 386:131-146
- Soletchnik P, Faury N, Gouletquer P (2005a) Seasonal changes in carbohydrate metabolism and its relationship with summer mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Marennes-Oléron bay (France). *Aquaculture* (in press)
- Soletchnik P, Lambert C, Costil K (2005b) Summer mortality of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in relation to environmental rearing conditions. *J Shellfish Res* 24:197-207
- Sornin J-M (1981) Processus sédimentaires et biodéposition liés à différents modes de conchyliculture. Thèse de 3^{ème} cycle, Université de Nantes, 188 p
- Sornin J-M, Feuillet-Girard M, Héral M, Deslous-Paoli JM (1983) Effet des biodépôts de l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg) sur l'accumulation de matières organiques dans les parcs du bassin de Marennes-Oléron. *J Moll Stud* 12:185-197
- Sournia A (1986) Atlas du phytoplancton marin. 1. Edition du CNRS, Paris, 219 p
- Steele S, Mulcahy MF (1999) Gametogenesis of the oyster *Crassostrea gigas* in southern Ireland. *J Mar Biol Ass UK* 79:673-686
- Stephenson RL, Lyon GL (1982) Carbon-13 depletion in an estuarine bivalve: detection of marine and terrestrial food sources. *Oecologia* 55:110-113
- Stephenson RL, Tan FC, Mann KH (1986) Use of stable carbon isotope ratios to compare plant material and potential consumers in a seagrass bed and a kelp bed in Nova Scotia, Canada. *Mar Ecol Prog Ser* 30:1-7

- Struski C (2005) Modélisation des flux de matières dans le bassin de Marennes Oléron. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, 336 p
- Suzuki KW, Kasai A, Nakayama K, Tanaka M (2005) Differential isotopic enrichment and half-life among tissues in Japanese temperate bass (*Lateolabrax japonicus*) juveniles: implications for analyzing migration. *Can J Fish Aquat Sci* 62:671-678
- Tan FC, Strain PM (1983) Sources, sinks and distribution of organic carbon in the St. Lawrence Estuary, Canada. *Geochim Cosmochim Acta* 47:125-132
- Tesson M (1973) Aspects dynamiques de la sédimentation dans la baie de Marennes-Oléron (France). Thèse d'état, Université de Bordeaux, 248 p
- Thornton SF, McManus J (1994) Application of organic carbon and nitrogen stable isotope and C/N ratios as source indicators of organic matter provenance in estuarine systems: evidence from the Tay Estuary, Scotland. *Estuar Coast Shelf Sci* 38:219-233
- Tieszen LL, Boutton TW, Tesdahl KG, Slade NA (1983) Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implication for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* 57:32-37
- Tominaga O, Uno N, Seikai T (2003) Influence of diet shift from formulated feed to live mysids on the carbon and nitrogen stable isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) in dorsal muscles of juvenile Japanese flounders, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 218:265-276
- Vander Zanden MJ, Cabana G, Rasmussen JB (1997) Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. *Can J Fish Aquat Sci* 54:1142-1158
- Vander Zanden MJ, Rasmussen JB (2001) Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnol Oceanogr* 46:2061-2066
- Vanderklift MA, Ponsard S (2003) Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136:169-182
- Vizzini S, Sara G, Mateo MA, Mazzola A (2003) $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ variability in *Posidonia oceanica* associated with seasonality and plant fraction. *Aquat Bot* 76:195-202

- Voigt CC, Matt F, Michener RH, Kunz TH (2003) Low turnover rates of carbon isotopes in tissues of two nectar-feeding bat species. *J Exp Biol* 206:1419-1427
- Vouvé F (2000) Régénération benthique dans les vasières intertidales de Marennes-Oléron : nature de la matière organique, son impact sur la production et l'incorporation de l'ammonium. Thèse de doctorat, Université de Perpignan, 263 p
- Wainright SC, Fry B (1994) Seasonal variation of the stable isotopic compositions of coastal marine plankton from Woods Hole, Massachusetts and Georges Bank. *Estuaries* 17:552-560
- Waser NA, Yin K, Yu Z, Tada K, Harrison PJ, Turpin DH, Calvert SE (1998) Nitrogen isotope fractionation during nitrate, ammonium and urea uptake by marine diatoms and coccolithophores under various conditions of N availability. *Mar Ecol Prog Ser* 169:29-41
- Webster MS, Marra PP, Haig SM, Bensch S, Holmes RT (2002) Links between worlds: unraveling migratory connectivity. *Trends Ecol Evol* 17:76-83
- Weiguo L, Zisheng A, Weijian Z, Head MJ, Delin C (2003) Carbon isotope and C/N ratios of suspended matter in rivers: an indicator of seasonal change in C₄/C₃ vegetation. *Appl Geochem* 18:1241-1249
- Whyte JNC, Englar JR, Carswell BL (1990) Biochemical composition and energy reserves in *Crassostrea gigas* exposed to different levels of nutrition. *Aquaculture* 90:157-172
- Wiedermeyer WL, Schwamborn R (1996) Detritus derived from eelgrass and macroalgae as potential carbon source for *Mytilus edulis* in Kiel Fjord, Germany: a preliminary carbon isotopic study. *Helgol Meeresunters* 50:409-413
- Wilson GP, Lamb AL, Leng MJ, Gonzalez S, Huddart D (2005) Variability of organic $\delta^{13}\text{C}$ and C/N in the Mersey Estuary, U.K. and its implications for sea-level reconstruction studies. *Estuar Coast Shelf Sci* 64:684-698
- Wong WW, Sackett WM (1978) Fractionation of stable carbon isotopes by marine phytoplankton. *Geochim Cosmochim Acta* 42:1809-1815
- Yokoyama H, Ishihi Y (2003) Feeding of the bivalve *Theora lubrica* on benthic microalgae: isotopic evidence. *Mar Ecol Prog Ser* 255:303-309

- Yokoyama H, Tamaki A, Harada K, Shimoda K, Koyama K, Ishihi Y (2005) Variability of diet-tissue isotopic fractionation in estuarine macrobenthos. *Mar Ecol Prog Ser* 296:115-128
- Zeitzschel B (1970) The quantity, composition and distribution of suspended particulate matter in the Gulf of California. *Mar Biol* 7:305-318
- Zurburg W, Smaal AAD, Héral M, Dankers N (1994) Seston dynamics and bivalve feeding in the bay of Marennes-Oléron (France). *Neth J Aquat Ecol* 28:459-466

Résumé

Cette étude a consisté en la caractérisation du transfert trophique des sources de matière organique d'un écosystème littoral sous influence estuarienne chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*, mollusque suspensivore, qui est une composante majeure faunistique des Pertuis Charentais et particulièrement du bassin conchylicole de Marennes-Oléron. Les isotopes stables naturels du carbone et de l'azote ont été utilisés comme traceurs de la matière organique, des sources de production primaire et des transferts trophiques. La caractérisation de l'origine des sources de nourriture disponibles pour l'huître dans le pool de matière organique particulaire (MOP) a révélé la complémentarité des descripteurs hydrobiologiques pertinents utilisés en routine et l'analyse de la composition isotopique. Les processus d'incorporation de la nourriture ont ensuite été détaillés, avec, en particulier, la détermination des taux de renouvellement tissulaire et des enrichissements trophiques pour cinq organes, les branchies, la glande digestive, le manteau, le muscle et les gonades. Cette démarche originale est apparue particulièrement adaptée pour l'interprétation dynamique des transferts trophiques. En période estivale, les renouvellements isotopiques du carbone, différents entre chaque organe, s'échelonnent entre un mois pour la glande digestive et quatre mois pour le muscle. Le taux de renouvellement isotopique de l'azote est trois à cinq fois plus rapide en liaison avec le métabolisme protéique très actif chez les herbivores. La variabilité spatio-temporelle de la contribution des sources (facteur extrinsèque) au régime alimentaire de l'huître mais également la gamétogenèse (facteur intrinsèque) influent conjointement sur les signaux isotopiques tissulaires de l'huître. En définitive, la composition isotopique de l'huître corrigée de son enrichissement trophique permet alors de définir son régime alimentaire. La glande digestive dont le renouvellement est rapide informe sur la dynamique temporelle des sources de nourriture accessibles alors que le muscle qui intègre sur le long terme révèle leur dynamique spatiale en période de croissance. L'huître s'avère être un tropho-indicateur de la dynamique des environnements nutritionnels intertidaux sous influence estuarienne.

Mots clefs : Huître creuse *Crassostrea gigas*, isotopes stables, Pertuis Charentais, bassin de Marennes-Oléron, matière organique particulaire, renouvellement tissulaire, enrichissement trophique, organes