

FLUCTUATION DE LA CROISSANCE ET DE LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE  
DE L'HUITRE CREUSE, CRASSOSTREA GIGAS THUNBERG, ELEVEE A DIFFERENTS  
NIVEAUX D'EMERSION DANS LE BASSIN DE MARENNES-OLERON.

Isabelle FOUET

Stage de Licence de Biologie des Organismes, effectué du 1er Juillet  
1987 au 15 Septembre 1987, dans le cadre  
du Laboratoire Régional de Conchyliculture Loire-Gironde.  
IFREMER, B.P. 133, 17390 La Tremblade.

Responsable Scientifique : Alain BODOY



UNIVERSITE DE BORDEAUX I

FLUCTUATION DE LA CROISSANCE ET DE LA COMPOSITION BIOCHIMIQUE  
DE L'HUITRE CREUSE, CRASSOSTREA GIGAS THUNBERG, ELEVEE A DIFFERENTS  
NIVEAUX D'EMERSION DANS LE BASSIN DE MARENNES-OLERON.

Isabelle FOUET

Stage de Licence de Biologie des Organismes, effectué du 1er juillet  
1987 au 15 septembre 1987, dans le cadre du Laboratoire Régional de  
Conchyliculture IFREMER La Tremblade.

Responsable Scientifique : Alain BODOY

# SOMMAIRE

Pages

## REMERCIEMENTS

I. INTRODUCTION.....	1
II. MATERIELS ET METHODES.....	2
II.1. Conditions expérimentales.....	2
II.2. Mesures biométriques.....	5
II.3. Dosage biochimique.....	5
III. RESULTATS.....	7
III.1. Evaluation des pourcentages d'émersion.....	7
III.2. Croissance et condition.....	8
III.2.1. Evolution du poids total.....	8
III.2.2. Evolution du poids sec.....	8
III.2.3. Indice de condition.....	9
III.3. Composition biochimique des individus.....	11
III.3.1. Evolution de la teneur en protéines.....	11
III.3.2. Evolution des sucres totaux.....	12
III.3.3. Evolution de la teneur en glycogène.....	12
III.3.4. Evolution de la teneur en lipides.....	14
III.4. Composition relative.....	14
III.4.1. Evolution relative des protéines.....	14
III.4.2. Evolution relative des lipides.....	15
III.4.3. Evolution relative des sucres totaux.....	15

III.4.4. Evolution relative du glycogène.....	15
III.4.5. Rapport glycogène/lipides.....	17
III.4.5.1. Femelles.....	17
III.4.5.2. Mâles.....	19
III.4.6. Valeur calorifique.....	19
IV. DISCUSSION.....	21
V. CONCLUSION.....	24
VI. BIBLIOGRAPHIE.....	24
ANNEXE.....	28

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Monsieur Alain BODOY de m'avoir accueillie dans son laboratoire, Madame Jacqueline GARNIER pour son encadrement au cours des analyses biochimiques, Monsieur Philippe GEIRON pour le suivi des expérimentations, Monsieur Jean PROU pour m'avoir aidée dans le traitement de mes données et Mademoiselle Sylvie TAILLADE pour avoir dactylographié mon rapport.

Enfin, je remercie tous les membres de la station pour l'accueil qu'ils m'ont réservé.

## I. INTRODUCTION

La culture des mollusques et notamment de l'huître se pratique, de manière traditionnelle, dans la zone de balancement des marées sur les côtes atlantiques. Ceci est vrai depuis un siècle en France (Héral, 1986), mais également dans d'autres pays tels que la Colombie Britannique, la côte Ouest des Etats Unis (Woelke, 1959), la Tasmanie (Sumner, 1980). Les avantages de la culture sur estran, par rapport à la culture en suspension en pleine eau, résident essentiellement dans la commodité d'accès aux élevages. Ce type de culture concerne essentiellement les élevages à plat, et les élevages en surélévation : sur les côtes françaises, le bassin d'Arcachon contient un tonnage d'huître estimé à 38 000 tonnes (Maurer et Borel 1985) celui de Marennes-Oléron 90 000 tonnes (Bodoy et al., 1987), la baie de Bourgneuf 36 000 tonnes (Baud et Hommebon, 1987) et les différentes zones de Bretagne et de Normandie, environ 30 000 tonnes. C'est donc près de 200 000 tonnes d'huîtres qui sont ainsi soumises à des durées d'émersion variables, en fonction du niveau bathymétrique des élevages et de l'importance des marées. Les conséquences de cette émersion temporaire sur les rendements des élevages, sur la croissance des huîtres et indirectement sur la valeur des parcs ostréicoles en fonction de leur position, sont bien connues des professionnels. Cependant, les implications de la durée d'émersion sur le cycle biologique des différentes espèces d'huîtres ont été relativement peu étudiées (Gillmor, 1981). Gouilletquer et al. (1987) et Woelke (1959) ont considéré l'action de la durée d'émersion sur la vitesse de croissance pour l'espèce Crassostrea gigas qui est actuellement, l'huître creuse cultivée en France, depuis les épizooties ayant frappé l'huître portugaise au début des années 70 (Héral, 1986). Les modifications de la reproduction, ou la résistance au stress nutritionnel représenté par l'émersion sont notamment des points importants de la biologie de l'espèce qu'il convient d'étudier. Le but de ce travail est de déterminer jusqu'à quel niveau d'émersion sur l'estran la culture de cette espèce peut être envisagée et quelles seront les conséquences de cette émersion sur le cycle biologique des produits de réserve et des produits sexuels. Pour cela il a été procédé à un élevage expérimental pour des niveaux d'émersion compris entre 11 et 56 % du temps total à l'échelle annuelle. Les fluctuations

des composants biochimiques ont été analysées sur des échantillons mensuels, de façon à mettre en évidence les modifications du cycle biologique en fonction de la durée d'émersion.

## II. MATERIELS ET METHODES

### II.1 Conditions expérimentales

Le matériel expérimental a été installé sous le pont de la Seudre (Charente-Maritime) (fig. 1). Des huîtres de même origine et de même âge : 18 mois, ont été élevées dans des casiers sur, des tables placées sur un terrain présentant une forte pente. Ces huîtres ont été divisées en 5 lots, chacun placé à un niveau différent et que nous appellerons niveaux A, B, C, D, E. Le niveau A était situé à mi-marée, au cours des marées hautes, le niveau E ne découvrant presque jamais à marée basse.

#### Niveaux d'émersion

Les distances entre chaque point expérimental ont été mesurées sur le terrain, ainsi que les différences de hauteur (niveau à eau). Le profil est reporté sur la figure 2. Les niveaux mesurés sur le terrain, entre les différentes installations expérimentales, ont été rapportés au zéro des cartes marines, en utilisant les données de Gouletquer et al. (1987) qui se réfèrent à la même localité.

Le point le plus bas (E) est donc situé à 1,96 m au-dessus du zéro des cartes marines et le niveau de mi-marée à 4,07 m au-dessus de ce niveau. Le marnage de la marée en ce lieu étant de 7,2 m (Shom, 1987), les points extrêmes atteints par le balancement des marées sont à 0,47 m et 7,67 m au-dessus du niveau des cartes.

Le calcul des durées d'émersion en chaque point a été effectué à partir des données de Gouletquer (1987), qui sont basées sur le cumul des temps d'immersion en trois points, sur une durée de 10 mois. Les pourcentages d'immersion pour chaque parc, ont été calculés par régression à partir de ces données.

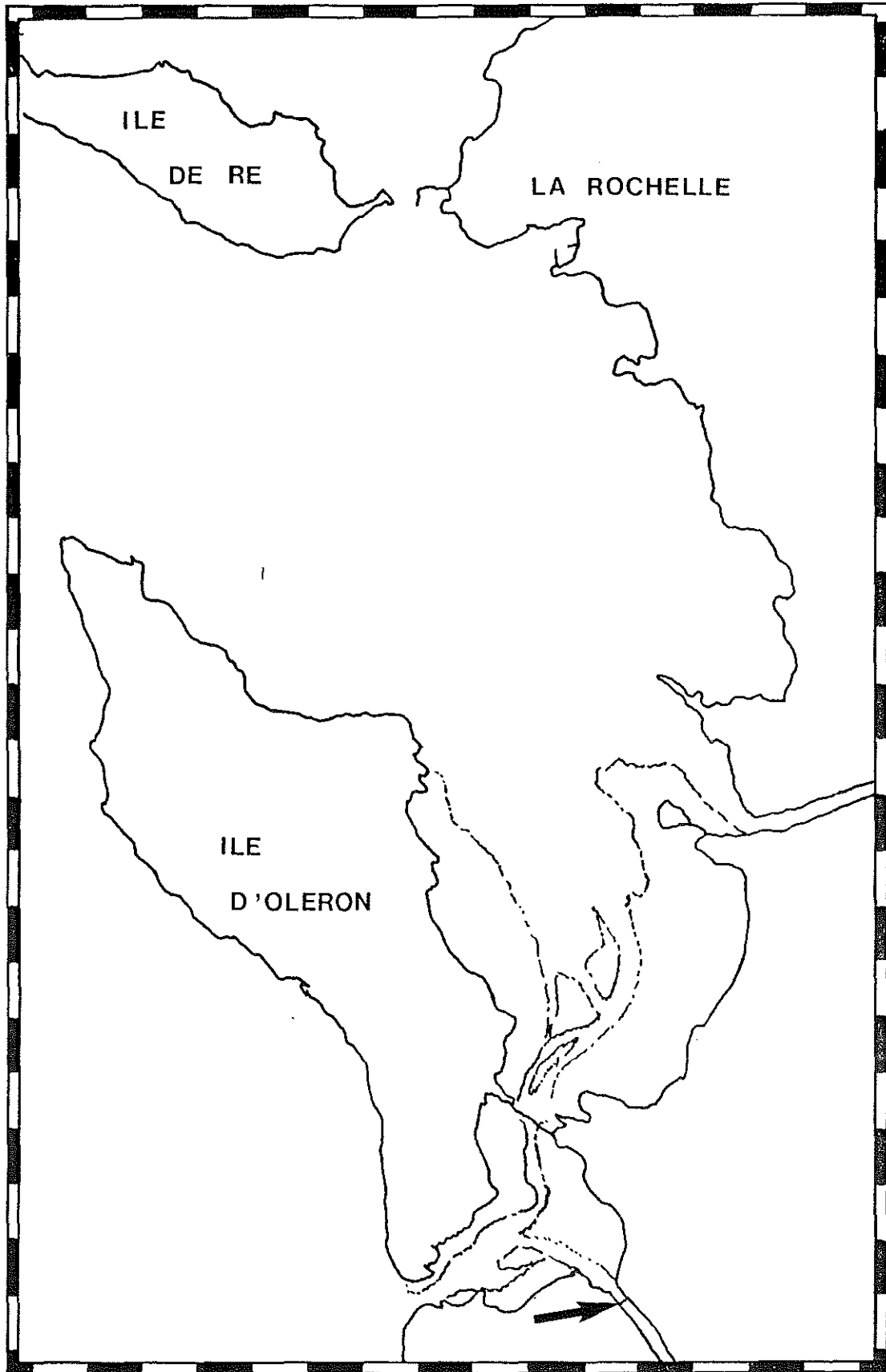


figure 1 : localisation de l'emplacement de l'expérience dans le bassin de Marennes-Oléron



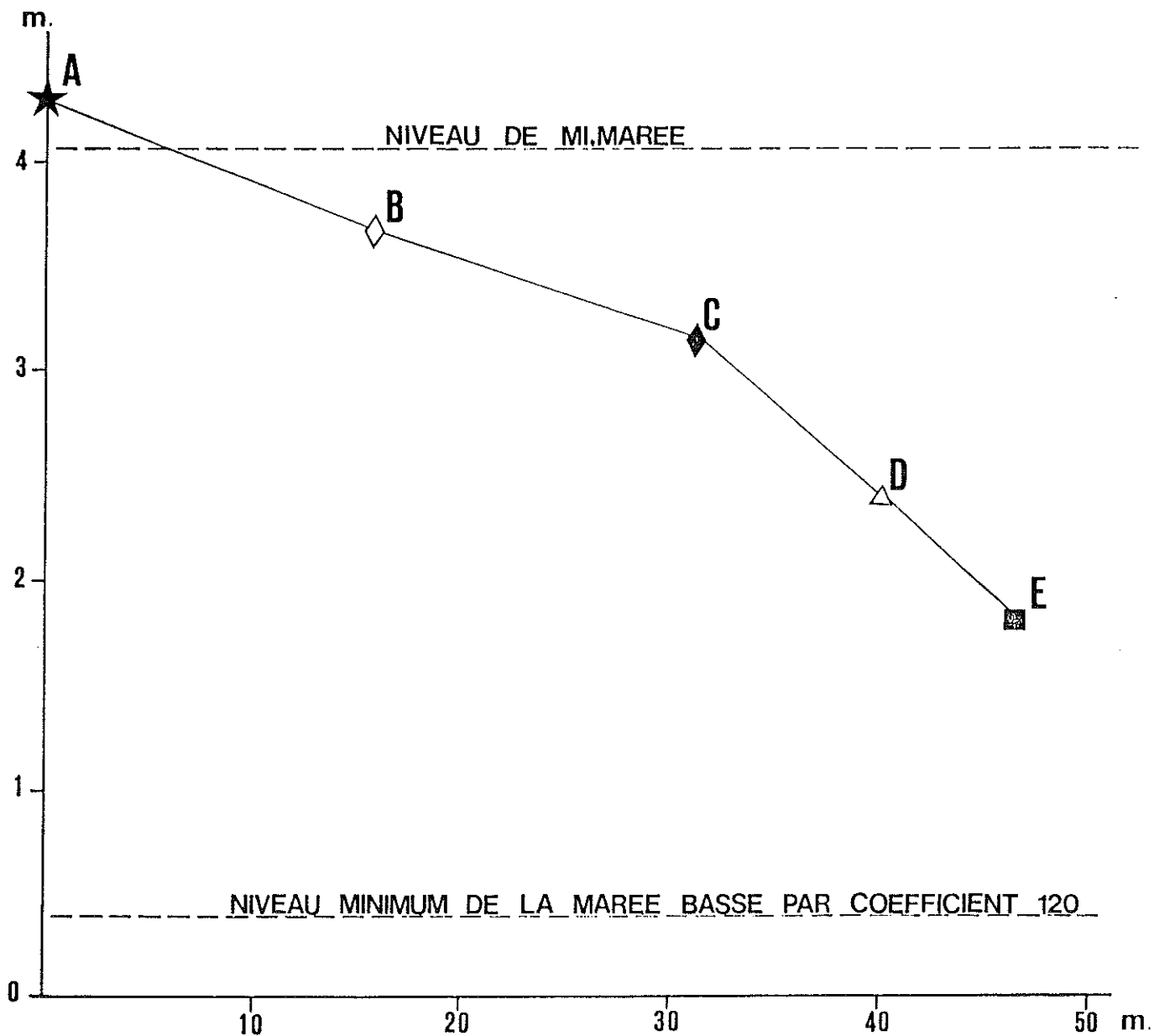


figure 2 : profil du rivage au niveau des points expérimentaux

## 11.2. Mesures biométriques

Chacun des 5 lots d'huîtres a été divisé en 2. L'un d'eux fut placé dans un casier aménagé de cloisons et de filet afin de recevoir 50 huîtres qui, ainsi bloquées, peuvent grandir sans se mélanger. Chacune des huîtres est pesée mensuellement pendant 14 mois (du 22/05/86 au 16/07/87).

L'autre partie est placée dans un autre casier se trouvant au même niveau que le premier. Parmi ces huîtres, 15 sont prises au hasard (une fois par mois) pour les analyses biométriques (longueur, poids total, poids de la coquille, poids frais, poids sec, sexe). Parmi ces 15 animaux, seulement 10, pris au hasard, sont utilisés pour les analyses biochimiques. Après les mesures biométriques, la chair des huîtres est lyophilisée.

## 11.3. Dosage biochimique

Tous les dosages sont réalisés sur de la chair sèche broyée finement et bien homogénéisée (Deslous-Paoli, 1980).

10 mg de chair sont utilisés pour la dosage des protéines, des sucres et des lipides. Ceci permet de faire tous les dosages sur une même huître. Le protocole détaillé est présenté en annexe.

Les dosages colorimétriques sont effectués à l'aide d'un spectrophotomètre double faisceau Perkin Elmer EL 551.

### . Protéines

Du fait des petites quantités de chair dosées, la méthode de Lowry et al. (1951) est utilisée en raison de sa sensibilité (Giese, 1969).

Les protéines sont extraites dans 10 ml de NaOH (N). La soude normale ne semble pas assurer une meilleure extraction des protéines que l'eau distillée (Conan, comm. per.) mais permet une meilleure dégradation de la chair. Le développement de la couleur lue au spectrophotomètre à 750 m $\mu$

est dû à l'action des ions cuivre des réactifs sur les résidus tyrosine et tryptophane des protéines solubles, à pH neutre (Lowry et al., 1951).

Le dosage porte sur 0,5 ml de la solution d'extraction, tamponnée avec 0,5 ml de  $H_2SO_4$  1N. Une gamme étalon de 0 à 0,5  $mg.ml^{-1}$  est faite avec de l'albumine de boeuf dans de la soude normale. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'équivalent albumine de boeuf par rapport au poids sec de la chair.

#### . Lipides

Les lipides sont extraits et purifiés par un mélange 1 volume de chloroforme - 2 volumes de méthanol (Bligh et Dyer, 1959). Puis après évaporation et dessiccation, ils sont analysés selon la méthode de Marsh et Weinstein (1966). Ils sont exprimés en pourcentage de poids sec de la chair.

#### . Sucres totaux et glycogène

Après délipidation de l'échantillon (10 mg de chair sèche) par un mélange 1 volume - 2 volumes chloroforme - méthanol, nous extrayons les sucres par du T.C.A. à 15 % pendant 1 heure à 4°C. Sur une partie de l'extrait nous dosons les sucres totaux, et sur l'autre, après précipitation par l'alcool à 99,8° nous dosons le glycogène. Les dosages sont faits par la méthode de Dubois et al. (1956). La densité optique est mesurée à 490  $m\mu$ . Une gamme étalon de 0 à 0,5  $mg.ml^{-1}$  est établie à partir de glucose, les résultats sont exprimés en pourcentage d'équivalent glucose par rapport au poids sec.

#### . Matière minérale

Les poids de cendre ne porteront que sur les 10 huîtres utilisées pour les analyses biochimiques et préalablement broyées.

100 à 200 mg de chair sèche broyée, sont pesés au dixième de mg dans des coupelles en aluminium tarées. Les échantillons sont brûlés dans des fours électriques à moufles à 480°C pendant 24 heures (Walne et Mann, 1975). Au-dessus de 480°C les coupelles en aluminium se désagrègent

partiellement. Les pesées, après passage au dessiccateur, sont faites sur des balances électroniques (Mettler et Sartorius) au dixième de mg.

### . Traitement des données

Le calcul des concentrations en différents composants ainsi que des valeurs moyennes et écart-types a été effectué sur un micro ordinateur, en utilisant les procédures mises au point par Jean Prou (IFREMER La Tremblade) à partir du progiciel K Man.

## III. RESULTATS

### III.1. Evaluation des pourcentages d'émersion

Les durées d'émersion en chaque point, exprimées en % de l'émersion totale sont représentées sur le tableau I.

Tableau 1 : Niveau bathymétrique au-dessus du zéro des cartes, et pourcentage d'émersion des différents points expérimentaux. Coeff. = valeur minimum du coefficient d'une marée basse pour laquelle les points découvrent.

Points	niveau au-dessus du 0 des cartes cm	coeff.	% d'émersion
A	443	-	$100 - 43,3 = 56,7$
B	382	20	$100 - 54,6 = 45,4$
C	326	38	$100 - 64,9 = 35,1$
D	255	61	$100 - 77,9 = 22,1$
E	196	81	$100 - 88,8 = 11,2$

Le point A est situé au-dessus du niveau de mi-marée. Il découvre donc à chaque marée. Le point B ne restera qu'exceptionnellement immergé plus d'une marée, tandis que les autres découvriront avec des fréquences variables selon le coefficient des marées.

### III.2. Croissance et condition

#### III.2.1. Evolution du poids total (fig. 3a)

Le poids total comprend :

- le poids de la coquille
- la matière organique (cendres comprises)
- l'eau totale = eau intervalvaire + eau tissulaire

Son intérêt réside en la mise en évidence d'une croissance qui intéresse l'éleveur. Il représente les performances de l'espèce.

L'évolution du poids total commence par une augmentation générale (en moyenne) du 22.05.86 au 16.10.86. De la mi-octobre jusqu'au début du mois de novembre les huîtres maigrissent.

Puis, en fonction des niveaux, l'évolution est divergente.

Au point A, les huîtres s'amaigrissent même en période printanière de façon telle que le bilan final de croissance est négatif.

Les points B, C et D montrent une croissance positive avec des variations au cours du temps.

Le point E présente les meilleures performances de croissance, avec un accroissement d'environ 100 % du poids au cours de l'expérience.

#### III.2.2. Evolution du poids sec (fig. 3b)

Le poids sec correspond au contenu organique et au contenu en cendre de l'individu. Son évolution est à peu près la même pour chaque niveau :

- une augmentation rapide du poids sec qui correspondrait à une accumulation de matière organique sous forme de lipides, de sucres et de protéines,

- une diminution lente et progressive jusqu'à un minimum en janvier 1987 (sauf pour le niveau E) avec un pic de croissance à la mi-octobre 86 qui correspondrait à une accumulation de poids organique et à la croissance individuelle.

- une reprise de croissance dès le mois de janvier, suivie d'une nouvelle augmentation rapide du poids sec puis d'une diminution considérée comme une ponte (voir résultats biochimiques) qui a lieu en mai pour le niveau E alors qu'elle est plus tardive pour les autres niveaux.

Le pourcentage de ponte du point E est de 52,45 % en fin de cycle alors que l'année précédente il était de 33,4 %.

### III.2.3. Indice de condition (fig. 3d)

On définit cet indice par la formule :

$$IC = \frac{\text{Poids sec}}{\text{Poids total} - \text{Poids de la coquille}} \times 100$$

L'indice de condition évalue le taux de remplissage de l'espace intervalvaire. Il permet de définir l'état physiologique dans lequel se trouve les individus et donc de mettre en évidence les cycles saisonniers (voir l'évolution du poids sec). En effet une forte valeur de l'indice indique généralement un individu qui se trouve dans de bonnes conditions, comme c'est le cas en été. Un indice ayant une faible valeur comme c'est le cas tout au long de la période hivernale définit des individus dans de mauvaises conditions physiologiques.

On observe alors :

- un engraissement puis une perte de poids en début de cycle ( du 20.06.86 au 16.09.86).

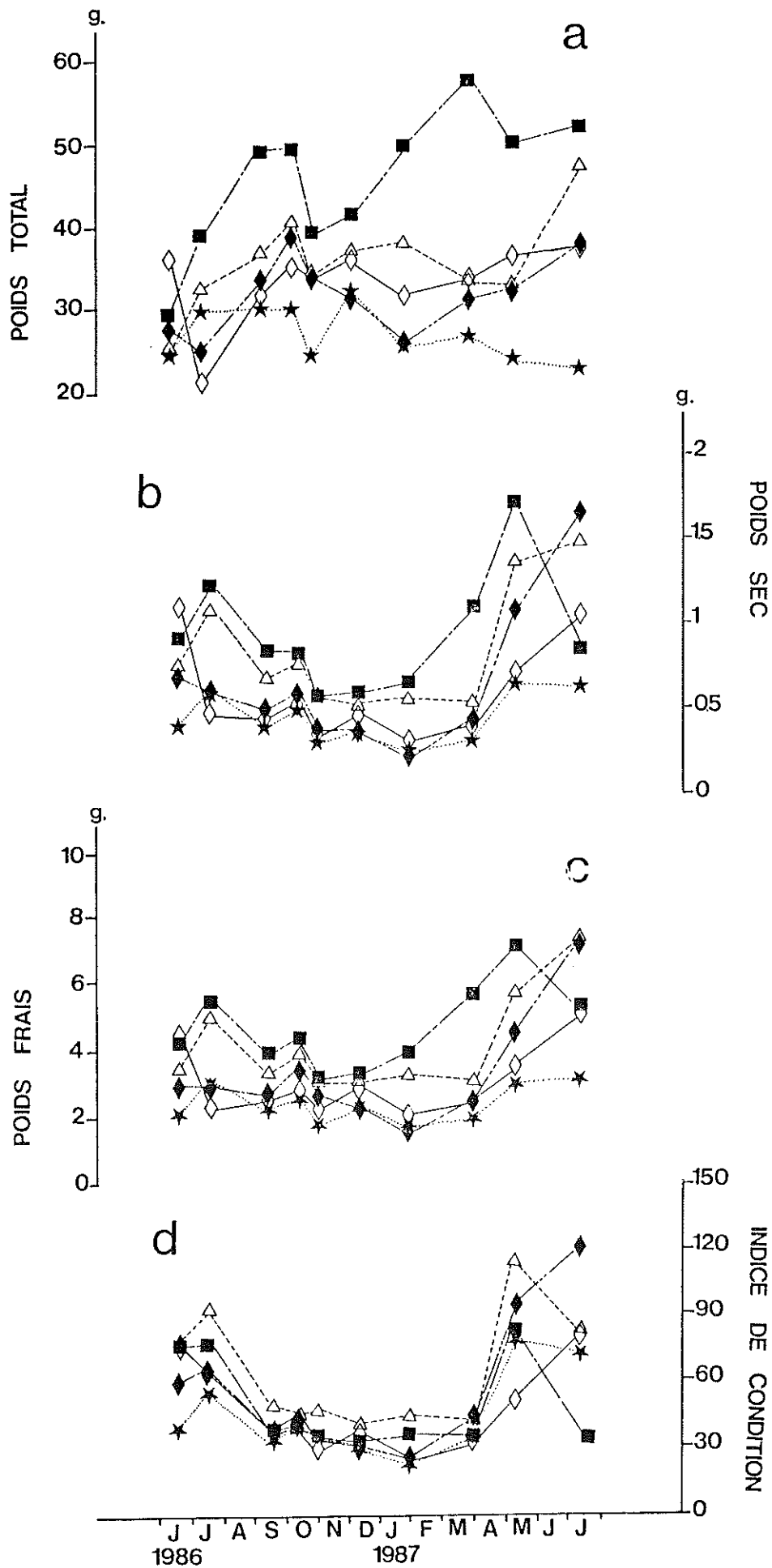


figure 3 : évolution des paramètres pondéraux pour les différents points expérimentaux

- une période sans variation (du 16.09.86 au 31.03.87).

- une augmentation rapide.

Tout ceci est général pour les 5 niveaux. Par contre à la fin du cycle, il existe des différences entre les 5 niveaux :

- l'indice de condition pour le niveau A ne varie que faiblement.

- celui des niveaux B et C augmente. On peut supposer qu'à cette période là, les huîtres de ces niveaux préparent leur ponte.

- celui des niveaux D et E chutent. Les huîtres sont peut être en train de pondre.

Il aurait été intéressant de continuer les prélèvements afin d'observer l'évolution des huîtres des niveaux B et C et de voir une ponte beaucoup plus tardive pour ces niveaux que celle des niveaux D et E.

### III.3. Composition biochimique des individus

L'étude des variations saisonnières de la composition biochimique de l'huître permet une approche plus fine et concrète des différents phénomènes intervenant sur l'huître C. gigas.

#### III.3.1. Evolution de la teneur en protéines (fig. 4a)

Les protéines jouent un rôle de structure et ne montrent que peu de variations qui soient corrélées avec des phénomènes métaboliques autres que la croissance.

Leur évolution suit donc l'allure générale de l'évolution du poids sec représentatif de la croissance somatique.



### III.3.2. Evolution des Sucres totaux (fig. 4d)

Les sucres totaux montrent des fluctuations absolument similaires à celles observées pour le glycogène. Ceci est dû au fait que les sucres libres représentent une faible part des sucres totaux (de l'ordre de 20 %). Ils ne semblent pas, par ailleurs, être impliqués dans les cycles biologiques qui mettent principalement en jeu le glycogène.

### III.3.3. Evolution de la teneur en glycogène (fig. 4b)

L'aspect des courbes de teneurs en glycogène est similaire dans leur ensemble pour les 5 niveaux.

Au début de l'expérience, on observe une légère diminution qui pourrait provenir d'une ponte, puis du 21.07.86 au 16.10.86 l'accumulation du glycogène est très forte, elle semble proportionnelle au temps d'émersion.

Entre le 16.10.86 et le 5.11.86, la teneur en glycogène diminue fortement. Ceci correspond à une période de froid et de stress due à la turbidité.

Par la suite, les variations de la teneur en glycogène sont pratiquement nulles pour les niveaux A, B et C et faibles pour D et E. L'analyse des suivis de mortalité, publiée par ailleurs, montre que cependant des huîtres survivent aux conditions difficiles de l'hiver. Au début de l'année 1987, il y a une augmentation suivie d'une diminution des sucres, qui sont proportionnelles au niveau des parcs (excepté pour A).

La nouvelle accumulation des sucres se produit également pour les niveaux qui n'ont pas pondu alors que le poids sec est stabilisé ou augmente légèrement.

Cette augmentation considérable du glycogène montre bien les phénomènes de croissance et de formation de réserves du glycogène après la période hivernale. A partir du mois de mai, la teneur en glycogène diminue brutalement (alors que les conditions d'environnement sont favorables). Celui-ci est ainsi transformé en lipides dans les gonades au cours de la gamétogénèse.

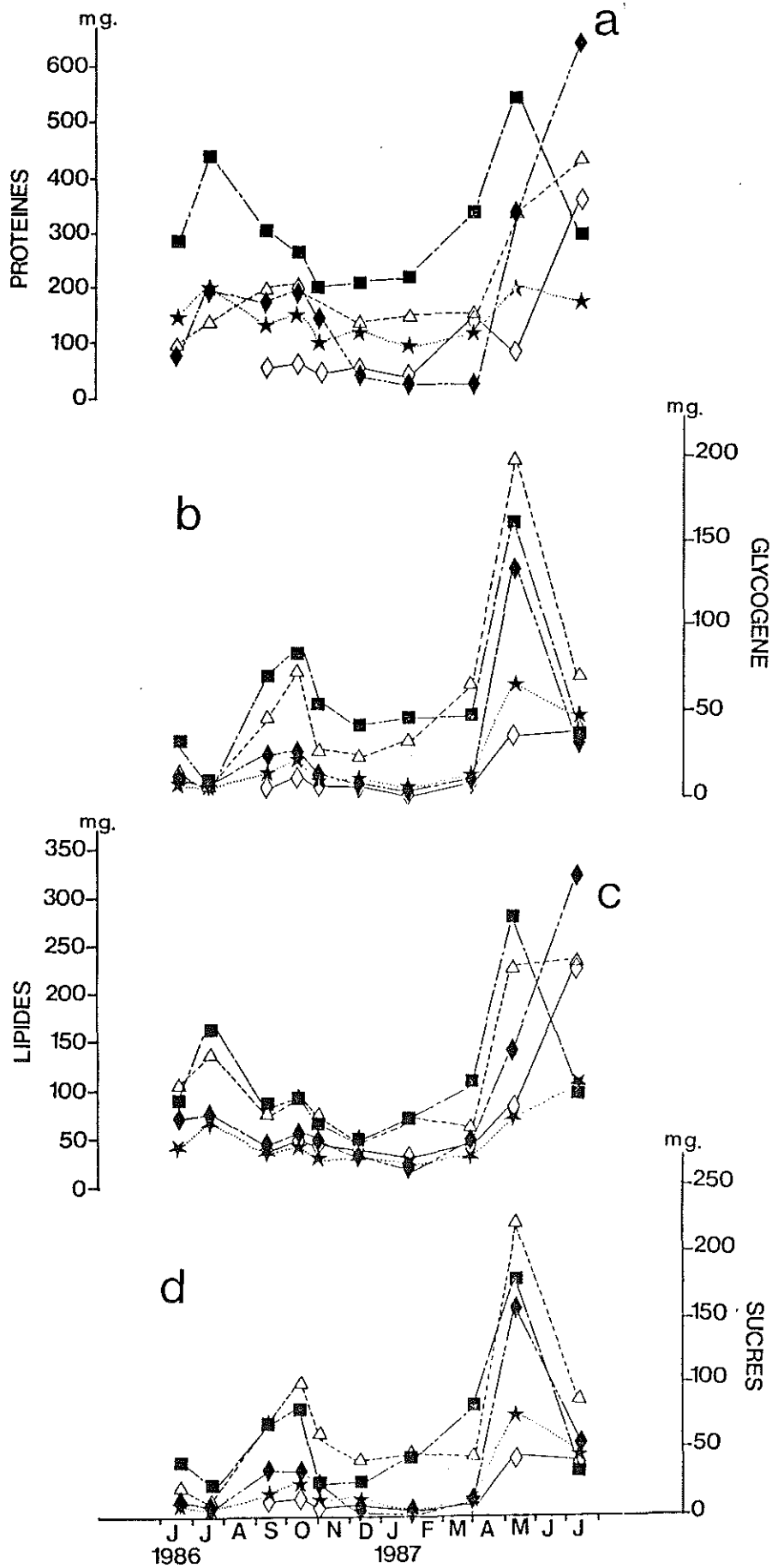


figure 4 : évolution des teneurs moyennes des individus en composants biochimiques, pour les différents niveaux

Le glycogène est reconnu depuis longtemps comme étant la réserve énergétique principale des bivalves (Giese, 1966, 1969), non seulement chez les adultes pendant des périodes d'insuffisance nutritionnelle (notamment en hiver), mais également pour la formation des gamètes.

#### III.3.4. Evolution de la teneur en lipides (fig. 4c)

L'évolution générale de la teneur en lipides suit celle du poids sec.

Après le prélèvement du 16.09.86, on observe une légère diminution puis une augmentation jusqu'à la fin de l'expérience sauf pour le niveau E qui diminue à la suite de la ponte avec une disparition de 50 % du poids sec. La diminution des lipides est de l'ordre des 50 % en raison de la forte teneur lipidique des produits génitaux.

Entre le 16.10.86 et le 5.11.86, la forte diminution du glycogène ne se retrouve que très atténuée : l'essentiel des réserves énergétiques étant constitué par ce glycogène, les lipides ne sont que peu concernés en cas d'importante demande énergétique et ce jusqu'à l'épuisement des réserves glucidiques.

#### III.4. Composition relative

L'intérêt de l'expression des résultats sous forme relative consiste en une représentation qui ne prend pas en compte les phénomènes liés à la croissance somatique. Ce mode de représentation correspond à l'animal standard, animal théorique dont l'un des paramètres (en général le poids sec) est fixé à une valeur arbitraire. Les autres paramètres sont alors calculés à partir de cette valeur, par exemple 1 g.

##### III.4.1. Evolution relative des protéines (fig. 5a)

L'allure générale montre que les teneurs en protéines demeurent à un niveau constant au cours de l'année. En d'autres termes, celles-ci n'apparaissent pas aussi impliquées que le glycogène et les lipides dans les remaniements biochimiques liés à l'accumulation et à des réserves en fonction de la capacité trophique du milieu, ou à l'élaboration des produits génitaux et à leur émission. La comparaison des différents

niveaux montre que seul le point D présente des teneurs significativement plus faibles. Il s'agit en fait de la conséquence des fortes teneurs en glycogène à ce niveau, par suite du calcul en pourcentage du poids sec.

#### III.4.2. Evolution relative des lipides (fig. 5c)

L'allure générale des couches est très similaire pour les différents points. Au cours du cycle, l'animal, après une augmentation en 1986 de sa teneur en lipides, voit celle-ci stagner au cours de l'automne et de l'hiver, avec des fluctuations plus accentuées au niveau D que pour les autres niveaux. La teneur en lipides augmente plus précocement en 1987, et atteint des valeurs plus élevées : 12 % pour le point E à l'avant dernier prélèvement (il est possible que cette valeur ait été dépassée entre les 2 prélèvements) et entre 13,12 % et 16,57 % pour les autres niveaux. Il se produit donc des variations de la teneur en lipides plus intenses et plus précoces au cours des mois de juin et juillet 1987.

#### III.4.3. Evolution relative des sucres totaux (fig. 5d)

Des différences notables interviennent entre les niveaux, puisque le point D, et dans une moindre mesure, le point E sont caractérisés par des teneurs plus élevées au cours de l'année. Les autres points ne présentant pas de différence marquées entre eux.

La période d'accumulation se situe entre la fin du mois de juillet et la fin du mois d'octobre, pour la période automnale et au cours du mois d'avril pour le printemps.

#### III.4.4. Evolution relative du glycogène (fig. 5b)

Elle suit de près celle des sucres totaux. L'accumulation des réserves glycogéniques en période automnale demeure faible pour les niveaux B, A et C, et plus conséquente pour les niveaux E et D. La diminution des teneurs en glycogène des niveaux supérieurs s'accroît jusqu'à fin janvier, pour remonter légèrement vers la fin du mois de mars. A l'exception des premiers prélèvements, les teneurs en glycogène demeurent très fortes pour le point D. Elles sont supérieures à 8 % du 15 septembre au 12 mai et ne baissent qu'en fin de cycle, en période de ponte.

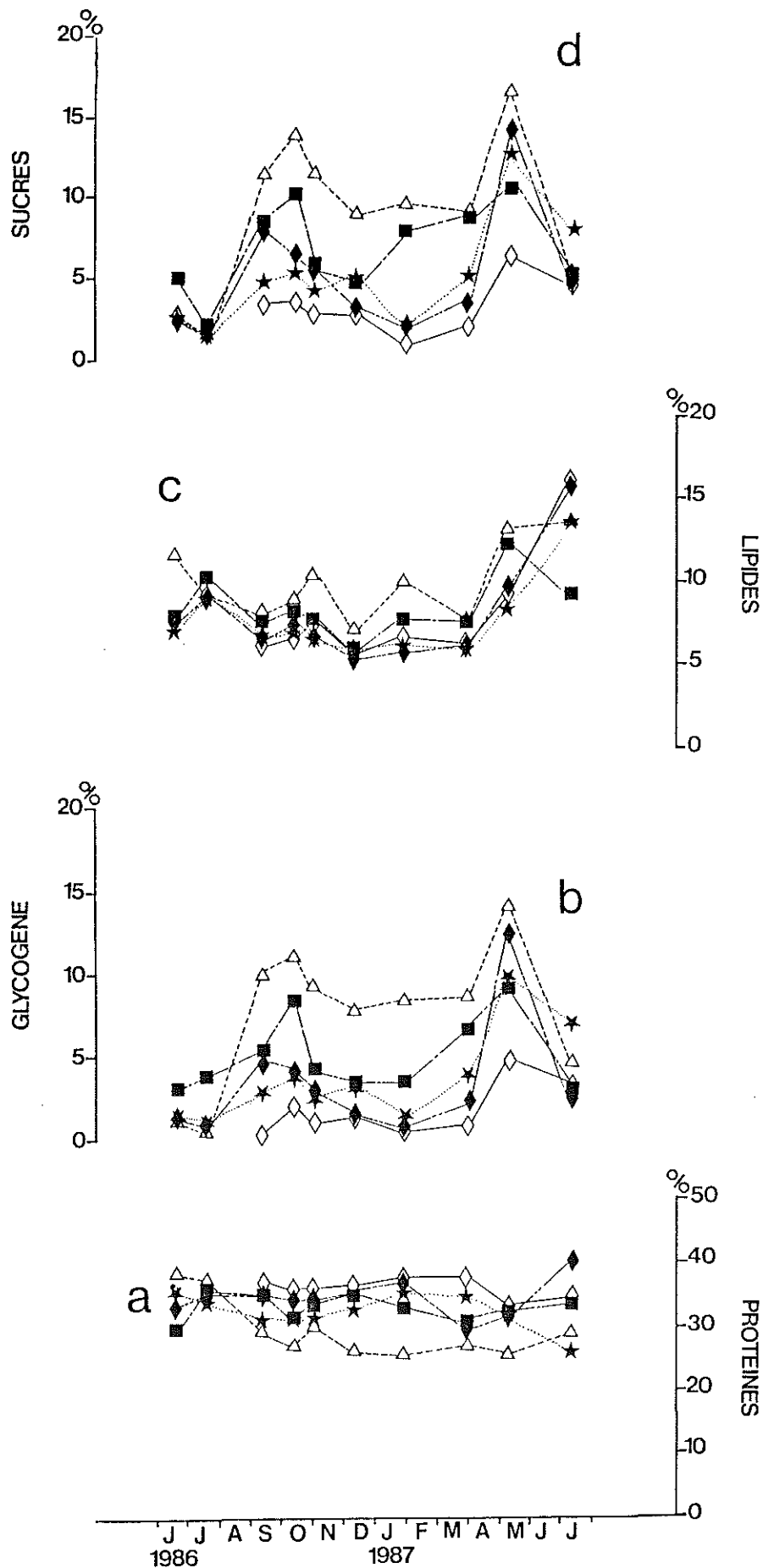


figure 5 : évolution des compositions biochimiques relatives (en pourcentage du poids sec) pour les différents niveaux

Le point E voit sa teneur en glycogène se maintenir à un niveau inférieur au point D, pendant l'hiver, alors qu'il bénéficie d'un temps d'immersion supérieur. Le phénomène, observé également pour des palourdes élevées au même endroit pourrait être dû à l'augmentation des particules fines en fonction de la profondeur sur ce site (Gouilletquer et al., 1987), jusqu'à des valeurs venant perturber l'animal et accroître ses besoins métaboliques.

#### III.4.5. Rapport glycogène/lipides

Ce rapport a pour but de mettre en évidence les transformations biochimiques liées aux voies métaboliques de la glycogénolyse. Il demeure cependant influencé par l'utilisation préférentielle de l'un ou l'autre de ces constituants, telle que la consommation des réserves glycogéniques en période de déficience nutritive. En raison de l'importance de l'émission des gamètes, d'une part et des différences dans leur composition biochimique d'autre part (les ovules étant beaucoup plus riches en lipides que les spermatozoïdes), il a donc semblé intéressant de calculer séparément ce rapport pour les individus des deux sexes, lorsque l'identification sexuelle était possible par frottis (période printanière de prématuration et maturation estivale).

##### III.4.5.1. Femelles (fig. 6b)

Pour ce qui est des femelles, on peut observer une diminution du rapport entre le premier et le deuxième prélèvement, alors que le poids sec est, en général, en augmentation. En l'absence d'amaigrissement, cette diminution peut être interprétée comme une disparition du glycogène au profit des lipides, qui correspond à la maturation des ovocytes. Par la suite, se produit en automne une inversion de ce rapport, alors que le poids sec diminue. Il se produit donc vraisemblablement une émission partielle d'ovules, en même temps qu'une accumulation de glycogène qui peut provenir soit de l'alimentation, soit de la lyse des produits génitaux restants par néoglycogénèse.

On notera que l'accumulation de glycogène ainsi caractérisée se poursuit jusqu'à fin octobre, tout au moins pour les niveaux A, B et E.

Ces réserves ainsi accumulées sont utilisées au cours de l'hiver : le rapport diminue après le mois d'octobre, avec toutefois des intensités variables selon les niveaux, puisque cette diminution est très nette pour les 3 points les plus hauts mais est moins évidente pour les points D et E. Comme l'amaigrissement demeure général, d'une part, et que la teneur en lipide diminue d'autre part de manière uniforme, on en déduira que l'utilisation des réserves glycogéniques est plus intense pour les 3 niveaux supérieurs. Le schéma classique qui veut qu'en période de déficience nutritive, les réserves glycogéniques soient épuisées avant que les lipides ne soient mobilisés, ne peut être vérifié pour les niveaux inférieurs, qui ne voient pas d'utilisation massive du glycogène. Ceci peut expliquer que pour ces points, le rapport ne descend pas en dessous de la moitié de la valeur maximale.

Au cours du printemps, l'augmentation rapide du rapport montre, ainsi qu'il avait été dit, plus haut, une restauration rapide des teneurs en glycogène. L'examen des teneurs en lipides, qui augmentent elles aussi à la même époque, révèle qu'en fait, cette augmentation du glycogène est extrêmement rapide. Les réserves énergétiques ayant été largement consommées, et en l'absence, à cette période de l'année, de matériel provenant de la lyse de gamètes résiduels (les gonades sont vides à l'examen macroscopique), l'accumulation de glycogène et de lipide est donc d'origine alimentaire. Ce fait se trouve conforté par la présence de floraisons phytoplanctoniques précoces, observées dès la première quinzaine d'avril 1987 dans le bassin de Marennes-Oléron (Legrand, 1987).

Entre les 2 derniers prélèvements ; se produit une diminution considérable du rapport glycogène/lipide, en même temps qu'une augmentation du poids sec (à l'exception du point E). Cette diminution est due à la baisse des teneurs en glycogène d'une part, et à l'augmentation des teneurs en lipides d'autre part. Ces phénomènes sont d'autant plus accentués que les points sont à des niveaux inférieurs, mais, toujours à l'exception du point E, ils peuvent être observés pour chaque niveau.

Comme les protéines ne montrent pas de fluctuations parallèles entre les différents points, on en déduira que le glycogène s'est transformé en partie en lipides, par glycogénolyse.

Il est possible de calculer, pour les quatre points supérieurs, le rapport entre les valeurs moyennes des quantités de glycogène disparu et de lipides apparus. Ce rapport est de 0,70 pour le point A, 0,0008 pour le point B, 0,539 au point C et 0,71 au point D. Le calcul ne peut être effectué pour le point E, puisque l'émission d'une quantité importante d'ovules riches en lipides modifie les valeurs de ce composé après la ponte. Dans les quatre cas évoqués, la diminution du glycogène est donc inférieure à l'accumulation de lipides.

#### III.4.5.2. Mâles (fig. 6a)

Au début de la période étudiée, l'allure générale des fluctuations ne diffère pas sensiblement pour les mâles, de ce que l'on a observé pour les femelles. En fin de cycle, la montée du rapport est plus importante que ce qui est observé chez les femelles : 0,864 tous prélèvements confondus, contre 0,727. La diminution consécutive est moins importante chez les mâles : les valeurs finales sont de 0,398 pour les mâles et de 0,198 pour les femelles. L'intensité de cette diminution, exprimée en pourcentage de la valeur maximale est de  $72,2 \% \pm 11,42 \%$  pour les femelles et de  $51,9 \pm 17,36 \%$  pour les mâles. Bien que ces résultats ne soient pas significativement différents au seuil de 5 %, on remarque que l'intensité de la glycogénolyse, telle qu'elle est estimée par le rapport glycogène/lipides, est plus élevée chez les femelles que chez les mâles.

#### III.4.6. Valeur calorifique (fig. 6c)

Le contenu énergétique des individus en chaque point semble être en relation avec le niveau d'émersion. Les 2 points les plus profonds se différencient plus nettement que les 3 autres, qui présentent tous des valeurs inférieures à 3 Kj/g pendant l'hiver. L'acquisition d'énergie, au printemps 87, est également plus rapide et plus précoce pour les points les plus profonds. Lors du dernier prélèvement, les variations observées traduisent, soit la ponte et donc la disparition de matériel riche en lipides hautement énergétiques, soit la poursuite de la maturation liée à l'accumulation de ces lipides (points B et C). Pour le point le plus élevé (A), la valeur calorifique ne s'accroît pas en 1987 significativement plus qu'en 1986.



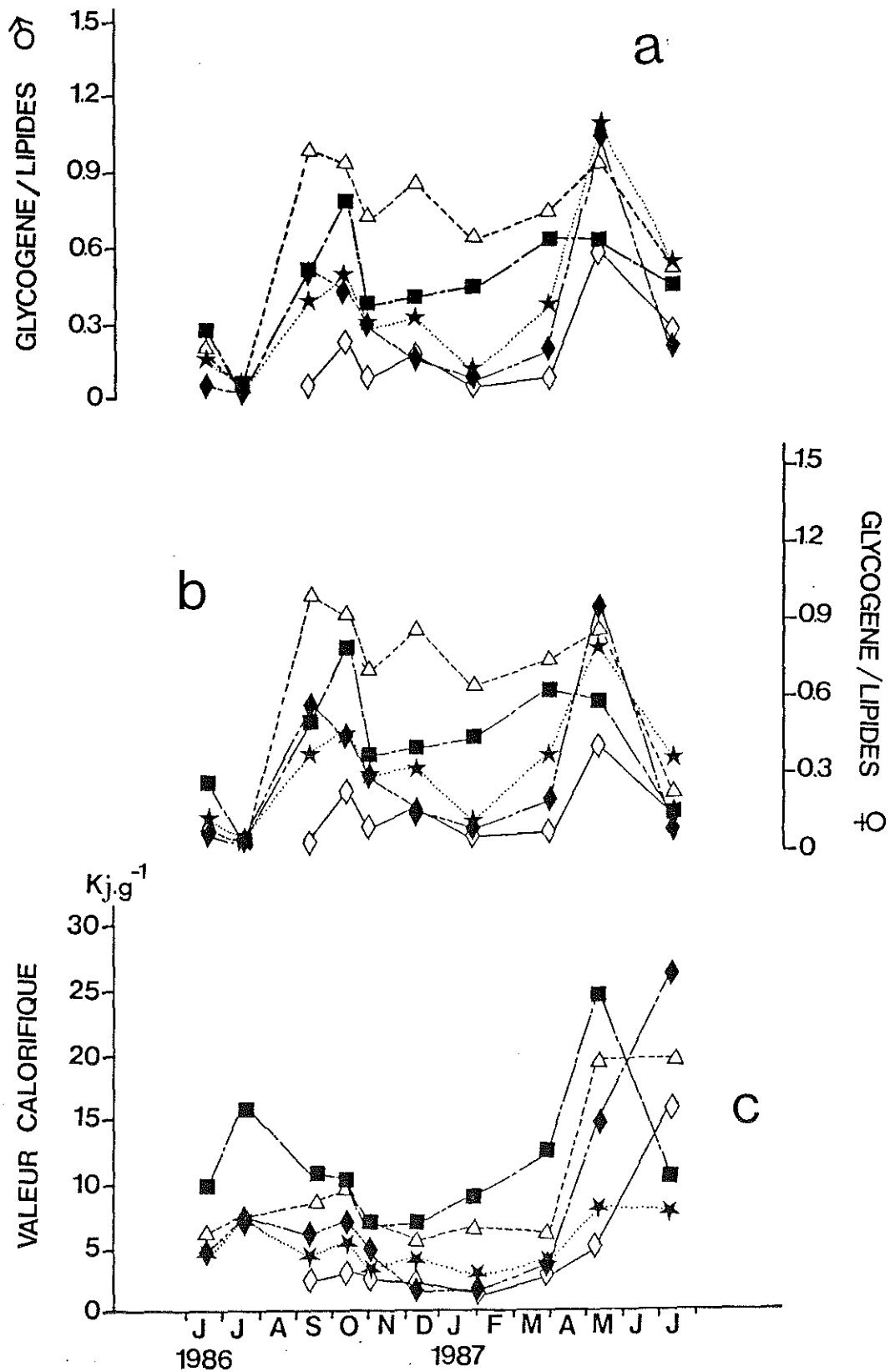


figure 6 : indices biochimiques et valeur calorifique moyenne des individus

$$VC = \frac{(\text{Prot} \times 23,65) + (\text{sucres} \times 17,16) + (\text{Lip} \times 36,68)}{1\ 000}$$

#### IV. DISCUSSION

Le comportement des espèces de bivalves vis-à-vis de l'émersion peut être très variable (Newell, 1978). Pour quelques unes d'entre elles, la croissance peut être plus rapide pour les populations médiolittorales que pour les populations infralittorales. C'est par exemple le cas pour Mytilus edulis et Crassostrea virginica pour lesquelles la croissance la plus rapide est observée pour un pourcentage de durée d'émersion de 20 % (Gillmor, 1982). Ces espèces sont donc adaptées à la vie dans la zone de balancement des marées. Par contre, bon nombre d'autres espèces semblent présenter des vitesses de croissance supérieures dans l'étage infralittoral (Jacques et al., 1984). En ce qui concerne l'huître creuse C. gigas, Sumner (1980 et 1981) a montré que la croissance était plus rapide pour des populations infralittorales que pour des populations médiolittorales. Ceci confirme les résultats de Walne et Davis (1977) qui avaient observé que la croissance était plus rapide pour une durée d'émersion de 4 % comparativement à une durée de 20 %.

Ces travaux montrent donc que cette espèce présente un optimum de croissance lorsque les populations demeurent constamment immergées. Nous avons montré qu'elle supportait cependant bien l'émersion, puisqu'elle était susceptible de se maintenir jusqu'au niveau de mi-marée, et que les performances de croissance étaient proportionnelles à la durée d'immersion. Gouletquer et al. (1987) avaient d'ailleurs trouvé des résultats identiques, lors d'une expérience portant sur trois niveaux bathymétriques différents avec une technique d'élevage à plat. L'influence du mode de culture ne remet donc pas en question cette dépendance vis-à-vis du degré d'émersion chez cette espèce. Dame (1972) avait obtenu les mêmes conclusions pour l'huître américaine Crassostrea virginica.

Les résultats obtenus dans ce rapport permettent d'évaluer le point au-dessus duquel la croissance devient nulle. Ce point correspond à un temps d'émersion, et donc à un niveau bathymétrique pour lequel l'animal

reçoit une énergie tout juste suffisante pour assurer une survie, mais pas sa croissance. Le "scope for growth", tel qu'il a été défini par Bayne (1976) est alors nul à l'échelle annuelle. L'équation décrivant la croissance annuelle en poids total, en fonction du pourcentage d'émersion s'écrit :

$$Y_{(g)} = 32,72 - 0,646 \times (\% \text{ émersion})$$

avec  $r = 0,97$  et  $n = 5$

L'effort de reproduction n'a pu être calculé pour tous les points, puisque seul le point le plus profond avait montré une émission totale de gamètes avant la fin des prélèvements. Cependant les augmentations de poids sec calculées pour l'avant dernier prélèvement semblent montrer que cet effort de ponte est lui aussi proportionnel au niveau bathymétrique.

Les résultats obtenus lors de l'étude des composants biochimiques confirment que le "scope for growth" est lié au niveau d'immersion. Le glycogène est représentatif pour une très large part des réserves stockées chez les mollusques (Gabbott, 1975).

Son utilisation pendant les périodes de déficit nutritif (hiver) a été démontrée chez de très nombreuses espèces (Giese, 1969). L'évolution à différents niveaux montre qu'effectivement c'est pour les temps de nutriments les plus réduits que le glycogène diminue en premier et qu'il atteint les teneurs les plus faibles pendant l'hiver. Les lipides ne sont mobilisés que plus tardivement et en plus faible quantité, ceci étant indicatif d'un jeûne non total (Riley, 1976).

A l'approche du printemps se produit une augmentation très rapide des teneurs en glycogène à tous les niveaux. Cette augmentation est à relier à l'apparition des blooms phytoplanctoniques très précoces cette année, puisqu'elle se situe dans la première partie du mois d'avril (Le Grand, 1987). L'utilisation ultérieure de ce composé pour la gamétogenèse, qui a été démontrée chez Mytilus edulis (Bayne et al., 1982) varie selon les niveaux bathymétriques. On a observé par le rapport glycogène/lipides que la décroissance du glycogène lors du dernier prélèvement correspondait pour tous les niveaux, à une utilisation de celui-ci. Cet usage peut

correspondre soit à une augmentation du métabolisme qui épuise les réserves, soit à une transformation du glycogène en lipides, par la voie de la lipogénèse (Kluytmans et al., 1985). L'accumulation de glycogène et sa transformation en fin de période de maturation des gamètes, sont liées au niveau bathymétrique et donc à la quantité de nourriture disponible, telle qu'elle est limitée par la durée d'émersion.

La ponte sur les résultats concernant les poids secs, n'est évidente que pour le point le plus bas, pour lequel tous les individus avaient pondu à la fin des prélèvements. Pour 1986 le calcul indique, pour une moyenne de l'échantillon de 1,29 g de poids sec avant la ponte, une diminution de 0,43 g soit un effort de reproduction de 33,46 %. L'année suivante, l'effort de reproduction augmente, puisque l'émission de gamètes représente 52,45 % du poids initial avec une quantité de gamètes émise égale à 0,93 g. L'examen des données individuelles révèle qu'en fait certains individus (2 d'entre eux) auraient déjà pondu lors de l'avant dernier prélèvement. Ceci aurait pour conséquence de sous-estimer l'importance de la ponte à ce niveau.

En ce qui concerne le point D, les moyennes des poids secs sont en légère augmentation d'un prélèvement à l'autre. L'examen des poids individuels permet de constater que le dernier prélèvement comporte soit 4 individus légèrement supérieurs à la moyenne générale, soit 6 individus d'un point nettement inférieur. Les individus ayant continué leur croissance, ont un poids sec moyen de 3,79 g tandis que ceux ayant maigri, atteignent 0,681 g en moyenne. On peut donc considérer que ces 6 individus avaient pondu lors du dernier prélèvement. Ceci se traduit, sur le plan biochimique, par un maintien de la teneur en lipides pour l'ensemble de l'échantillon, alors que ce composant décroît fortement pour le niveau le plus bas (ponte totale à la fin de l'étude).

Il n'a pas été possible de mettre clairement en évidence une ponte pour les trois niveaux supérieurs. A l'exception du niveau le plus élevé, on observe cependant que les teneurs en lipides continuent d'augmenter, indiquant ainsi la poursuite de la maturation des gamètes. Un examen ultérieur des individus restant en fin d'expérience, a révélé que les niveaux B et C ont pondu dans le courant du mois d'août.

## V. CONCLUSION

L'effet de stress, apparaissant essentiellement sous la forme d'une réduction du temps disponible pour la nutrition, et qui est lié au degré d'émergence, se traduit donc par des perturbations liées au cycle biologique de l'espèce (Lubet et Mann, 1987) : **diminution de la croissance et de la production, affaiblissement des réserves énergétiques, diminution de l'effort de reproduction et retard dans l'émission des gamètes lié à un allongement de la période de maturation.**

## VI. BIBLIOGRAPHIE

- BAUD J.P., HOMMEBON P., 1987. Estimation des stocks d'huîtres creuses en élevage dans la baie de Bourgneuf en octobre 1985. Rapport interne IFREMER, DRV-87-002-RA/Bouin, 28 p.
- BAYNE B.L., 1976. Marine Mussels. Their Ecology and physiology. International biological programme n°10, Cambridge University press, Cambridge, 506 p.
- BAYNE B.L., BUBEL A., GABBOTT P.A., LIVINGSTONE D.R., LOWE D.M., MOORE M.N., 1982. Glycogen utilisation and gametogenesis in Mytilus edulis L.. Mar. Biol. Letters, 3 : 89-105.
- BLIGH E.G., DYER W.F., 1959. A rapid method of total lipids extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37 : 911-917.
- BODOY A., BACHER C., GEAIRON P., 1987. Estimation des stocks d'huîtres cultivées dans le bassin de Marennes-Oléron en 1986. Rapport interne IFREMER DRV-87-005-RA/TREM, 22 p.
- DAME R.F., 1972. The ecological energies of growth, respiration and assimilation in the intertidal american oyster, Crassostrea virginica. Mar. Biol., 17 : 243-250.
- DESLOUS-PAOLI J.M., 1980. Contribution à l'étude de la biologie de l'huître Crassostrea gigas dans le bassin et les claires de Marennes-Oléron. Thèse de doctorat 3ème cycle mention océanographie biologique, Université d'Aix Marseille II, 134 p.

- DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBES P.A., SMITH F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars related substances. Anal. Chem., 28 : 350-356.
- GABBOTT P.A., 1975. Storage cycles in marine bivalves molluscs : a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In : Proceedings of ninth Europ. Mar. Biol. Symp. (ed. H. Barnes) : 191-211. Aberdeen University press, Aberdeen.
- GIESE A.C., 1966. Lipids in the economy of marine invertebrates. Physiol. Rev., 46 : 244-298.
- GIESE A.C., 1969. A new approach to the biochemical composition of the molluscs body. Oceanogr. and Mar. Biol. Annual Rev., 7 : 175-229.
- GILLMOR R.B., 1982. Assessment of intertidal growth and capacity adaptation in suspension feeding bivalves. Mar. Biol., 68 : 277-286.
- GOULLETQUER P., LOMBAS I., PROU J., 1987. Influence du temps d'immersion sur l'activité reproductrice et sur la croissance de la palourde japonaise Ruditapes philippinarum et l'huître japonaise Crassostrea gigas. Haliotis, 16 : 453-462.
- HERAL M., 1986. L'ostréiculture française traditionnelle, pp. 345-390. In Barnabé ed. L'Aquaculture. Lavoisier, Paris : 1123 p.
- JACQUES A., BRETHERS J.C.F., DESROSIERS G., 1984. La croissance de Mya arenaria en relation avec les caractéristiques du sédiment et la durée d'immersion sur la batture de Rimouski. Sci. Tech. eau, 17 (1) : 95-99.
- KLUYTMANS J.H., BOOT J.H., OUDEJANS R.C.H.M., ZANDEE D.I., 1985. Fatty acid synthesis in relation to gametogenesis in the mussel Mytilus edulis. Comp. Biochem. physiol., 81 B : 959-963.

- LEGRAND J., 1987. Variabilité journalière du phytoplancton dans le bassin de Marennes-Oléron. Mémoire DUT, Brest.
- LOWRY O.M., ROSENBROUGH N.J., FARR O.L., RANDALL R.J., 1951. Protein measurements with the folin reagent method. J. Bioch. Chim., 193 : 133-145.
- LUBET P., MANN R., 1987. Les différentes modalités de la reproduction chez les mollusques bivalves. Haliotis, 16 : 181-195.
- MARSH B., WEINSTEIN D.B., 1966. Simple charring method for determination of lipids. J. Lipid. Res., 7 : 574-576.
- MAURER D. et BOREL M., 1985. Estimation de la biomasse d'huîtres Crassostrea gigas en élevage dans le bassin d'Arcachon. IFREMER, rapport interne, 18 p mimeo.
- NEWELL R.C., 1978. Biology of intertidal organisms.
- RILEY R.T., 1976. Changes in the total protein, lipid, carbohydrate and extracellular body fluid free amino acids of the pacific oyster, Crassostrea gigas, during starvation. Proc. Nat. Shellfish Assoc., 65 : 84-90.
- S.H.O.M., 1987. Table des marées des grands ports du monde. Service hydrographique et océanographique de la marine, Paris, 166 p.
- SUMNER C.E., 1980. Growth of pacific oysters, Crassostrea gigas Thunberg, cultivated in Tasmania. I. Intertidal stock Culture. Austr. J. mar. freshwater Res., 31 : 129-135.
- SUMNER C.E., 1981. Growth of pacific oysters Crassostrea gigas Thunberg, cultivated in Tasmania. II. Subtidal culture. Austr. J. Mar. Freshwater Res., 32 : 411-416.

WALNE P.R., MANN R., 1975. Growth and biochemical composition in Ostrea edulis and Crassostrea gigas, in H. Barnes (Editor) Proc. 9<sup>th</sup> Europ. mar. Biol. Symp. Oban, Aberdeen University press, Aberdeen : 587-607.

WALNE P.R. et DAVIES G., 1977. The effect of mesh covers on the survival and growth of Crassostrea gigas Thunberg grown on the sea bed. Aquaculture, 11 : 313-321.

WOELKE C.E., 1959. Growth of the pacific oyster, Crassostrea gigas in the waters of Washington State. Proc. Natl. Shellfish. Assoc., 50 : 133-143.



ANNEXE I

PROTOCOLES D'ANALYSES EMPLOYES

Dosage des lipides sur la chair de mollusque par la méthode de Marsh et Weinstein (1966)

Peser au maximum 10 mg de chair sèche finement réduite en poudre.

Extraction des lipides par la méthode de Bligh et Dyer (1959) :

- Ajouter 1 ml de chloroforme et 2 ml de méthanol
- Homogénéiser et centrifuger 10 minutes à 3 000 tours
- Pipéter le surnageant dans un grand tube en verre
- Refaire une seconde extraction
- Ajouter 4 ml d'eau distillée
- Homogénéiser et centrifuger 10 minutes à 3 000 tours
- Retirer la phase supérieure avec une pipette et la jeter
- Laisser la phase inférieure (phase chloroformique) évaporer à 50°C

Dosage par la méthode de Marsh et Weinstein (1966)

- Ajouter 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré
- Placer 20 minutes dans un bloc chauffant à 200°C
- Après refroidissement, prélever 2 ml de la solution dans un tube à hémolyse en verre
- Ajouter 3 ml d'eau distillée
- Homogénéiser
- Mesurer la densité optique à 360 mμ

Etalonnage : faire un étalon avec de l'acide tripalmitique entre 0 et 1500 μg/ml.

Dosage des sucres totaux et du glycogène sur la chair de mollusques par la méthode de Dubois et al. (1956)

Le dosage se fait sur 5 à 10 mg de chair sèche finement réduite en poudre.

Délipider, dans un petit tube en verre, avec un mélange chloroformé. - méthanol (1 vol - 2 vol) selon la méthode de Bligh et Dyer (1959). Centrifuger, le surnageant sert au dosage des lipides. Répéter l'opération une deuxième fois.

- Effectuer une extraction du culot de chair délipidé et séché avec 3 ml d'acide trichloroacétique à 15 % pendant 1 heure à 4°C.

- Homogénéiser à la fin de l'extraction, avant de centrifuger à 3 000 t/mn pendant 10 minutes (le centrifugat est constitué de protéine).

- Prendre 0,5 ml de surnageant dans un tube en polypropylène pour le dosage de sucres totaux par la méthode de Dubois et al. (1956).

- Prendre 0,5 ml de surnageant dans un tube en polypropylène, y ajouter 4 ml d'alcool absolu, ce qui fait précipiter le glycogène, centrifuger 10 mn à 3 000 t/mn, jeter le surnageant et reprendre le précipité avec 0,5 ml d'H<sub>2</sub>O distillé bouillant. Le dosage se fait par la méthode de Dubois et al. (1956).

- courbe étalon : Etablir une courbe par rapport au glucose de 0 à 500 µg. En prendre 0,5 ml sur lesquels sera effectué le dosage de Dubois et al. (1956).

Méthode de Dubois et al. (1956)

- Solution du phénol : faire une solution de phénol à 5 % soit à partir d'une solution mère à 80 g de phénol pour 20 ml d'eau distillée soit directement. Conserver cette solution à l'ombre et à 4°C car le phénol s'oxyde très vite.

- Solution de  $H_2SO_4$  concentré

Protocole :

Sur les 0,5 ml de solution à doser (échantillon pour sucres totaux, glycogène, courbe étalon), introduire :

- 1 ml de phénol à 5 %
- Laisser reposer 40 mn à la température ambiante
- Ajouter rapidement, à l'aide d'une pipette automatique 5 ml d' $H_2SO_4$  concentré. Attention aux projections (lunettes)
- Homogénéiser aussitôt
- Laisser reposer 10 mn à la température ambiante
- Centrifuger si il y a un précipité
- Mesurer la densité optique à 400 nm

Ne pas oublier de multiplier les résultats par 3 et les exprimer en ug équivalent glucose.

La teneur en sucres réducteurs libres est la différence entre les sucres totaux et le glycogène.

Dosage des protéines sur la chair de mollusque par la méthode de Lowry et al. (1951)

Le dosage se fait sur 10 mg de chair sèche et finement réduite en poudre.

Méthode de Lowry

• Solution de dosage

- Solution A : 2 % de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (carbonate de Sodium anhydre) dans une solution de NaOH à 0,1 soit 4 g/l.
- Solution B :  $\text{CuSO}_4$  (sulfate de cuivre) à 0,5 % dans  $\text{H}_2\text{O}$  distillée
- Solution C : solution de Tartrate de Sodium et potassium à 1 % dans  $\text{H}_2\text{O}$  distillée
- Solution D : 100 ml de solution A + 2 ml de solution B + 2 ml de solution C.

La solution D doit être préparée au moment de l'emploi. Elle ne se conserve que quelques heures.

- Solution E : réactif de Folin et Ciocalteu, produit Sigma au Laboratoire du Bois de Boulogne. Vérifier le titre de la solution du commerce et la ramener à N par dilution avec de l'eau distillée (titrer avec NaOH et phénol phtaleïne). Il est courant de diluer 2 fois la solution du commerce.

• Mode opératoire

- 10 mg de chair sèche dans 10 ml de NaOH 1N (pour avoir une homogénéisation parfaite de la chair

- mettre 30 mn à 60°C (bien bouché) ou une nuit à la température ambiante
  
- mettre dans un tube de 10 ml :
  - \* 0,5 ml de la dilution d'échantillon
  - \* 0,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N pour ramener à un pH neutre
  - \* 5 ml de la solution D
  
- après 10 mn à la température ambiante ajouter 0,5 ml de la solution E et homogénéiser aussitôt
  
- Laisser 1 heure 30 à la température du laboratoire afin que la coloration atteigne son maximum. Elle reste stable quelques heures.
  
- S'il se produit un précipité blanc, le faire disparaître soit par addition de 1 ml de tricitrate de sodium concentré (280 gr/l) soit par addition de 1 cc d'ETA à 0,05 N (dans ces 2 cas, pour le calcul final, il faut tenir compte de la dilution apportée par le tricitrate), soit par centrifugation 15 mn à 3 000 t/mn.
  
- Mesurer la densité optique à 750  $\mu$ m.

#### Courbe d'étalonnage

- Avec de l'albumine de boeuf (sigma)
- 1 gamma de protéine/cc + 1 mg/litre de protéine
- Les résultats sont exprimés en mg d'équivalence d'albumine
- L'amplitude de la courbe étalon va de 0 à 500  $\mu$ /cc dans la soude normale.

#### Pesée des cendres

30 à 50 mg de chair sèche broyée, sont pesés au 1/100 de mg dans des coupelles en aluminium tarées. Les échantillons sont brûlés dans un four électrique à moufles à 480°C pendant 24 heures. Au-dessus de 480°C, les coupelles en aluminium se désagrègent partiellement.

Les échantillons calcinés sont ensuite placés au dessiccateur pendant 1 heure au minimum après refroidissement. Les pesées, après passage au dessiccateur sont faites sur la balance électronique Mettler AE 163 au 1/100 de mg.