

UNIVERSITÉ DE NANTES  
FACULTÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES

ÉCOLE DOCTORALE  
VÉGÉTAL – ENVIRONNEMENT – NUTRITION – AGROALIMENTAIRE - MER

Année 2009

N° attribué par la bibliothèque

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

**INVASION DES POPULATIONS FÉRALES DE L'HUÎTRE  
CREUSE *CRASSOSTREA GIGAS* : STRATÉGIES  
D'ALIMENTATION ET DE REPRODUCTION DANS LES  
HABITATS TURBIDES**

THÈSE DE DOCTORAT

Discipline : Océanologie biologique  
Spécialité : Biologie et écologie côtières

*Présentée  
et soutenue publiquement par*

**Mickaël DUTERTRE**

*Le 20 octobre 2009, devant le jury ci-dessous*

*Rapporteurs : M. Michel MATHIEU, professeur, Université de Caen*

*M. Christian HILY, chargé de recherches, Université de Bretagne Occidentale*

*Examineurs : M. Joël FLEURENCE, professeur, Université de Nantes*

*M. Pierre BOUDRY, chargé de recherches, IFREMER Brest*

*M. Stéphane POUVREAU, chercheur, IFREMER Brest*

*Invités : M. Philippe GOULLETQUER, chargé de recherches, IFREMER Nantes*

*M. Philippe GLIZE, conseiller aquacole, SMIDAP des Pays de la Loire*

*Directeur de thèse : M. Peter G. BENINGER, professeur, Université de Nantes*

*Co-directeur de thèse : M. Laurent BARILLÉ, professeur, Université de Nantes*







UNIVERSITÉ DE NANTES  
FACULTÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES

ÉCOLE DOCTORALE  
VÉGÉTAL – ENVIRONNEMENT – NUTRITION – AGROALIMENTAIRE - MER

Année 2009

**INVASION DES POPULATIONS FÉRALES DE L'HUÎTRE  
CREUSE *CRASSOSTREA GIGAS* : STRATÉGIES  
D'ALIMENTATION ET DE REPRODUCTION DANS LES  
HABITATS TURBIDES**

THÈSE DE DOCTORAT

Discipline : Océanologie biologique  
Spécialité : Biologie et écologie côtières

*Présentée  
et soutenue publiquement par*

**Mickaël DUTERTRE**

*Le 20 octobre 2009, devant le jury ci-dessous*

*Rapporteurs : M. Michel MATHIEU, professeur, Université de Caen*

*M. Christian HILY, chargé de recherches, Université de Bretagne Occidentale*

*Examineurs : M. Joël FLEURENCE, professeur, Université de Nantes*

*M. Pierre BOUDRY, chargé de recherches, IFREMER Brest*

*M. Stéphane POUVREAU, chercheur, IFREMER Brest*

*Invités : M. Philippe GOULLETQUER, chargé de recherches, IFREMER Nantes*

*M. Philippe GLIZE, conseiller aquacole, SMIDAP des Pays de la Loire*

*Directeur de thèse : M. Peter G. BENINGER, professeur, Université de Nantes*

*Co-directeur de thèse : M. Laurent BARILLÉ, professeur, Université de Nantes*



## REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à exprimer toute ma gratitude au Professeur Joël Fleurence pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, ainsi que pour son soutien dans les démarches administratives et la confiance dont il a fait preuve en m'associant, dès le début de ma thèse, à l'équipe pédagogique de biologie animale.

Je remercie le Professeur Peter Beninger qui a été mon directeur de thèse durant ces quatre années. Sa patience, son expérience, sa rigueur et l'autonomie qu'il m'a accordée m'ont permis de découvrir et d'intégrer pleinement l'univers de la recherche scientifique.

Je remercie également le Professeur Laurent Barillé, co-directeur de thèse, pour la disponibilité, l'enthousiasme et le savoir-faire dont il a fait preuve en m'accompagnant, depuis le Master, dans ma découverte des secrets de l'huître.

Je remercie M. Joseph Baudet qui, depuis notre rencontre autour de l'Erdre et durant les trois années de monitorat durant lesquelles il m'a encadré, m'a toujours apporté son soutien et ses conseils avisés, tant pour la recherche que pour l'enseignement, et m'a fait découvrir tout un univers de scientifiques passionnés.

Un grand merci à Mme Odile Aumaille pour le temps et la qualité apportés à la confection des nombreuses coupes histologiques, ainsi que pour sa disponibilité lors de la préparation des séances de travaux pratiques de biologie animale.

Je remercie également M. Philippe Rosa pour son aide et sa bonne humeur lors de nos multiples périples en Baie de Bourgneuf en quête des huîtres férales.

Merci à M. Joël Haure, directeur de la station IFREMER de Bouin, ainsi qu'à tous les membres de son équipe, Mathias, Béatrice, Max, Christian, Jean-Louis et Hubert, pour leur contribution à l'ensemble des travaux présentés dans ce manuscrit.

Je remercie également M. David Lecossois, ostréiculteur à Fromentine, qui a rendu l'ensemble des travaux possibles grâce au prêt d'emplacements et de tables ostréicoles.

Je remercie Mme Anne-Laure Barillé et M. Yves Gruet, de la start-up Bio-Littoral, pour leur aide respective dans les travaux de modélisation et de recherche sur l'historique de l'invasion des huîtres férales en baie de Bourgneuf.

Je tiens également à remercier Christophe, Pascal, Hélène, Denise, Olivier, Sindy et Richard, qui ont permis mon intégration au sein du laboratoire et mon initiation à l'enseignement supérieur.

Je remercie le Syndicat Mixte pour le Développement de l'Aquaculture et de la Pêche des Pays de la Loire qui a financé cette étude dans le cadre du projet de « Modélisation de la croissance et de la reproduction de *Crassostrea gigas* baie de Bourgneuf ».

Enfin, je remercie le Professeur Michel Mathieu et M. Christian Hily, rapporteurs de ce manuscrit, ainsi que le Professeur Joël Fleurence, M. Pierre Boudry, M. Philippe Goulletquer, M. Stéphane Pouvreau et M. Philippe Glize qui ont également accepté de faire partie de mon jury de thèse.

## AVANT-PROPOS

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire d'Écophysiologie Marine Intégrée EA 2663 de l'Université de Nantes, devenu, au premier janvier 2008, l'Équipe Mer-Molécules-Santé UPRES EA 2160.

Ce travail a bénéficié d'une allocation du Ministère de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur de 2005 à 2008 et a été financé par le Syndicat Mixte pour le Développement de l'Aquaculture et de la Pêche (SMIDAP) des Pays de la Loire dans le cadre du projet : « Modélisation de la croissance et de la reproduction de *Crassostrea gigas* en baie de Bourgneuf ».

Ce travail a été réalisé en collaboration avec le personnel de l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) basé à la station expérimentale de Bouin (Vendée), qui a mis en place les sondes multi-paramètres et effectué les pêches de larves.

### **Publications scientifiques :**

**Dutertre M.**, Barillé L., Beninger P.G., Rosa P., Gruet Y., 2009. Variations in the pallial organ sizes of the invasive oyster, *Crassostrea gigas*, along an extreme turbidity gradient. Estuarine Coastal and Shelf Science, 85:431-436.

**Dutertre M.**, Beninger P.G., Barillé L., Papin M., Rosa P., Barillé A.-L., Haure J., 2009. Temperature and seston quantity and quality effects on field reproduction of farmed oysters, *Crassostrea gigas*, in Bourgneuf Bay, France. Aquatic Living Resources, 22:319-329.

**Dutertre M.**, Beninger P.G., Barillé L., Papin M., Haure J., 2009. Rising water temperatures, reproduction and recruitment of an invasive oyster, *Crassostrea gigas*, on the French Atlantic coast. Marine Environmental Research, in press.

**Dutertre M.**, Barillé L., Haure J., Cognie B., 2007. Functional responses associated with pallial organ variations in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 352:139-151.

### **Communications scientifiques:**

Haure J., Papin M., Dupuy B., Nourry M., Penisson C., Martin J.-L., Barillé L., **Dutertre M.**, Rosa P., Beninger P., Barillé A.-L., 2008. Étude de la croissance et de la reproduction de l'huître *Crassostrea gigas* en baie de Bourgneuf. Rapport SMIDAP, 114 pp.

**Dutertre M.**, Beninger P.G., Barillé L., 2007. Reproductive strategies of cultivated and wild oysters, *Crassostrea gigas*, in relation to environmental variations in a high-turbidity intertidal mudflat (Bourgneuf, France). 16<sup>th</sup> World Congress of Malacology, Anvers, Belgique. Communication orale.

**Dutertre M.**, 2007. L'huître : sexualité et gastronomie. Stage des moniteurs du CIES Grand-Ouest, Rennes, France. Poster.

**Dutertre M.**, Beninger P.G., Barillé L., Haure J., 2007. Influence des variations environnementales sur le cycle de reproduction des huîtres, *Crassostrea gigas*, sauvages et cultivées en baie de Bourgneuf. Forum des Doctorants, Nantes, France. Poster.

Haure J., Barillé L., **Dutertre M.**, 2007. Étude et modélisation de la croissance et de l'effort de reproduction des huîtres creuses, *Crassostrea gigas*, élevées en baie de Bourgneuf. Restitution des travaux pour le SMIDAP des Pays de la Loire, Olonne-sur-mer, France. Communication orale.

# Sommaire

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b>                                                  | <b>1</b>  |
| <b>CHAPITRE 1 : BIOLOGIE ET ÉLEVAGE DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> EN FRANCE</b> | <b>9</b>  |
| <b>1.1. Alimentation suspensivore</b>                                         | <b>11</b> |
| 1.1.1. Anatomie générale de <i>Crassostrea gigas</i>                          | 11        |
| 1.1.2. Structure des branchies et des palpes labiaux                          | 13        |
| 1.1.3. Capture des particules en suspension                                   | 16        |
| 1.1.4. Sélection pré-ingestive des particules                                 | 18        |
| <b>1.2. Sexualité et reproduction</b>                                         | <b>21</b> |
| 1.2.1. Sexualité                                                              | 21        |
| 1.2.2. Anatomie du système reproducteur                                       | 21        |
| 1.2.3. Gamétogenèse                                                           | 22        |
| 1.2.4. Phénologie et effort reproduction                                      | 26        |
| 1.2.4.1. Les phases du cycle de reproduction                                  | 26        |
| 1.2.4.2. Rythmicité du cycle de reproduction                                  | 27        |
| 1.2.4.3. Effort de reproduction                                               | 28        |
| <b>1.3. Développement larvaire et recrutement</b>                             | <b>29</b> |
| 1.3.1. De la vie pélagique à la vie benthique                                 | 29        |
| 1.3.2. Endotrophie, mixotrophie et exotrophie                                 | 30        |
| 1.3.3. Dispersion, survie larvaire et recrutement des juvéniles               | 31        |
| <b>1.4. Introduction et élevage de <i>Crassostrea gigas</i> en France</b>     | <b>32</b> |
| 1.4.1. Des huîtres exotiques au secours de l'ostréiculture                    | 32        |
| 1.4.2. La production ostréicole en France                                     | 33        |
| 1.4.3. Mortalités estivales et prolifération de <i>Crassostrea gigas</i>      | 34        |
| 1.4.4. Huîtres férales et huîtres cultivées en baie de Bourgneuf              | 35        |

**CHAPITRE 2 : FLEXIBILITÉ DE L'ALIMENTATION PRÉ-INGESTIVE EN  
RELATION AVEC LA TAILLE DES ORGANES PALLÉAUX CHEZ DES  
POPULATIONS FÉRALES DE *CRASSOSTREA GIGAS*** **39**

**2.1. Contexte des travaux** **41**

**2.2. Réponses fonctionnelles associées aux variations des organes palléaux chez l'huître  
creuse *Crassostrea gigas*** **43**

2.2.1. Abstract 43

2.2.2. Résumé 44

2.2.3. Introduction 45

2.2.4. Materials and methods 47

2.2.4.1. Specimen sampling and maintenance 47

2.2.4.2. Biometric measurements 48

2.2.4.3. Microalgal cultures 49

2.2.4.4. Experimental diet determinations 50

2.2.4.5. Functional response measurements (Conditions C1 and C2) 51

2.2.4.6. Endoscopic localization of particle selection sites (Conditions C3 and C4) 52

2.2.4.7. Statistical analysis 53

2.2.5. Results 53

2.2.5.1. Biometric measurements 53

2.2.5.2. Experimental conditions 55

2.2.5.3. Clearance rate 55

2.2.5.5. Endoscopic localization of the selection sites 57

2.2.5.6. Gill and pseudofaeces particle samplings 57

2.2.6. Discussion 60

2.2.6.1. Relationship between pallial organ area and turbidity 60

2.2.6.2. Processing of heat-killed *Tetraselmis suecica* 61

2.2.6.3. Functional responses related to gill and labial palp areas 61

2.2.6.4. Particle selection sites related to gill and labial palp areas 62

2.2.7. Conclusion 64

2.2.8. Acknowledgements 65

|                                                                                                                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>2.3. Variations des tailles des organes palléaux chez l’huître invasive, <i>Crassostrea gigas</i>, le long d’un gradient de turbidité extrême</b>         | <b>66</b> |
| 2.3.1. Abstract                                                                                                                                              | 66        |
| 2.3. 2. Résumé                                                                                                                                               | 67        |
| 2.3.3. Introduction                                                                                                                                          | 67        |
| 2.3.4. Materials and methods                                                                                                                                 | 69        |
| 2.3.4.1. Environmental characteristics                                                                                                                       | 69        |
| 2.3.4.2. Feral oyster sampling and maintenance                                                                                                               | 70        |
| 2.3.4.3. Biometric measurements                                                                                                                              | 72        |
| 2.3.4.4. Statistical analysis                                                                                                                                | 72        |
| 2.3.5. Results                                                                                                                                               | 73        |
| 2.3.6. Discussion                                                                                                                                            | 78        |
| 2.3.6.1. Relationship between SPM concentration and pallial organ areas                                                                                      | 78        |
| 2.3.6.2. Pallial organ index and feeding functional thresholds                                                                                               | 80        |
| 2.3.7. Acknowledgements                                                                                                                                      | 82        |
| <b>2.4. Plasticité phénotypique des organes palléaux chez l’huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> en réponse aux variations temporelles de la turbidité</b> | <b>83</b> |
| 2.4.1. Introduction                                                                                                                                          | 83        |
| 2.4.2. Matériels et méthodes                                                                                                                                 | 84        |
| 2.4.2.1. Transplantations réciproques et échantillonnage des huîtres férales                                                                                 | 84        |
| 2.4.2.2. Surfaces des organes palléaux et masse de tissus secs                                                                                               | 85        |
| 2.4.2.3. Enregistrement des paramètres environnementaux                                                                                                      | 85        |
| 2.4.3. Résultats                                                                                                                                             | 86        |
| 2.4.3.1. Variations saisonnières des conditions environnementales                                                                                            | 86        |
| 2.4.3.2. Variations saisonnières des surfaces des organes palléaux chez les huîtres non-transplantées (huîtres TI et FT)                                     | 88        |
| 2.4.3.3. Variations saisonnières des surfaces des organes palléaux chez les huîtres transplantées                                                            | 90        |

|                                                                                                                                                        |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.4.3.2.1. Huîtres transplantées sur le site de turbidité intermédiaire (huîtres TTI)                                                                  | 90         |
| 2.4.3.2.2. Huîtres transplantées sur le site de forte turbidité (huîtres TFT)                                                                          | 90         |
| 2.4.4. Discussion                                                                                                                                      | 94         |
| 2.4.4.1. Variations temporelles des tailles des organes palléaux en fonction des concentrations en MES chez les huîtres non-transplantées              | 94         |
| 2.4.4.2. Plasticité phénotypique des branchies et des palpes labiaux                                                                                   | 95         |
| 2.4.5. Conclusion                                                                                                                                      | 96         |
| <b>CHAPITRE 3 : REPRODUCTION ET RECRUTEMENT NATUREL DE CRASSOSTREA GIGAS EN BAIE DE BOURGNEUF</b>                                                      | <b>97</b>  |
| <b>3.1. Contexte des travaux</b>                                                                                                                       | <b>99</b>  |
| <b>3.2. Influence de la température, de la quantité et de la qualité du seston sur la reproduction des huîtres cultivées dans la baie de Bourgneuf</b> | <b>101</b> |
| 3.2.1. Abstract                                                                                                                                        | 101        |
| 3.2.2. Résumé                                                                                                                                          | 102        |
| 3.2.3. Introduction                                                                                                                                    | 103        |
| 3.2.4. Materials and methods                                                                                                                           | 105        |
| 3.2.4.1. Field sites and determination of environmental characteristics                                                                                | 105        |
| 3.2.4.2. Oyster sampling, biometric measurements and tissue fixation                                                                                   | 106        |
| 3.2.4.3. Histological preparation                                                                                                                      | 106        |
| 3.2.4.4. Gametosomatic index (GSI)                                                                                                                     | 107        |
| 3.2.4.5. Gonadal tissue variations during the reproductive cycles                                                                                      | 107        |
| 3.2.4.6. Statistical analysis                                                                                                                          | 109        |
| 3.2.5. Results                                                                                                                                         | 109        |
| 3.2.5.1. Environmental characteristics                                                                                                                 | 109        |
| 3.2.5.1.1. Water temperature and salinity                                                                                                              | 109        |
| 3.2.5.1.2. Seston quantity and quality                                                                                                                 | 111        |
| 3.2.5.1.3. Dry tissue mass (DTM) and gametosomatic index (GSI)                                                                                         | 113        |
| 3.2.5.1.4. Reproductive cycle and gamete fates                                                                                                         | 117        |

|                                                                                                                                              |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.2.6. Discussion                                                                                                                            | 121        |
| 3.2.6.1. Gametogenesis and SPM quality                                                                                                       | 121        |
| 3.2.6.2. Reproductive cycle                                                                                                                  | 121        |
| 3.2.6.3. Atresia                                                                                                                             | 122        |
| 3.2.7. Conclusion                                                                                                                            | 123        |
| 3.2.8. Acknowledgements                                                                                                                      | 124        |
| <b>3.3. Caractéristiques de la reproduction des huîtres férales en baie de Bourgneuf et comparaison avec les huîtres cultivées</b>           | <b>125</b> |
| 3.3.1. Introduction                                                                                                                          | 125        |
| 3.3.2. Matériels et méthodes                                                                                                                 | 126        |
| 3.3.3. Résultats                                                                                                                             | 126        |
| 3.3.3.1. Indice gaméto-somatique (IGaS)                                                                                                      | 126        |
| 3.3.3.2. Stéréologie                                                                                                                         | 127        |
| 3.3.4. Discussion                                                                                                                            | 130        |
| 3.3.4.1. Cycle de reproduction des huîtres férales                                                                                           | 130        |
| 3.3.4.2. Effort de reproduction des huîtres férales                                                                                          | 131        |
| 3.3.5. Conclusion                                                                                                                            | 131        |
| <b>3.4. Évaluation de l'effort de reproduction de <i>Crassostrea gigas</i>: comparaison des indices gonado-somatique et gaméto-somatique</b> | <b>133</b> |
| 3.4.1. Introduction                                                                                                                          | 133        |
| 3.4.2. Matériels et méthodes                                                                                                                 | 134        |
| 3.4.2.1. Déterminations des indices gonado-somatique (IGoS) et gaméto-somatique (IGaS)                                                       | 134        |
| 3.4.2.3. Analyse statistique                                                                                                                 | 136        |
| 3.4.3. Résultats                                                                                                                             | 136        |
| 3.4.4. Discussion                                                                                                                            | 139        |

|                                                                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>3.5. Réchauffement de l'eau, reproduction et recrutement de l'huître invasive, <i>Crassostrea gigas</i>, sur la côte atlantique française</b> | <b>141</b> |
| 3.5.1. Abstract                                                                                                                                  | 141        |
| 3.5.2. Résumé                                                                                                                                    | 142        |
| 3.5.3. Introduction                                                                                                                              | 142        |
| 3.5.4. Materials and methods                                                                                                                     | 144        |
| 3.5.4.1. Adult oyster sampling and tissue fixation                                                                                               | 144        |
| 3.5.4.2. Histological preparation                                                                                                                | 144        |
| 3.5.4.3. Microscopic determinations and oocyte size measurements                                                                                 | 145        |
| 3.5.4.4. Determinations of D-larva and post-larval densities                                                                                     | 145        |
| 3.5.4.5. Environmental monitoring                                                                                                                | 146        |
| 3.5.4.6. Historical data of water temperature                                                                                                    | 147        |
| 3.5.4.7. Statistical analysis                                                                                                                    | 147        |
| 3.5.5. Results                                                                                                                                   | 148        |
| 3.5.5.1. Environmental variations                                                                                                                | 148        |
| 3.5.5.1.1. <i>Seston quantity and quality</i>                                                                                                    | 148        |
| 3.5.5.1.2. <i>Fine-scale variations of water temperature and salinity: 2005 - 2006</i>                                                           | 148        |
| 3.5.5.1.3. <i>Historical variations in water temperature</i>                                                                                     | 149        |
| 3.5.5.2. Microscopic determinations and oocyte size                                                                                              | 151        |
| 3.5.5.3. D-larva and post-larval densities                                                                                                       | 153        |
| 3.5.6. Discussion                                                                                                                                | 155        |
| 3.5.6.1. Water temperature and recent oyster invasion                                                                                            | 155        |
| 3.5.6.2. Oocyte fate timed by water temperature thresholds                                                                                       | 156        |
| 3.5.6.3. Planktonic larval life                                                                                                                  | 157        |
| 3.5.6.4. Feral oyster recruitment                                                                                                                | 157        |
| 3.5.7. Conclusion                                                                                                                                | 158        |
| 3.5.8. Acknowledgements                                                                                                                          | 158        |

|                                    |            |
|------------------------------------|------------|
| <b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</b> | <b>159</b> |
| <b>BIBLIOGRAPHIE</b>               | <b>167</b> |
| <b>ANNEXES</b>                     | <b>205</b> |



# Table des illustrations

## Figures

- Figure 1.** Anatomie générale de *Crassostrea gigas*, après avoir enlevé la valve droite et le lobe droit du manteau. .... 12
- Figure 2.** Coupe transversale au niveau de la jonction palpes-branchies de *Crassostrea gigas* (gonades peu développées). .... 13
- Figure 3.** Diatomées observées dans la lumière de l'intestin ascendant d'une huître. di: diatomée, li: lumière intestinale, pic: paroi intestinale ciliée. .... 14
- Figure 4.** Structure des branchies de *Crassostrea gigas*. A: Section transversale d'une huître montrant la disposition des branchies dans la cavité palléale; B: Détail de la coupe transversale d'un pli branchial observé en microscopie optique. br: branchie, cel, cirres eulatéro-frontaux, cf: cils frontaux, cl: cils latéraux, fo: filament ordinaire, fp: filament principal, gv: gouttière ventrale, hb: hémibranchie, ji: jonction interfilaire, lp: lobe palléal, os: ostium, sa: surface abfrontale des filaments branchiaux, sd: sillon dorsal, sf: surface frontale des filaments branchiaux, si: sillon. Les flèches blanches indiquent le trajet de l'eau filtrée par les branchies... 15
- Figure 5.** Disposition et structure des palpes labiaux de *Crassostrea gigas*. A: Région antérieure montrant la jonction palpes-branchies (d'après Galtsoff, 1964); B: Photographie en microscopie optique de la coupe longitudinale d'une paire de palpes labiaux. bo: bouche; cr: crête; cv: cellules vésiculaires; fl: face lisse; fp: face plissée; lb: lamelle branchiale; lp: lobe palléal; si: sillon; vc: voies ciliaires. .... 16
- Figure 6.** Schéma conceptuel détaillant les processus physiologiques intégrés dans les modèles écophysiologiques de croissance de *Crassostrea gigas* (modifié d'après Barillé *et al.*, 1997; Haure *et al.*, 2008). .... 18
- Figure 7.** Développement des gonades au cours d'un cycle de reproduction chez *Crassostrea gigas*. A: début de la maturation des gonades; B: maturation avancée des gonades; C: gonades matures; D: Émission/résorption des gamètes. ac: acinus; gd: gonade droite; gg: gonade gauche. .... 22
- Figure 8.** Spermatogenèse chez *Crassostrea gigas*. A: Canal évacuateur et acini vides en période de repos sexuel; B: Différenciation centripète des cellules germinales mâles; C: Spermatides et spermatozoïdes matures; D: Canaux évacuateurs remplis de spermatozoïdes. ac: acinus; la: lumière acinale, lce: lumière du canal évacuateur, ma: manteau, pce: paroi ciliée du canal évacuateur, spc: spermatocyte, spg: spermatogonie, spt: spermatide, spz: spermatozoïde, ti: tissu interacinal. .... 24
- Figure 9.** Ovogenèse chez *Crassostrea gigas*. A: Ovocytes pré-vitellogéniques; B: Ovocytes vitellogéniques; C: Ovocytes pédonculés; D: Ovocytes matures; E: Émission d'ovocytes matures; F: Ovocytes dégénérés dans un canal évacuateur. cy: cytoplasme, la: lumière acinale, lce: lumière du canal évacuateur, ma: manteau, no: noyau, nu: nucléus, od: ovocyte dégénéré, opv: ovocyte pré-vitellogénique, or: ovocyte résiduel; ov: ovocyte vitellogénique, pce: paroi ciliée du canal évacuateur, ti: tissu interacinal. .... 25
- Figure 10.** Hermaphrodisme simultané chez *Crassostrea gigas* (individus ayant une longueur de coquille d'environ 100 mm). A: Ovocytes vitellogéniques et spermatides; B: Ovocytes matures et spermatides. om: ovocyte mature, ov: ovocyte vitellogénique, spt: spermatide, ti: tissu interacinal. .... 26
- Figure 11.** Larves pélagiques et naissains de *Crassostrea gigas* en baie de Bourgneuf. A: Larve-D dans un échantillon de plancton; B: Larve umbonée dans un échantillon de plancton; C: Naissains fixés sur un collecteur artificiel; D: Collecteurs artificiels de naissains installés, en baie de Bourgneuf, sur des tables ostréicoles à 60 cm au-dessus du sédiment. .... 30
- Figure 12.** Parcs ostréicoles sur le site de La Coupelasse, en baie de Bourgneuf. Émersion des huîtres (*Crassostrea gigas*) cultivées dans des poches ostréicoles en période de marée basse. .... 34
- Figure 13.** Répartition de la production ostréicole de *Crassostrea gigas* sur le littoral français (IFREMER, 2009). .... 36

**Figure 14.** Invasion de *Crassostrea gigas* en baie de Bourgneuf (site de la Coupelasse). A : Récif d'huîtres férales au milieu de parcs ostréicoles. B : Installation d'huîtres férales au milieu de tables ostréicoles abandonnées. .... 37

**Figure 15.** Sites de prélèvements des huîtres dans la baie de Bourgneuf. .... 48

**Figure 16.** Microalgues utilisées dans les régimes expérimentaux pour *Crassostrea gigas*. (A) *Tetraselmis suecica*; (B) *T. suecica* thermo-dégradée (perte des flagelles et aspect granuleux du cytoplasme); (C) Chaîne de *Skeletonema costatum*. .... 50

**Figure 17.** Réponses fonctionnelles des huîtres, *Crassostrea gigas*, possédant des organes palléaux de tailles différentes pour des conditions de turbidités faible (C1, matière en suspension (MES) = 8,5 mg.l<sup>-1</sup>, barres blanches) et forte (C2, MES = 48,3 mg.l<sup>-1</sup>, barres grises). (A) Taux de filtration (CR); (B) Indice d'électivité (EI) pour les pseudofèces collectés lors des expériences d'alimentation. Les tailles relatives des branchies et des palpes labiaux des huîtres provenant des trois sites de turbidités différentes (LT : faible turbidité; IT : turbidité intermédiaire; HT : forte turbidité) sont représentées en haut. Pour chaque graphique, les barres partageant la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes (tests SNK,  $p > 0,05$ ). Les valeurs moyennes sont données avec leur intervalle de confiance à 95%,  $n = 16$ . .... 56

**Figure 18.** Images instantanées des branchies d'huîtres, *Crassostrea gigas*, en vues ventrales, obtenues par vidéo-endoscopie. (A) Dans des conditions de faible turbidité (C3, matière en suspension (MES) = 11,6 mg.l<sup>-1</sup>), pas d'accumulation visible de particules dans la gouttière ventrale (VG); (B) Dans des conditions de forte turbidité (C4, MES = 45,1 mg.l<sup>-1</sup>), les gouttières ventrales transportent des masses muqueuses de particules (MP). Les mouvements de particules dans les voies branchiales sont indiquées par des flèches blanches. DT : sillon dorsal; GP : plis branchiaux; M : manteau. .... 58

**Figure 19.** Indice d'électivité (EI) chez des huîtres, *Crassostrea gigas*, possédant des organes palléaux de tailles différentes pour des conditions de turbidités faible (C3, matière en suspension (MES) = 11,6 mg.l<sup>-1</sup>, barres blanches) et forte (C4, MES = 45,1 mg.l<sup>-1</sup>, barres grises). (A) Huîtres provenant d'un site de faible turbidité (LT); (B) huîtres provenant d'un site de turbidité intermédiaire (IT); (C) huîtres provenant d'un site de forte turbidité (HT). DT : sillon dorsal; PF : pseudofèces; VG : gouttière ventrale. Pour chaque graphique, les tailles relatives des branchies et des palpes sont représentées sur la droite. Les huîtres ( $n = 10$ ) provenant d'un même site ont été réutilisées pour chaque condition expérimentale. Les barres avec la même lettre minuscule et le même indice numérique ne sont pas significativement différentes (tests  $t$  pairés,  $p > 0,05$ ). Les valeurs moyennes sont données avec leur intervalle de confiance à 95%. .... 59

**Figure 20.** Représentation conceptuelle, dans un environnement turbide, des réponses fonctionnelles associées aux variations des organes palléaux chez des huîtres, *Crassostrea gigas*, possédant de larges branchies et de petits palpes (à gauche) et pour des huîtres possédant de petites branchies et de larges palpes (à droite). CR : taux de filtration; PF : pseudofèces; SPM : matière en suspension. .... 65

**Figure 21.** Carte montrant la zone d'étude et les sites d'échantillonnages ( $\Delta$ ) des huîtres férales, *Crassostrea gigas*, dans la baie de Bourgneuf et dans l'estuaire de la Loire (Image satellite SPOT). .... 71

**Figure 22.** Surfaces, standardisées pour 1 individu équivalent à 1 g de masse de tissus secs, des branchies (A) et des palpes (B), et rapports branche/palpe (C) d'huîtres férales, *Crassostrea gigas*, provenant de différents sites turbides de la baie de Bourgneuf et de l'estuaire de la Loire. Cb : Rocher du Cobe; Cp : la Coupelasse; Gd : Pointe Saint-Gildas; Gl : Gresseloup; Hb : Pointe de l'Herbaudière; HT : site de forte turbidité; IT : site de turbidité intermédiaire; LT : site de faible turbidité; Md : Mindin; Pb : Paimboeuf; Tr : Tharon-Plage; VHT : site de très forte turbidité. Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%. .... 77

**Figure 23.** Relation entre les rapports branche/palpe (G:P ratio) et les concentrations en matière en suspension (SPM) pour des huîtres férales, *Crassostrea gigas*, vivant dans des conditions de turbidités différentes dans la baie de Bourgneuf et dans l'estuaire de la Loire, sur la côte atlantique française. .... 77

**Figure 24.** Surface, standardisée pour 1 individu équivalent à 1 g de masse de tissus secs, du muscle adducteur d'huîtres férales, *Crassostrea gigas*, provenant de différents sites turbides de la baie de Bourgneuf et de l'estuaire de la Loire. Cb : Rocher du Cobe; Cp : la Coupelasse; Gd : Pointe Saint-Gildas; Gl : Gresseloup; Hb : Pointe de l'Herbaudière; HT : site de forte turbidité; IT : site de turbidité intermédiaire; LT : site de faible turbidité; Md : Mindin; Pb : Paimboeuf; Tr : Tharon-Plage; VHT : site de très forte turbidité. Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%. .... 78

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figure 25.</b> Prédation, en laboratoire, de l'huître <i>Crassostrea gigas</i> par l'étoile de mer <i>Asterias rubens</i> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>80</b>  |
| <b>Figure 26.</b> Variations (moyennes mensuelles $\pm$ intervalles de confiance à 95%) des concentrations en matière en suspension (MES, A), de la dilution des particules organiques (MOP/MES, B) et de la qualité des particules organiques (Chl- <i>a</i> /MOP, C) dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, entre mars 2005 et février 2006. ....                                                                                                                                  | <b>87</b>  |
| <b>Figure 27.</b> Variations temporelles des surfaces des branchies (A) et des palpes (B), ainsi que du rapport branchie/palpe (B/P, C), chez des huîtres férales restées en place dans un site de turbidité intermédiaire (TI) et dans un site de forte turbidité (FT). Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%. ....                                                                                                                                                                                                           | <b>89</b>  |
| <b>Figure 28.</b> Variations temporelles des surfaces des branchies (A) et des palpes (B), ainsi que du rapport branchie/palpe chez des huîtres férales originaires d'un site de forte turbidité, et ayant été laissées en place (FT) ou transplantées dans un site de turbidité plus faible (TTI). Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%. ....                                                                                                                                                                                | <b>91</b>  |
| <b>Figure 29.</b> Régressions linéaires entre les rapports branchie/palpe (B/P) des huîtres férales transplantées ou non dans de nouvelles conditions de turbidité. FT : restées dans un site de forte turbidité; TFT; transplantées dans un site de forte turbidité; TI : restées dans un site de turbidité intermédiaire; TTI : transplantées dans un site de turbidité intermédiaire. ....                                                                                                                                                                        | <b>92</b>  |
| <b>Figure 30.</b> Variations temporelles des surfaces des branchies (A) et des palpes (B), et du rapport branchie/palpe chez des huîtres férales originaires d'un site de turbidité intermédiaire, et ayant été laissées en place (TI) ou transplantées dans un site de turbidité plus forte (TFT). Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%. ....                                                                                                                                                                                | <b>93</b>  |
| <b>Figure 31.</b> Photographies au microscope d'ovocytes dans les gonades de <i>Crassostrea gigas</i> . A : Ovocytes prévitellogéniques; B : Ovocytes matures; C : Ovocytes atrésiques dans la lumière acinale; D : Ovocytes atrésiques dans les canaux évacuateurs. al: lumière acinale, ao: ovocyte atrésique, ct: tissu conjonctif, cw: paroi ciliée d'un canal évacuateur, do: ovocytes dégénérés, mo: ovocyte mature, po: ovocyte pédonculé; pvo, ovocyte prévitellogénique.....                                                                                | <b>108</b> |
| <b>Figure 32.</b> Variations (moyennes mensuelles $\pm$ intervalles de confiance à 95%) des concentrations en matière en suspension (SPM, A), en matière inorganique particulaire (PIM, B), en matière organique particulaire (POM, C) et en chlorophylle- <i>a</i> (chl- <i>a</i> , D) dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Les données pour septembre 2006 n'ont pas été enregistrées dans le site IT à cause d'un problème technique au niveau des sondes..... | <b>113</b> |
| <b>Figure 33.</b> Disponibilité (POM:SPM; moyennes mensuelles $\pm$ intervalles de confiance à 95%; A) et qualité des particules organiques (chl- <i>a</i> :POM; moyennes mensuelles $\pm$ intervalles de confiance à 95%; B) dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Les données pour septembre 2006 n'ont pas été enregistrées dans le site IT à cause d'un problème technique au niveau des sondes.....                                                           | <b>114</b> |
| <b>Figure 34.</b> Croissance et reproduction de <i>Crassostrea gigas</i> cultivée dans un site de forte turbidité (HT) et dans un site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. (A) Masse de tissus secs (DTM, moyennes mensuelles $\pm$ intervalles de confiance à 95%), et (B) indice gaméto-somatique (GSI, moyennes mensuelles $\pm$ intervalles de confiance à 95%).....                                                                                                                                                          | <b>115</b> |
| <b>Figure 35.</b> Reproduction de <i>Crassostrea gigas</i> cultivée dans un site de forte turbidité (HT) et dans un site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Proportions (moyennes mensuelles $\pm$ intervalles de confiance à 95%) de tissu interacinal (A), de gamètes en développement (B) et de gamètes matures (C) comparées à la proportion totale des gonades.....                                                                                                                                                         | <b>118</b> |
| <b>Figure 36.</b> Reproduction de <i>Crassostrea gigas</i> cultivée dans un site de forte turbidité (HT) et dans un site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Proportions (moyennes mensuelles $\pm$ intervalles de confiance à 95%) de lumière acinale (A) et de gamètes en dégénérescence (B) comparées à la proportion totale des gonades.....                                                                                                                                                                                  | <b>119</b> |
| <b>Figure 37.</b> Variations horaires de la température de l'eau dans le site de forte turbidité (HT - A) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT - B) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Les flèches indiquent les phases du cycle                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |            |

de reproduction; les lignes pointillées représentent les principaux seuils physiologiques de température de l'eau associés aux phases du cycle de reproduction. A : atrésie; GM : maturation des gonades; OG : initiation de la gamétogenèse; S : émission de gamètes..... 120

**Figure 38.** Variations de l'indice gaméto-somatique chez les huîtres férales de la Baie de Bourgneuf, prélevées à Gresseloup (turbidité intermédiaire, TI) et à la Coupelasse (forte turbidité, FT). ..... 127

**Figure 39.** Variations des proportions du tissu interacinal (A), des gamètes en développement (B) et des gamètes matures (C) dans les gonades chez les individus féraux de *Crassostrea gigas*. ..... 128

**Figure 40.** Variations des proportions de la lumière acinale (A) et des gamètes en dégénérescence (B) dans les gonades chez les individus féraux de *Crassostrea gigas*. EGA : émissions de gamètes atrésiques; EGN : émissions de gamètes normaux. .... 129

**Figure 41.** Déterminations, à l'aide du logiciel Lucia 4.80, de surfaces tissulaires à partir de coupes histologiques réalisées chez l'huître *Crassostrea gigas*. A : Détourage de la surface occupée par la masse viscérale; B : Détourage de la surface occupée par les gonades; C : Sélection de la surface gonadique avec un masque et passage en niveaux de gris; D : Seuillage de la surface gamétique. .... 135

**Figure 42.** Variations des indices gaméto-somatique et gonado-somatique (A), ainsi que de l'écart entre ces deux indices (B) chez des huîtres cultivées de Gresseloup. .... 137

**Figure 43.** Variations des indices gaméto-somatique et gonado-somatique (A), ainsi que de l'écart entre ces deux indices (B) chez des huîtres cultivées de la Coupelasse. .... 138

**Figure 44.** Régression linéaire décrivant la relation entre les indices gaméto-somatique (IGaS) et gonado-somatique (IGoS) des huîtres, *Crassostrea gigas*, cultivées en baie de Bourgneuf, à Gresseloup (○) et à la Coupelasse (□). .... 139

**Figure 45.** Variations de la température de l'eau dans le site de forte turbidité (HT) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Valeurs moyennes  $\pm$  intervalles de confiance à 95%. .... 149

**Figure 46.** Moyennes annuelles et moyennes des mois les plus chauds de la température de l'eau depuis l'introduction de *Crassostrea gigas* dans les années 1970 (Météo-France, Climathèque database, Noirmoutier, 2007), et relation avec le recrutement naturel des huîtres férales dans la baie de Bourgneuf (Goulletquer, 1995; Cognie *et al.*, 2004; 2006; Martin *et al.*, 2004; 2005). La ligne pointillée indique la médiane (13,4°C) des moyennes annuelles de la température de l'eau, et la ligne tiretée correspond au seuil minimal de température de l'eau (20°C) permettant un développement larvaire optimal de *C. gigas*. .... 150

**Figure 47.** Diamètres moyens ( $\pm$  intervalle de confiance à 95%) des ovocytes des huîtres férales et des huîtres cultivées (*Crassostrea gigas*), dans le site de forte turbidité (HT – A) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT – B) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. .... 152

**Figure 48.** Densités de larves-D (A, C) et de post-larves fixées (B, D) dans le site de forte turbidité (HT) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf pour l'année 2005. .... 154

**Figure 49.** Densités de larves-D (A, C) et de post-larves fixées (B, D) dans le site de forte turbidité (HT) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf pour l'année 2006. .... 155

# Tableaux

**Tableau 1.** Conditions expérimentales pour les mesures des réponses fonctionnelles (C1 et C2) et la localisation des sites de sélection des particules (C3 et C4) chez des huîtres, *Crassostrea gigas*, possédant des organes palléaux de tailles différentes. POM : matière organique particulaire; PIM : matière inorganique particulaire; SPM : matière en suspension. Les concentrations en microalgues ont été estimées à partir de comptages sur des cellules hématimétriques (n = 10). Les concentrations en MES ont été estimées à partir d'échantillons séchés à 60°C pendant 48h, avant de déterminer les concentrations en PIM et POM par la méthode de la perte-au-feu (n = 4). Les valeurs moyennes sont données avec leurs écarts-types. .... 51

**Tableau 2.** Mesures biométriques des huîtres, *Crassostrea gigas*, provenant de trois sites de turbidités différentes et utilisées pour les expériences écophysiologiques (conditions C1 et C2, n = 32) et pour la localisation des sites de sélection des particules (conditions C3 et C4, n = 10). La taille de la branchie est estimée à partir de la surface de la lamelle externe droite, et celle du palpe est estimée à partir de la surface d'un palpe externe droit. DTM : masse de tissus secs; HT : site de forte turbidité; IT : site de turbidité intermédiaire; LT : site de faible turbidité. Les valeurs moyennes sont données avec leurs écarts-types. .... 54

**Tableau 3.** Caractéristiques des sites d'échantillonnages d'huîtres férales, *Crassostrea gigas*, dans la baie de Bourgneuf (les quatre premiers sites) et dans l'estuaire de la Loire (les quatre derniers sites). HT: forte turbidité; IT: turbidité intermédiaire; LT: faible turbidité; SPM: matière en suspension; VHT: très forte turbidité. <sup>1</sup>Decottignies P., Université de Nantes, données non publiées; <sup>2</sup>IFREMER, Quadriga Database 2004; <sup>3</sup>Haure and Baud, 1995; <sup>4</sup>Froidefond *et al.*, 2003 (données partiellement disponibles); <sup>5</sup>GIP Loire Estuaire, MECCEL Database 2007. .... 73

**Tableau 4.** Mesures de la coquille (longueur, largeur, rapport longueur/largeur et hauteur) et proportion de la surface striée du muscle adducteur chez des huîtres férales, *Crassostrea gigas*, collectées dans des sites de turbidités différentes de la baie de Bourgneuf (les quatre premiers sites) et de l'estuaire de la Loire (les quatre derniers sites). .... 74

**Tableau 5.** Moyennes annuelles ( $\pm$  écarts-types) des facteurs environnementaux dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Chl-*a*: chlorophylle-*a*, PIM: matière inorganique particulaire, POM: matière organique particulaire, WT: température de l'eau. Des tests-t ont été réalisés pour comparer les valeurs annuelles moyennes des facteurs environnementaux entre les sites. .... 110

**Tableau 6.** Moyennes annuelles ( $\pm$  écarts-types) de l'amplitude journalière de la température de l'eau dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. .... 110

**Tableau 7.** Analyses de variance à 2 facteurs pour la reproduction de *Crassostrea gigas*. .... 116



# **INTRODUCTION GÉNÉRALE**



La plupart des invasions biologiques sont la conséquence de l'arrivée d'une nouvelle espèce dans un écosystème (Carlton, 1996; Williamson, 1996; Ruiz *et al.*, 1997; Occhipinti-Ambrogi et Savini, 2003; Valéry *et al.*, 2008). La capacité de **dispersion** d'une espèce est un mécanisme écologique fondamental lui permettant d'échapper à des modifications environnementales délétères et de coloniser de nouveaux milieux (Hamilton et May, 1977; Holt, 1990; Palmer *et al.*, 1996). Cette dispersion peut se faire soit par *diffusion* dans un environnement adjacent soit par *saltation* dans une région géographiquement éloignée (Davis et Thompson, 2000). L'installation, ou naturalisation, d'une espèce dans un nouvel environnement dépend ensuite de sa capacité à tolérer les facteurs écologiques et à se reproduire sans l'intervention de l'Homme (Mollison, 1986; Williamson, 1996; Eno *et al.*, 1997; Boudouresque, 2005). Lorsque la colonisation du milieu entraîne des **perturbations du fonctionnement de l'écosystème** hôte, l'espèce peut être considérée comme « **invasive** » (Williamson, 1996; Ruiz *et al.*, 1997; Davis et Thompson, 2000; Barbier, 2001; Boudouresque, 2005; Valéry *et al.*, 2008; Bioiret *et al.*, 2009). De par leurs interactions avec certaines espèces exploitées par l'Homme et/ou les dommages matériels qu'elles occasionnent, les espèces invasives peuvent également avoir des **conséquences économiques** importantes aux niveaux local et régional (Williamson, 1996; Barbier, 2001; Pimentel *et al.*, 2001; Occhipinti-Ambrogi et Savini, 2003; Boudouresque, 2005).

Le développement des **activités anthropiques** a entraîné une augmentation des transferts, intentionnels ou non, d'espèces vivantes dans de nouvelles aires géographiques, parfois très éloignées de leurs aires de répartition naturelles. Une part importante de ces transferts se situe au niveau des zones côtières, au sein desquelles le nombre **d'espèces introduites** par l'Homme n'a cessé de croître depuis les 15<sup>ème</sup> et 16<sup>ème</sup> siècles (Carlton, 1985; 1989; Vermeij, 1991; Carlton et Geller, 1993; Carlton, 1996; Cohen et Carlton, 1996; Ruiz *et al.*, 1997). Dans ces régions, caractérisées par une forte productivité biologique et par une biodiversité élevée (Mann, 1982; Levinton, 1995; Valiela, 1995), les introductions volontaires d'espèces marines sont principalement liées aux activités aquacoles (Li et Moyle, 1981; Grizel et Héral, 1991; Carlton, 1992; Grizel, 1996). Les introductions accidentelles résultent de l'arrivée de propagules ou d'individus piégés à l'intérieur des ballasts, fixés sur la coque des navires, voire associés à d'autres organismes introduits, dans le cas d'épibiontes ou de parasites (Carlton, 1985; 1992; Williams *et al.*, 1988; Carlton et Geller, 1993; Ruiz *et al.*, 2000). En règle générale, 0,1% des espèces introduites deviennent des espèces invasives (Lodge, 1993; Williamson, 1996). Cependant, contrairement aux milieux terrestres et dulçaquicoles, l'intérêt porté aux **invasions biologiques en milieux marin et estuarien** est

relativement récent, notamment à cause de l'augmentation du transport maritime et de l'importation d'espèces pour l'aquaculture au cours du 20<sup>ème</sup> siècle (Carlton, 1989; Ruiz *et al.*, 1997; Naylor *et al.*, 2001; Grosholz, 2002). Parmi les espèces marines introduites, les **Bivalves suspensivores** deviennent fréquemment les espèces dominantes de l'épifaune ou de l'endofaune, et leur influence sur le fonctionnement des écosystèmes littoraux en fait des organismes susceptibles de devenir invasifs (Carlton, 1999).

Par le biais de leurs mécanismes d'alimentation et de leur capacité à construire des biohermes, certaines espèces de Bivalves, qualifiées d' « **ingénieurs des écosystèmes** » et incluant notamment les huîtres, peuvent modifier les caractéristiques physiques et biologiques de leur environnement (Hughes, 1991; Dame, 1996; Crooks, 2002; Cranford *et al.*, 2003; Dame et Olenin, 2005). Les Bivalves suspensivores sont les principaux consommateurs primaires des écosystèmes côtiers et participent ainsi aux flux de matières et d'énergie entre la colonne d'eau (pelagos) et le système benthique (benthos) (Dame *et al.*, 1980; Asmus, 1987; Jørgensen, 1990; Prins *et al.*, 1995; 1998; Dame, 1996; Dame et Olenin, 2005). Les particules en suspension sont capturées, puis subissent une sélection au niveau des branchies et/ou des palpes labiaux avant d'être ingérées (Newell et Jordan, 1983; Shumway *et al.*, 1985; Prins *et al.*, 1991; Beninger *et al.*, 1992; 2008a; 2008b; Ward, 1996; Beninger et St-Jean, 1997; Cognie *et al.*, 2001; Ward et Shumway, 2004; Dutertre *et al.*, 2007). Le traitement des particules fait que certaines d'entre elles sont transférées, sous forme de biodépôts (pseudofèces et fèces) vers le système benthique (Dame *et al.*, 1984; Kautsky et Evans, 1987; Deslous-Paoli *et al.*, 1992), tandis que l'excrétion dissoute enrichit la colonne d'eau en sels nutritifs (Dame *et al.*, 1989; Prins et Smaal, 1994; Asmus *et al.*, 1995). Ces phénomènes sont amplifiés lorsque les individus sont présents en fortes densités, comme dans les parcs conchylicoles ou dans les récifs biogéniques d'huîtres. Les biohermes peuvent également affecter l'hydrodynamisme et la biodiversité des zones côtières. Ces barrières naturelles dressées en travers du courant entraînent, en effet, l'apparition de zones abritées dans lesquelles les phénomènes de sédimentation et d'envasement vont être accentués (Dame et Patten, 1981; Lenihan, 1999). De plus, la tridimensionnalité des biohermes et des amoncellements de coquilles environnants favorisent la concentration de la biodiversité en procurant des substrats aux organismes sessiles (macroalgues, balanes, huîtres, moules, polychètes sédentaires, éponges, ascidies, ...), ainsi que des habitats refuges pour les organismes vagiles (crabes, poissons, ...) (Hily, 1989; Gouilletquer et Héral, 1991; Breitburg *et al.*, 1995; Everett *et al.*, 1995; Lenihan, 1999; Ruesink *et al.*, 2006).

Une des espèces marines les plus transplantées est **l'huître creuse du Pacifique, *Crassostrea gigas***, originaire de l'ouest de l'Océan Pacifique et élevée au Japon depuis plusieurs siècles (Korringa, 1976; Ruesink *et al.*, 2005). Au cours du 20<sup>ème</sup> siècle, ce Mollusque Bivalve a, en effet, été importé dans de nombreuses régions côtières du monde afin d'y être cultivé et représente actuellement 97,4% de la production ostréicole mondiale (FAO, 2007). Certaines introductions ont échoué, notamment dans des régions trop froides comme l'Alaska ou dans les eaux trop pauvres en nourriture de l'Océan Pacifique sud (Glude, 1984; Eldredge, 1994; Ruesink *et al.*, 2005). Cependant, *C. gigas* est actuellement cultivée aussi bien dans les eaux chaudes du Mexique et de l'Australie, que dans les eaux tempérées de l'Europe de l'Ouest et de la côte ouest des États-Unis, ainsi que dans les eaux plus froides du Canada (Ruesink *et al.*, 2005). Dans la plupart de ces régions, le succès de l'introduction de *C. gigas* a permis de développer ou de relancer une ostréiculture mise à mal par la surexploitation des espèces locales ou par des épizooties (Andrews, 1980; Newell, 1988; Quayle, 1988; Grizel et Héral, 1991; Mann *et al.*, 1991; Ruesink *et al.*, 2005). Cependant, jusqu'au début des années 1990, les recrutements naturels de *C. gigas*, étaient très irréguliers, voire absents dans les écosystèmes tempérés froids de l'hémisphère nord (latitude supérieure à environ 40°N) où l'ostréiculture était alors dépendante des apports exogènes d'individus (Le Borgne *et al.*, 1973; Goulletquer et Héral, 1991; Goulletquer, 1995; Robert et Gérard, 1999). En revanche, depuis environ deux décennies, ces régions ont vu le développement de récifs naturels de *C. gigas* consécutifs à des recrutements massifs et réguliers (Reise *et al.*, 1999; Wehrmann *et al.*, 2000; Diederich *et al.*, 2005; Cognie *et al.*, 2006; Dankers *et al.*, 2006). Bien que ces proliférations soient encore trop récentes pour que leurs conséquences sur les écosystèmes puissent être mesurées avec précision, les premières observations réalisées sur le terrain et les connaissances acquises sur l'influence prépondérante des Bivalves au sein des zones côtières font que ***C. gigas* est actuellement considérée comme une espèce invasive dans les écosystèmes tempérés** (Reise *et al.*, 1999; Wehrmann *et al.*, 2000; Diederich, 2005; 2006; Cognie *et al.*, 2006; Brandt *et al.*, 2008).

En l'absence de données sur de nouvelles introductions, la prolifération de *C. gigas* dans les écosystèmes tempérés a été attribuée aux **recrutements d'huîtres férales**, c'est-à-dire issues de la reproduction des huîtres d'élevage (Grizel and Héral, 1991; Drinkwaard, 1999; Wehrmann *et al.*, 2000; Diederich *et al.*, 2005; Smaal *et al.*, 2005; Cognie *et al.*, 2006; Dankers *et al.*, 2006). Chez un organisme poïkilotherme comme *C. gigas*, la reproduction et le développement larvaire sont dépendants des conditions environnementales, notamment de la température de l'eau et de la ressource trophique (Seno *et al.*, 1926; Loosanoff, 1962;

Andrews, 1979; Sastry, 1979; Mann, 1979; Arakawa, 1990; Ruiz *et al.*, 1992; Dekshenieks *et al.*, 1993; Strathmann *et al.*, 1993; Shatkin *et al.*, 1997; Chávez-Villalba *et al.*, 2001; 2002; 2003; Hofmann *et al.*, 2004; Fabioux *et al.*, 2005; Rico-Villa *et al.*, 2008 ). Ainsi, *C. gigas* étant originaire d'un habitat tempéré chaud, il a été suggéré que la prolifération des huîtres férales pouvait être liée au réchauffement des eaux littorales au niveau des écosystèmes tempérés qui étaient auparavant trop froids pour soutenir un recrutement régulier de naissains (Le Borgne *et al.*, 1973; Gruet *et al.*, 1976; Goulletquer, 1995; Drinkwaard, 1999; Diederich *et al.*, 2005). **Cependant, aucune étude n'a clairement démontré l'effet des variations de la température de l'eau sur le recrutement naturel de *C. gigas* dans les écosystèmes tempérés.** De plus, bien qu'en l'absence de nouvelles introductions de géniteurs, les premiers recrutements d'huîtres férales soient attribués à la reproduction des individus en élevage, les générations successives d'adultes féraux représentent également une réserve potentielle de géniteurs (Cardoso *et al.*, 2007; Brandt *et al.*, 2008). **La capacité de reproduction des huîtres férales et leur potentielle contribution au recrutement naturel de naissains devraient donc être prises en compte dans la compréhension de leur prolifération.**

Actuellement, l'une des principales préoccupations liées à l'invasion des huîtres férales dans les écosystèmes tempérés est la **compétition trophique** potentielle avec les espèces exploitées de Bivalves (Reise, 1998; Smaal *et al.*, 2005), notamment dans les zones d'élevage de *C. gigas* (Martin *et al.*, 2005; Cognie *et al.*, 2006). En effet, dans ces zones, la concentration de géniteurs favorise le développement d'une grande densité d'huîtres férales qui partagent la même ressource trophique que les huîtres d'élevage. Ainsi, l'augmentation non contrôlée de la quantité d'huîtres férales par rapport aux stocks d'huîtres d'élevage constitue un risque vis-à-vis des futurs rendements ostréicoles, notamment dans les environnements très turbides, caractérisés par une faible qualité de la ressource trophique. De plus, contrairement aux huîtres d'élevage qui ont souvent une origine exogène (écloserie, parcs de captage géographiquement éloignés) et qui ne restent *in situ* que quelques années (Goulletquer et Le Moine, 2002), les huîtres férales, qui passent toute leur vie dans le même écosystème, sont susceptibles de subir une sélection naturelle et de mieux s'adapter à la variabilité et aux valeurs extrêmes des conditions environnementales. Il apparaît notamment que les huîtres férales peuvent se développer dans des conditions de concentrations en matières en suspension nettement supérieures aux seuils physiologiques d'arrêt des mécanismes d'alimentation mis en évidence chez des populations cultivées de *C. gigas* (Deslous-Paoli *et al.*, 1992; Pastoureaud *et al.*, 1996; Barillé *et al.*, 1997b). **A l'heure**

**actuelle, les mécanismes, permettant aux huîtres férales de tolérer les fortes turbidités, n'ont pas encore été élucidés** (Dutertre *et al.*, 2007; Beninger *et al.*, 2008b).

La **capacité trophique** d'un écosystème ostréicole, correspondant à la quantité maximale d'huîtres pouvant y être cultivées sans altération des taux de croissance et de mortalité (Bacher *et al.*, 1998; Sará et Mazzola, 2004; McKindsey *et al.*, 2006), peut être évaluée par l'intermédiaire de modèles utilisant des lois mathématiques pour traduire, de façon simplifiée, des processus biologiques et physiques, et ainsi simuler le fonctionnement de cet écosystème (Bacher, 1989; Grant *et al.*, 1993). Ces modèles écosystémiques se basent sur des sous-modèles biologiques correspondant aux différents maillons des réseaux trophiques (Herman, 1993; Bacher *et al.*, 1994; Raillard et Ménesguen, 1994; Haney et Jackson, 1996; Barillé *et al.*, 1997a). Pour *C. gigas*, les modèles écophysiologiques individuels prennent en compte l'énergie acquise par le biais des mécanismes de l'alimentation ainsi que la répartition de cette énergie dans les différents compartiments biologiques (croissance somatique, réserves-gonades et croissance coquillière), en fonction des variations des conditions environnementales (Powell *et al.*, 1992; Barillé *et al.*, 1997a; Kobayashi *et al.*, 1997; Gangnery *et al.*, 2003; Pouvreau *et al.*, 2006). Malgré les études réalisées sur les réponses écophysiologiques de *C. gigas* (Deslous-Paoli *et al.*, 1987; Bougrier *et al.*, 1995; Pastoureaud *et al.*, 1996; Barillé *et al.*, 1997b; Ward *et al.*, 1998), la plupart des modèles de croissance ne sont pas adaptés pour des individus cultivés dans des conditions de fortes turbidités (Powell *et al.*, 1992; Kobayashi *et al.*, 1997; Méléder *et al.*, 2001; Gangnery *et al.*, 2003). Afin de développer de tels modèles, il apparaît donc nécessaire de comprendre les mécanismes d'alimentation permettant aux huîtres de tolérer des conditions extrêmes de turbidité, et même de proliférer (Barillé *et al.*, 1997a). **La compréhension de cette prolifération nécessite également de mieux appréhender l'influence des fortes turbidités sur la répartition de l'énergie au sein des individus.** Ceci est d'autant plus important que le stress physiologique lié à l'intensification de la reproduction des huîtres cultivées pourrait être à l'origine des mortalités estivales massives de *C. gigas* observées sur le littoral français depuis une quinzaine d'années (Goulletquer *et al.*, 1998; Berthelin *et al.*, 2000; Soletchnik *et al.*, 2006; Delaporte *et al.*, 2007).

Les études présentées dans ce travail de thèse ont pour objectifs de déterminer les mécanismes écophysiologiques permettant à *C. gigas* d'établir des populations pérennes d'huîtres férales dans les écosystèmes tempérés turbides de la côte atlantique française. Afin d'améliorer la gestion de ces écosystèmes, un intérêt particulier est porté à la caractérisation de l'influence des fortes concentrations en matière en suspension sur les stratégies

d'alimentation et de reproduction de cette espèce. Le bassin ostréicole de la baie de Bourgneuf a été choisi comme site modèle pour ces travaux car c'est un écosystème tempéré récemment envahi par les huîtres férales et caractérisé par un fort gradient de turbidité.

Le **premier chapitre** de ce travail présente les caractéristiques morphologiques, anatomiques et physiologiques de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Il détaille les structures et mécanismes impliqués dans l'alimentation suspensivore et dans la reproduction, ainsi que le déroulement de la vie larvaire jusqu'à la fixation. Ce chapitre aborde également l'introduction et l'élevage de *C. gigas* dans les écosystèmes côtiers français.

Dans le **deuxième chapitre**, l'étude expérimentale des réponses fonctionnelles des mécanismes d'alimentation de *C. gigas* montre que la tolérance des huîtres férales vis-à-vis des fortes turbidités peut être associée aux variations des tailles des branchies et des palpes labiaux. Des études *in situ* permettent également de démontrer l'influence des variations spatiales et temporelles des concentrations en matière en suspension sur la plasticité phénotypique des tailles de ces organes palléaux.

Dans le **troisième chapitre**, des analyses biométriques et histologiques permettent de mettre en évidence les stratégies de reproduction *in situ* des huîtres d'élevage et des huîtres férales en relation avec l'enregistrement en continu des variables environnementales dans deux sites présentant des conditions de turbidité différentes. Dans le cadre de la prolifération des huîtres férales, ces résultats sont mis en relation avec les variations des densités des larves pélagiques et des intensités des recrutements naturels.

# **CHAPITRE 1 :**

## **BIOLOGIE ET ÉLEVAGE DE *CRASSOSTREA GIGAS* EN FRANCE**

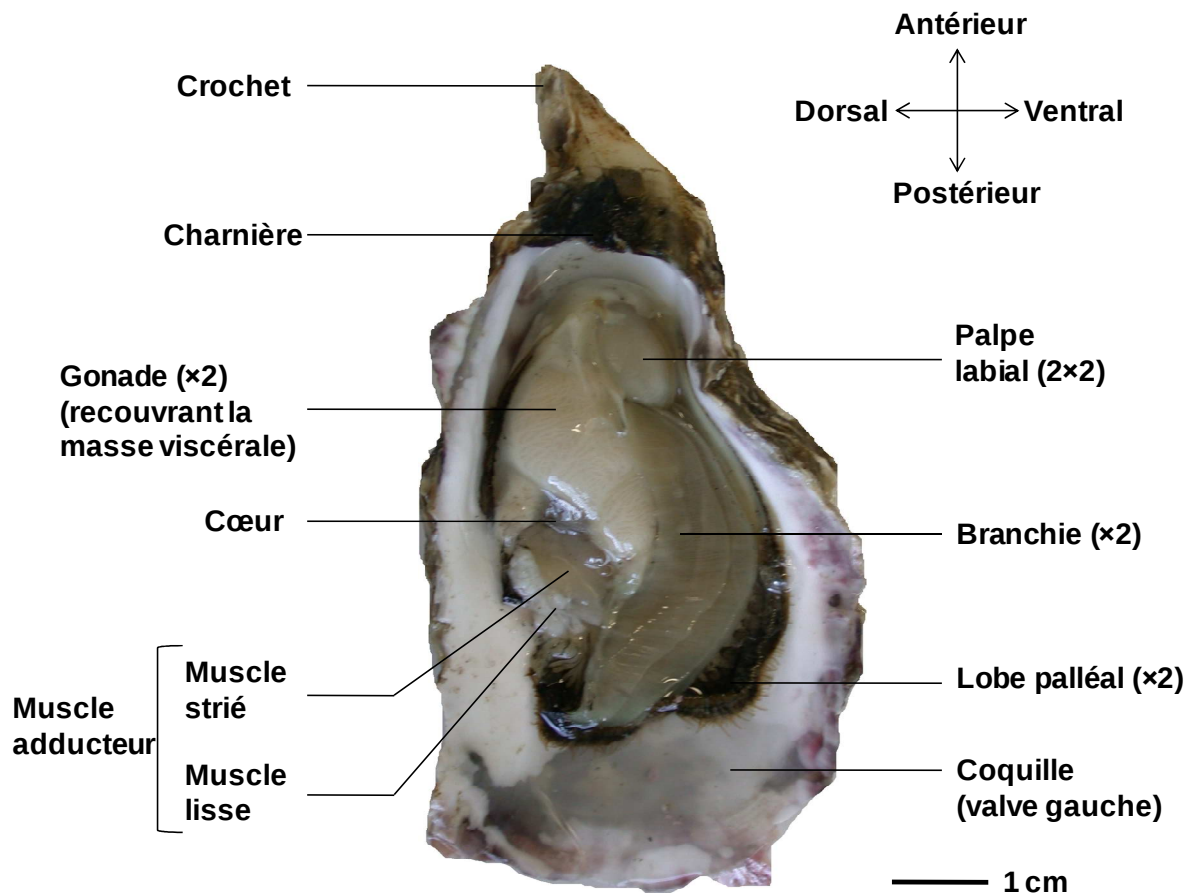


## 1.1. Alimentation suspensivore

---

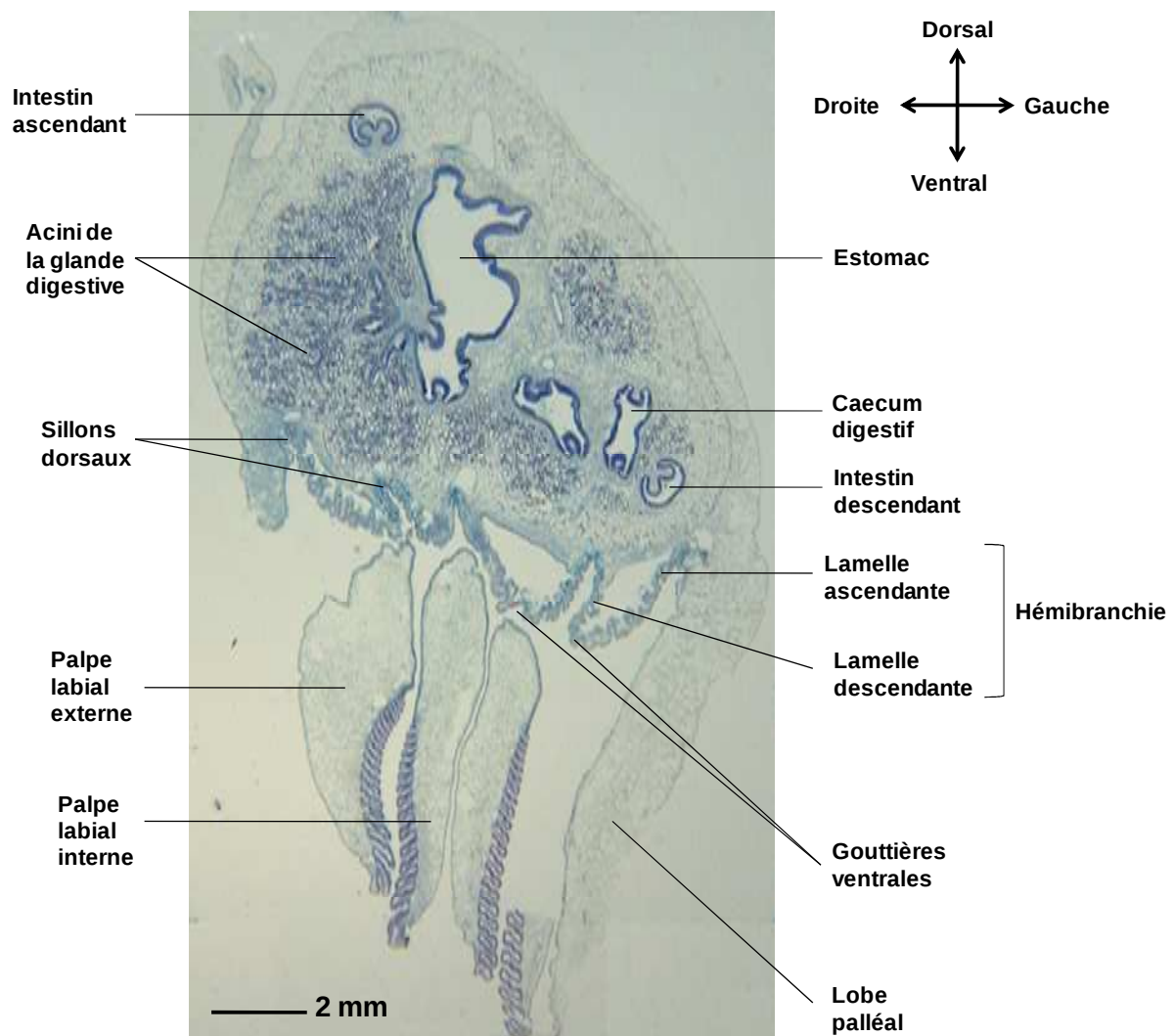
### 1.1.1. Anatomie générale de *Crassostrea gigas*

Les huîtres sont des Mollusques Bivalves appartenant à la famille des Ostréidés. La coquille calcaire présente une dissymétrie bilatérale prononcée avec une valve gauche creuse, fixée à un support solide par la sécrétion d'un ciment, et une valve droite aplatie (Seed, 1983; Eble et Scro; 1996). La morphologie des coquilles d'huîtres présente un polymorphisme important en fonction des conditions de croissance (Orton, 1936; Gunter, 1938; Galtsoff, 1964). La charnière, de type dysodonte, reliant les deux valves, se caractérise par la présence d'un ligament abducteur, tendant à écarter les valves, et par l'absence de dents (Stenzel, 1971; Harry, 1985). Au moment de la fixation des larves sur le substrat définitif, le passage des individus à la condition monomyaire est caractérisé par la régression totale du muscle adducteur antérieur et par l'hypertrophie du muscle adducteur postérieur, dont la contraction s'oppose à l'action du ligament (Seed, 1983). Ce remaniement anatomique s'accompagne d'une migration de la charnière vers la région antérieure de l'animal. Ainsi, la terminologie utilisée pour l'orientation des huîtres varie selon les auteurs, suivant qu'ils se basent sur la coquille ou sur les tissus mous (Galtsoff, 1964; Morton et Yonge, 1964; Eble et Scro, 1996). Dans l'ensemble des travaux ci-après, l'orientation des animaux correspondra à celle des tissus mous : la bouche et les palpes labiaux étant en position antérieure, la masse viscérale dorsale et les branchies ventrales (Figure 1). La longueur, la largeur et la hauteur de la coquille correspondent respectivement aux axes antéro-postérieur, dorso-ventral et droite-gauche.



**Figure 1.** Anatomie générale de *Crassostrea gigas*, après avoir enlevé la valve droite et le lobe droit du manteau.

Le manteau, formant deux lobes palléaux latéraux qui sécrètent chacun une valve, recouvre la masse viscérale contenant l'essentiel des organes internes et délimite la cavité palléale en contact avec le milieu extérieur. Les huîtres sont des organismes épibenthiques, qui ne possèdent pas de siphons palléaux mais de larges ouvertures inhalante et exhalante, permettant respectivement l'entrée et la sortie d'eau de la cavité palléale. Les produits issus de la sélection pré-ingestive (pseudofèces), de la digestion (fèces), de la reproduction (gamètes) et de l'excrétion (composés azotés) sont libérés dans la cavité palléale avant d'être expulsés dans le milieu extérieur, via l'ouverture exhalante. La cavité palléale contient également une paire de branchies hypertrophiées impliquée dans l'alimentation suspensivore (cf. 1.1.2). La région céphalique atrophiée correspond à deux paires de palpes labiaux entourant la bouche (cf. 1.1.2). Le système digestif, contenu dans la masse viscérale, se poursuit par un œsophage court, un estomac en communication avec une glande digestive composée d'acini, et un intestin se terminant par l'anus (Figure 2).

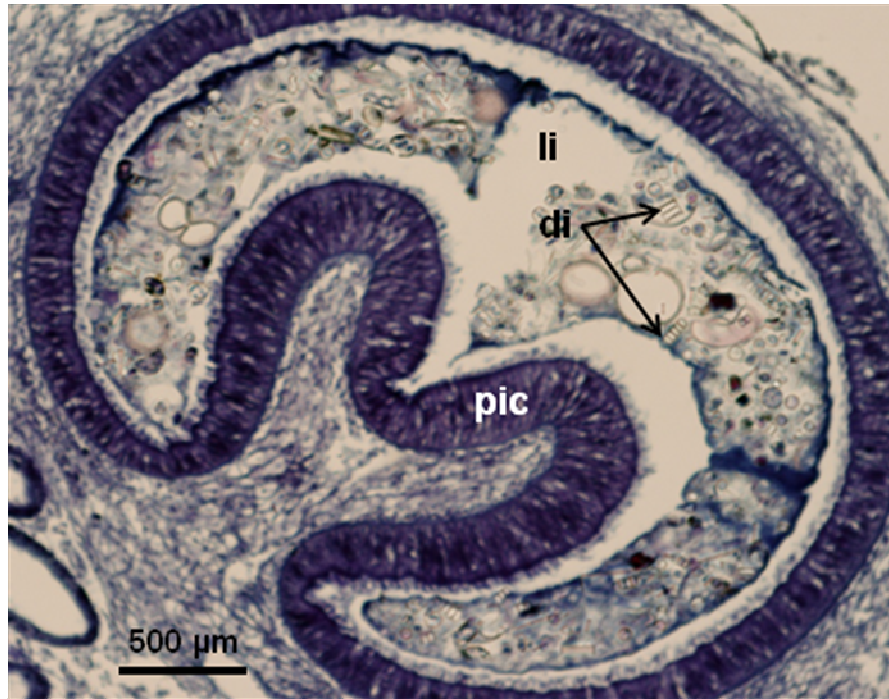


**Figure 2.** Coupe transversale au niveau de la jonction palpes-branchies de *Crassostrea gigas* (gonades peu développées).

### 1.1.2. Structure des branchies et des palpes labiaux

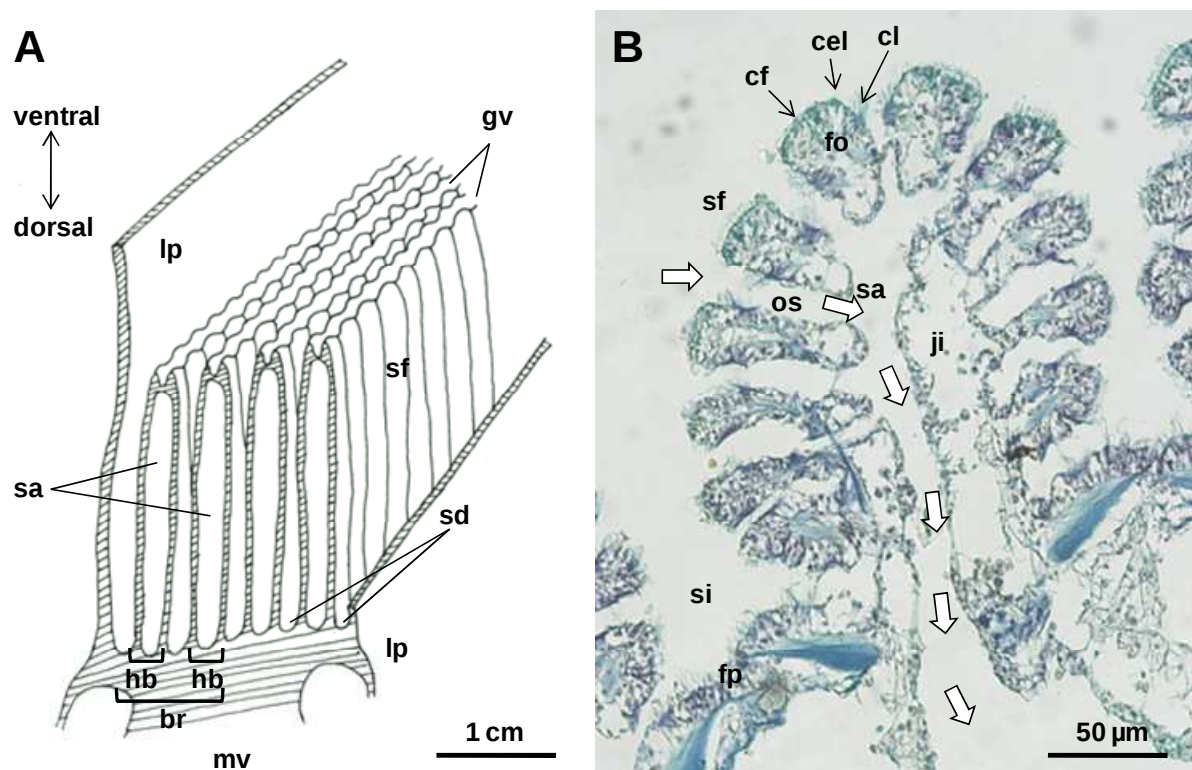
Les huîtres sont des organismes suspensivores qui se nourrissent essentiellement de particules organiques en suspension (Figure 3; Leroux, 1956; Paulmier, 1972; Cognie *et al.*, 2001; Decottignies *et al.*, 2007). Après leur capture, l'ensemble des particules organiques et inorganiques en suspension est soumis à un traitement pré-ingestif au niveau d'organes palléaux spécialisés : les branchies et les palpes labiaux (Yonge, 1926; Atkins, 1937; Foster-Smith, 1975; Newell et Jordan, 1983; Shumway *et al.*, 1985; Newell *et al.*, 1989; Prins *et al.*,

1991; Beninger *et al.*, 1992; 2008a; 2008b; Ward, 1996; Beninger et St-Jean, 1997; Ward *et al.*, 1998; Cognie *et al.*, 2001; Ward et Shumway, 2004).



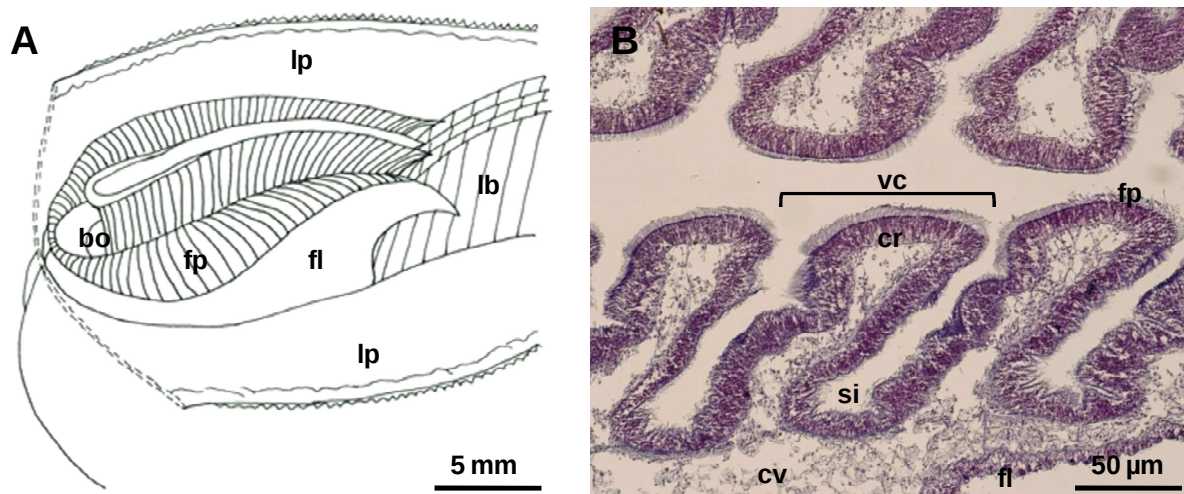
**Figure 3.** Diatomées observées dans la lumière de l'intestin ascendant d'une huître. di: diatomée, li : lumière intestinale, pic : paroi intestinale ciliée.

Les branchies, de type hétérorhabdique pseudolamellibranche, sont constituées par l'agencement parallèle de filaments principaux et de filaments ordinaires, reliés entre eux par des jonctions interfilamentaires permettant le passage de vaisseaux hémolymphatiques (Figure 4; Atkins, 1937; Barillé, 1994; Le Pennec *et al.*, 2003a; Cannuel et Beninger, 2006). Les filaments principaux sont séparés les uns des autres par des plis constitués de 10 à 20 filaments ordinaires. Au niveau de la surface frontale des filaments branchiaux, l'association de systèmes ciliaires complexes et de mucocytes permet la capture et le transport des particules en suspension (Beninger *et al.*, 2005; Cannuel et Beninger, 2007). Chaque branchie, orientée suivant l'axe antéro-postérieur, est repliée en « W » et forme ainsi quatre lamelles branchiales parallèles. Les jonctions entre les lamelles, sillons dorsaux et gouttières ventrales, présentent des voies ciliaires permettant le transfert des particules vers les palpes labiaux.



**Figure 4.** Structure des branchies de *Crassostrea gigas*. A : Section transversale d'une huître montrant la disposition des branchies dans la cavité palléale; B : Détail de la coupe transversale d'un pli branchial observé en microscopie optique. br : branchie, cel, cirres eulatéro-frontaux, cf : cils frontaux, cl : cils latéraux, fo : filament ordinaire, fp : filament principal, gv : gouttière ventrale, hb : hémibranchie, ji : jonction interfilamentaire, lp : lobe palléal, os : ostium, sa : surface abfrontale des filaments branchiaux, sd : sillon dorsal, sf : surface frontale des filaments branchiaux, si : sillon. Les flèches blanches indiquent le trajet de l'eau filtrée par les branchies.

Chaque palpe labial présente une face externe lisse et une face interne garnie de plis et de sillons (Figure 5; Yonge, 1926; Atkins, 1937; Nelson, 1960; Barillé, 1994; Le Pennec *et al.*, 2003b). Les plis sont inclinés vers la bouche et portent chacun, à leur apex, cinq voies ciliaires, dont deux qui amènent les particules vers la bouche. Les trois autres voies dirigent les particules vers les sillons, vers la base des palpes et vers la bordure marginale des palpes. Au niveau de chaque paire de palpes labiaux, les faces internes sont disposées en vis-à-vis et reçoivent les cordons muqueux de particules acheminés par les branchies.



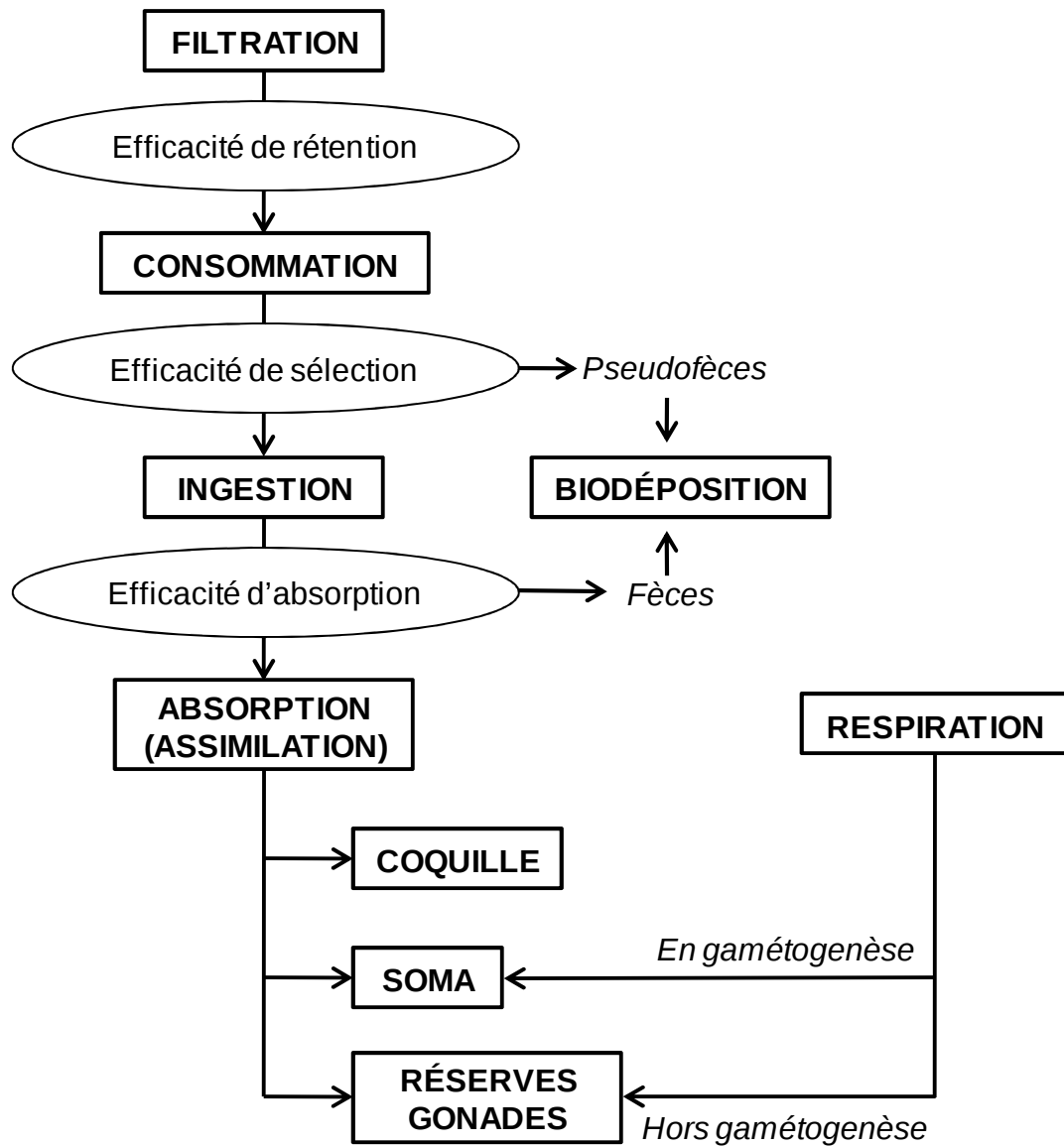
**Figure 5.** Disposition et structure des palpes labiaux de *Crassostrea gigas*. A: Région antérieure montrant la jonction palpes-branchies (d'après Galtsoff, 1964); B: Photographie en microscopie optique de la coupe longitudinale d'une paire de palpes labiaux. bo: bouche; cr: crête; cv: cellules vésiculaires; fl: face lisse; fp: face plissée; lb: lamelle branchiale; lp: lobe palléal; si: sillon; vc: voies ciliaires.

### 1.1.3. Capture des particules en suspension

Le courant d'eau qui pénètre postéro-antérieurement dans la cavité palléale est dévié vers la surface frontale des branchies par les battements synchrones des cils latéraux situés de chaque côté des filaments branchiaux (Ward *et al.*, 1993; 1998; Riisgård *et al.*, 1996; Ward, 1996; Riisgård et Larsen, 2000). Le passage de l'eau de la surface frontale vers la surface abfrontale des branchies se fait au niveau des ostia. Chez le bivalve homorhabdite *Mytilus edulis*, les particules en suspension sont interceptées par des cirres eulatéro-frontaux situés sur la surface frontale des branchies et transférées vers des rangées de cils frontaux (Riisgård *et al.*, 1996). Cependant, en raison du faible développement de ces cirres chez les Ostréidés et les Pectinidés, un mécanisme de capture hydrodynamique a été suggéré chez les Bivalves hétérorhabdites (Owen et McRae, 1976; Beninger *et al.*, 2005; Cannuel et Beninger, 2006). Bien que les branchies de Bivalves ne fonctionnent pas réellement comme des filtres, le volume d'eau traversant les branchies par unité de temps correspond à une réponse physiologique communément appelée « **filtration** », qui a été estimé entre 2,1 et 5,5 l.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup> de chair sèche chez *C. gigas* (Figure 6; Deslous-Paoli *et al.*, 1987; Bougrier *et al.*, 1995; Ropert *et al.*, 1996; Barillé *et al.*, 1997a; Méléder *et al.*, 2001). Le taux de filtration de *C. gigas* varie en fonction des conditions environnementales comme la température de l'eau et

les caractéristiques des matières en suspension (Bougrier *et al.*, 1995; Lassus *et al.*, 1999; Deslous-Paoli *et al.*, 1987; Barillé *et al.*, 1997b; Méléder *et al.*, 2001). Au niveau des cils frontaux, les particules capturées sont engluées dans des sécrétions de mucopolysaccharides, avant d'être dirigées soit vers les sillons dorsaux, soit vers les gouttières ventrales des branchies (Ward *et al.*, 1993; 1998; Ward, 1996; Beninger et St-Jean, 1997b; Cognie *et al.*, 2003; Dutertre *et al.*, 2007; Beninger *et al.*, 2008a; 2008b). La suspension muqueuse transitant dans les sillons dorsaux ainsi que les cordons muqueux cohésifs des gouttières ventrales acheminent les particules vers les deux paires de palpes labiaux entourant la bouche (Bernard, 1974; Foster-Smith, 1975a; 1975b; Ward *et al.*, 1994; Beninger et Dufour, 1996; Ward, 1996). Au niveau des surfaces exposées au courant, comme les surfaces frontales des filaments ordinaires et les gouttières ventrales, la sécrétion d'un mucus acide visqueux évite la remise en suspension des particules (Beninger et Dufour, 1996; Beninger *et al.*, 2005).

Chez *C. gigas*, l'**efficacité de rétention** des particules par les branchies est influencée par la taille et la forme des particules, ainsi que par la charge sestonique (Haven et Morales-Alamo, 1970; Møhlenberg et Riisgård, 1978; Palmer et Williams, 1980; Riisgård, 1988; Barillé *et al.*, 1993; Ropert *et al.*, 1996; Cognie *et al.*, 2003). Quand la charge sestonique est faible, les particules peuvent être partiellement retenues à partir d'un diamètre sphérique-équivalent de 2  $\mu\text{m}$ , mais seules les particules ayant un diamètre supérieur à 6  $\mu\text{m}$  sont retenues à 100 % par les branchies. En revanche, une augmentation de la charge sestonique déplace le seuil de rétention à 100 % vers des particules ayant un diamètre plus élevé. Chez les Bivalves, la quantité effective de particules retenues sur les branchies par unité de temps correspond à la **consommation** (Figure 6).



**Figure 6.** Schéma conceptuel détaillant les processus physiologiques intégrés dans les modèles écophysiologiques de croissance de *Crassostrea gigas* (modifié d'après Barillé *et al.*, 1997; Haure *et al.*, 2008).

#### 1.1.4. Sélection pré-ingestive des particules

La **sélection pré-ingestive** correspond à la capacité des Bivalves à sélectionner, parmi les particules retenues par les branchies, celles qui seront ingérées et celles qui seront rejetées vers le milieu extérieur sous la forme de pseudofèces (Figure 6). Ce mécanisme, qui s'opère entre particules organiques et minérales (Kiørboe et Møhlenberg, 1981; Newell et Jordan, 1983; Newell *et al.*, 1989; Urban et Kirchman, 1992; Ward *et al.*, 1998; Beninger *et al.*, 2008a; 2008b), entre particules de natures différentes (Loosanoff et Engle, 1947; Nelson,

1960; Cognie *et al.*, 2003; Dutertre *et al.*, 2007) et/ou entre espèces de microalgues (Cucci *et al.*, 1985; Shumway *et al.*, 1985; Bougrier *et al.*, 1997; Baker *et al.*, 1998; Cognie *et al.*, 2001), permet d'améliorer la qualité de la ration ingérée (Iglesias *et al.*, 1992; MacDonald et Ward, 1994; Bacon *et al.*, 1998; Urrutia *et al.*, 2001). L'**efficacité de la sélection pré-ingestive** varie suivant la qualité et la quantité de matières en suspension (Iglesias *et al.*, 1992; 1996; Deslous-Paoli *et al.*, 1992; MacDonald et Ward, 1994; Navarro et Iglesias, 1992; Urrutia *et al.*, 1996; Bacon *et al.*, 1998; Hawkins *et al.*, 1998; Cognie *et al.*, 2003; Dutertre *et al.*, 2007; Beninger *et al.*, 2008a; 2008b). Les données disponibles pour *C. gigas* montrent que l'efficacité de la sélection diminue pour des concentrations en MES supérieures à 25 mg.l<sup>-1</sup> (Pastoureaud *et al.*, 1996), et que la sélection pré-ingestive cesse au-delà de 150 mg.l<sup>-1</sup> (Barillé *et al.*, 1997b).

Chez les Bivalves pourvus de branchies hétérorhabdites, le transport antagoniste entre les filaments ordinaires et principaux a été décrit comme une première étape de sélection basée principalement sur la taille des particules (Ward *et al.*, 1997; 1998; Cognie *et al.*, 2003; Beninger *et al.*, 2005). En effet, l'accès aux filaments principaux est conditionné par une limite supérieure de taille correspondant à l'espace entre deux plis branchiaux successifs (Cognie *et al.*, 2003). Les particules suffisamment petites pour atteindre la surface frontale des filaments principaux sont préférentiellement dirigées vers les sillons dorsaux, considérés comme des voies d'acceptation des particules pour l'ingestion. En revanche, les particules restées au sommet des plis, sur des filaments ordinaires, seront préférentiellement transférées vers les gouttières ventrales, considérées comme des voies de premier rejet des particules avant ingestion. Lorsque la charge sestonique dépasse un certain seuil, les gouttières ventrales peuvent produire des pseudofèces afin de réguler le volume de particules à traiter par les palpes labiaux. Ainsi, la production de pseudofèces n'est pas toujours consécutive à une étape de sélection pré-ingestive (Foster-Smith, 1975a; Beninger *et al.*, 1992).

Le rôle des palpes labiaux dans la sélection pré-ingestive a notamment été mis en évidence lorsque la sélection sur les branchies n'était pas efficace. Chez les Bivalves munis de branchies homorhabdites, comme les Mytilidés, l'absence de filaments principaux fait que toutes les particules capturées sont acheminées vers les gouttières ventrales, puis triées sur les palpes labiaux (Beninger *et al.*, 1997; Beninger et St-Jean, 1997; Ward *et al.*, 1998). En revanche, chez les Bivalves à branchies hétérorhabdites, comme *C. gigas*, les palpes labiaux opèrent, après le traitement sur les branchies, une seconde étape de sélection pré-ingestive du matériel particulaire (Cognie *et al.*, 2003; Beninger *et al.*, 2005; 2008b). Le traitement sur les palpes labiaux concerne toutes les particules acheminées par les branchies, bien que certaines

particules amenées par les sillons dorsaux puissent être ingérées sans une seconde étape de sélection (Ward *et al.*, 1994). Les particules destinées à être rejetées sous la forme de pseudofèces sont dirigées vers les marges ventrales des palpes tandis que les autres sont acheminées vers la bouche. Les palpes labiaux de *C. gigas* assurent également l'essentiel du tri des particules trop grandes pour accéder aux filaments principaux des branchies (Cognie *et al.*, 2003). Un processus de fluidification des agrégats muqueux, permettant la dispersion et la sélection individuelle des particules au niveau des surfaces plissées des palpes labiaux, a été proposée chez *C. virginica* (Newell et Jordan, 1983) et mise en évidence chez *M. edulis* (Beninger et St-Jean, 1997). Bien que la morphologie (forme et taille) et/ou les propriétés biochimiques des particules aient été suggérées comme critères de sélection au niveau des palpes labiaux des Bivalves (Leroux, 1956; Kiørbøe et Møhlenberg, 1981; Newell et Jordan, 1983; Barillé *et al.*, 1997b; Beninger *et al.*, 2004; 2008a; 2008b; Bougrier *et al.*, 1997; Ward *et al.*, 1997; 1998a; Levinton *et al.*, 2002; Cognie *et al.*, 2003; Beninger et Decottignies, 2004; Pales Espinosa *et al.*, 2007), **la difficulté d'accéder *in vivo* à l'espace situé entre les faces plissées des palpes et le fait qu'aucun récepteur biochimique n'ait été observé sur ces faces n'ont pas permis d'établir avec certitude les mécanismes permettant la sélection des particules par les palpes labiaux.** Les pseudofèces produits par les branchies et/ou les palpes labiaux sont transférés sur des voies ciliaires localisées sur les faces internes des lobes palléaux, puis entraînés vers l'ouverture exhalante avant d'être expulsés vers le milieu extérieur (Beninger et Veniot, 1999; Beninger et Cannuel, 2006).

## 1.2. Sexualité et reproduction

---

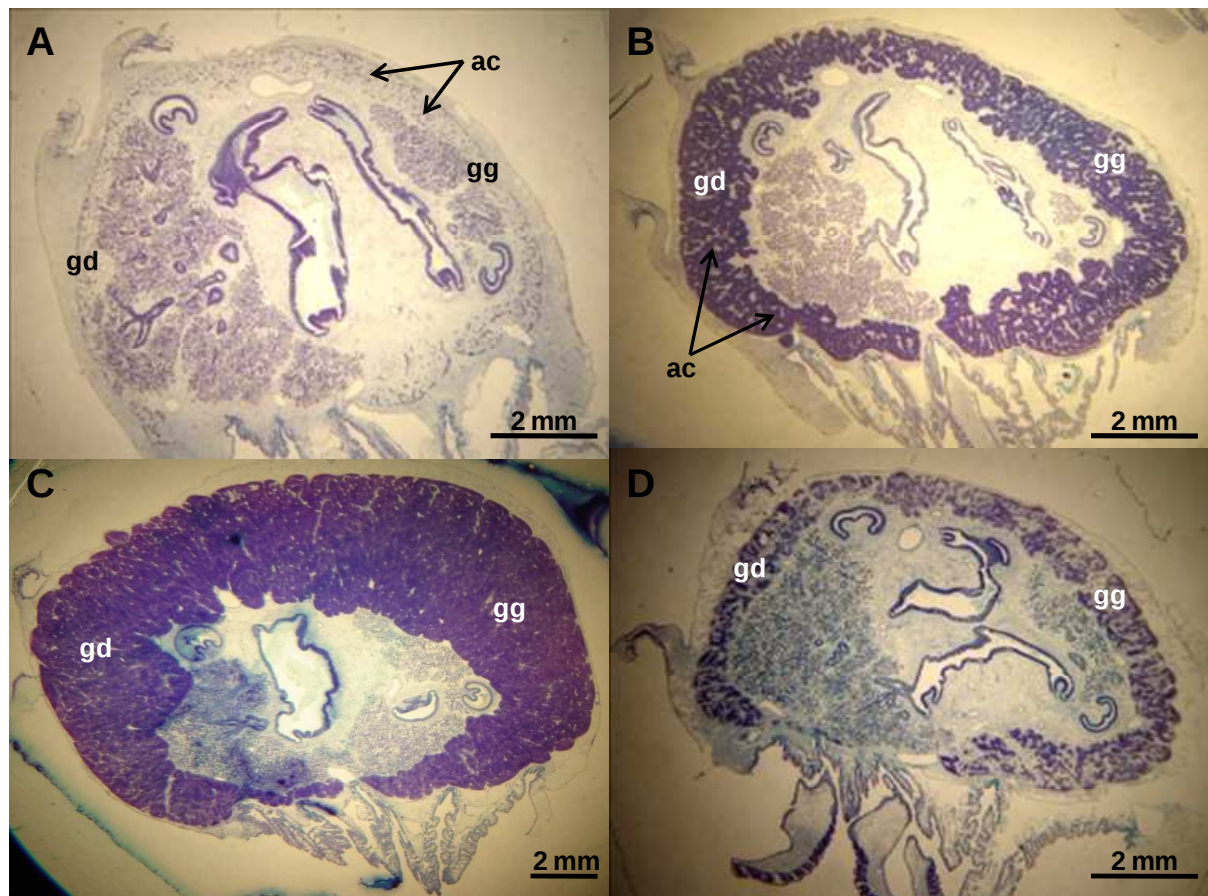
### 1.2.1. Sexualité

Les observations histologiques et l'étude des sex-ratios suggèrent que *Crassostrea gigas* est un hermaphrodite protandre de type alternatif irrégulier (Amemiya, 1929; Galtsoff, 1964; Andrews, 1979; Gérard *et al.*, 1995; Guo *et al.*, 1998, Lango-Reynoso *et al.*, 1999). Lors du premier cycle de reproduction le pourcentage d'individus mâles est proche de 70 %, puis diminue à 50 % lors du second cycle et devient nettement inférieur à celui des individus femelles au cours des cycles suivants (Galtsoff, 1964; Andrews, 1979). Une même huître peut changer de sexe entre deux saisons de reproduction, mais cela n'est plus possible lorsque la gamétogenèse a été initiée (Amemiya, 1929; Buroker, 1983). Les cas d'hermaphrodisme simultané sont rares (Amemiya, 1929; Lango-Reynoso, 1999). Chez les Bivalves, les synthèses de certaines molécules (polypeptides, hormones stéroïdes) varient en fonction du sexe et suggèrent une origine génétique du déterminisme sexuel de *C. gigas* (Paz *et al.*, 2001; Bernay *et al.*, 2006). Cependant, certains facteurs environnementaux semblent également être à l'origine de variations dans le changement de sexe (Amemiya, 1935; Egami, 1953; Guo *et al.*, 1998; Steele et Mulcahy, 1999; Fabioux *et al.*, 2005).

### 1.2.2. Anatomie du système reproducteur

L'appareil reproducteur des huîtres se présente sous la forme d'une paire de gonades temporaires, constituées d'acini ramifiés qui se développent en périphérie de la masse viscérale, en dehors de l'épithélium palléal (Figure 7; Galtsoff, 1964; Andrews, 1979; Eckelbarger et Davis, 1996a; 1996b). Au cours du cycle de reproduction, le développement des gonades entraîne leur fusion, autour du système digestif. Les acini en périphérie des gonades sont différenciés en canaux évacuateurs ciliés, ou gonoductes, et terminés par une paire de pores génitaux s'ouvrant dans la chambre exhalante de la région postéro-ventrale de la cavité palléale, près du muscle adducteur. Le tissu conjonctif inter-acinal est constitué principalement de cellules vésiculeuses servant à stocker des réserves glucidiques sous forme

de glycogène (Berthelin *et al.*, 2000). En période de « repos sexuel », les acini ne sont pas visibles.

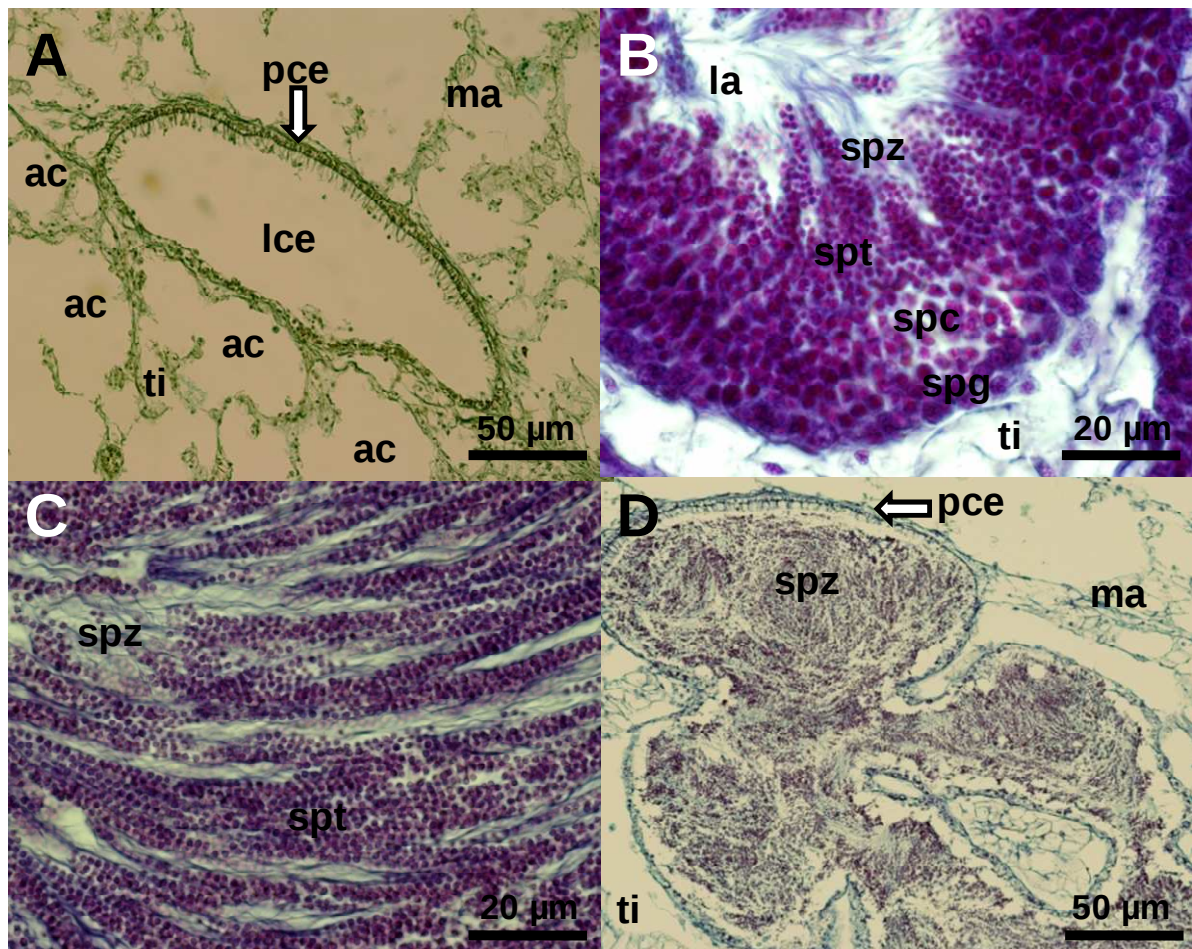


**Figure 7.** Développement des gonades au cours d'un cycle de reproduction chez *Crassostrea gigas*. A : début de la maturation des gonades; B : maturation avancée des gonades; C : gonades matures; D : Émission/résorption des gamètes. ac : acinus; gd : gonade droite; gg : gonade gauche.

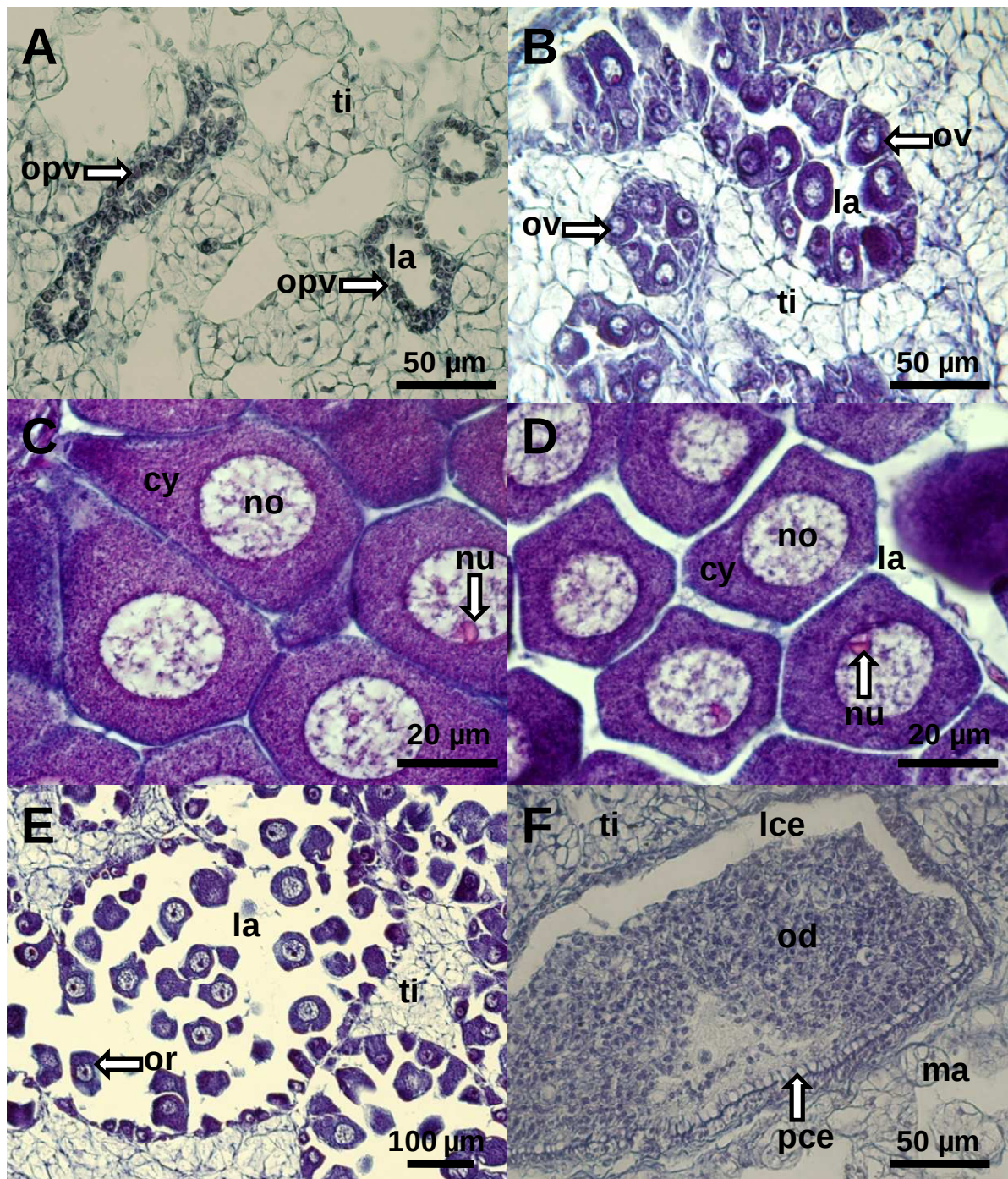
### 1.2.3. Gamétogenèse

Chez les Ostréidés, les cellules goniales se développent au niveau de l'épithélium germinale des acini et se différencient de façon centripète vers la lumière acinale (Galtsoff, 1964; Kennedy et Battle, 1964; Andrews, 1979). Elles subissent ensuite des mitoses aboutissant à la formation de cytes primaires (I) qui entrent en prophase I de méiose, durant laquelle le doublement de la quantité d'ADN entraîne un état tétraploïde des cellules. La première division de la méiose, ou division réductionnelle, entraîne la formation de cytes secondaires (II) diploïdes, qui subissent la seconde division de la méiose, ou division

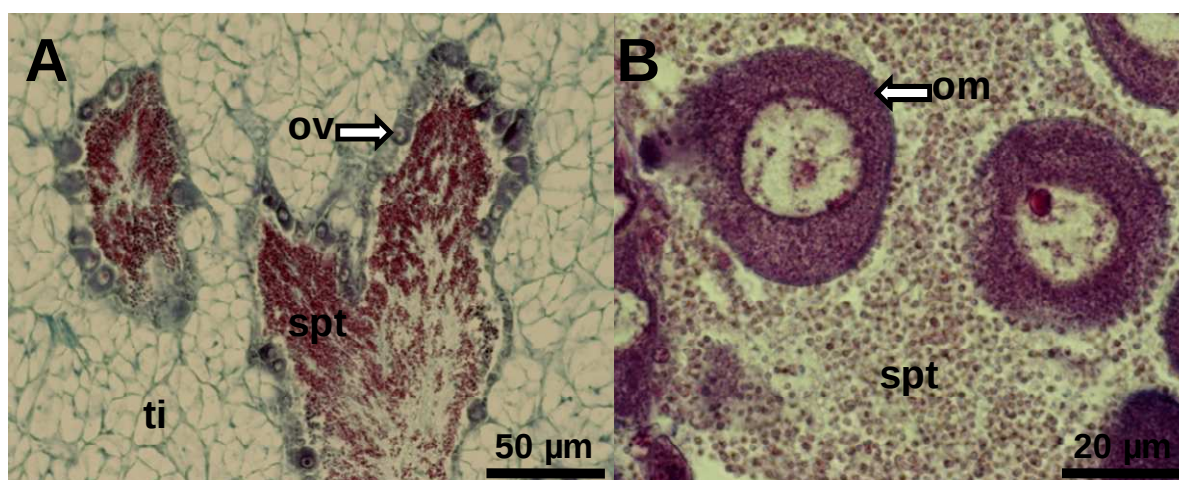
équationnelle, pour donner des gamètes haploïdes. Chez les huîtres mâles, la spermatogenèse se déroule entièrement dans les acini et permet l'émission de spermatozoïdes matures dans le milieu extérieur (Figure 8). Durant la spermatogenèse, les cellules germinales, qui se présentent en couches successives, restent appareillées entre elles par des ponts cytoplasmiques jusqu'à la formation des spermatides, entraînant ainsi une production synchrone des spermatozoïdes matures au sein de chaque acinus (Callard et Callard, 1998). Chez les huîtres femelles, l'ovogenèse s'arrête en prophase I, après que le cytoplasme hypertrophié des ovocytes ait accumulé des réserves lipidiques au cours de la vitellogenèse, et ne reprendra qu'après la fécondation externe (Figure 9; Leclerc *et al.*, 2000). Durant la vitellogenèse, les ovocytes I restent attachés à la paroi acinale par un pédoncule (Lango-Reynoso *et al.*, 2000). Les ovocytes matures post-vitellogénétiques sont libérés dans la lumière acinale et peuvent être évacués lors des émissions de gamètes. Dans les cas d'hermaphrodisme simultané, un même acinus peut contenir des gamètes mâles et des gamètes femelles (Figure 10).



**Figure 8.** Spermatogenèse chez *Crassostrea gigas*. A: Canal évacuateur et acini vides en période de repos sexuel; B: Différenciation centripète des cellules germinales mâles; C: Spermatides et spermatozoïdes matures; D : Canaux évacuateurs remplis de spermatozoïdes. ac : acinus; la: lumière acinale, lce: lumière du canal évacuateur, ma: manteau, pce: paroi ciliée du canal évacuateur, spc: spermatocyte, spg: spermatogonie, spt: spermatide, spz: spermatozoïde, ti: tissu interacinal.



**Figure 9.** Ovogenèse chez *Crassostrea gigas*. A: Ovocytes pré-vitellogéniques; B: Ovocytes vitellogéniques; C: Ovocytes pédonculés; D: Ovocytes matures; E: Émission d'ovocytes matures; F: Ovocytes dégénérés dans un canal évacuateur. cy: cytoplasme, la: lumière acinale, lce: lumière du canal évacuateur, ma: manteau, no: noyau, nu: nucléus, od: ovocyte dégénéré, opv: ovocyte pré-vitellogénique, or : ovocyte résiduel; ov: ovocyte vitellogénique, pce: paroi ciliée du canal évacuateur, ti: tissu interacinal.



**Figure 10.** Hermaphrodisme simultané chez *Crassostrea gigas* (individus ayant une longueur de coquille d'environ 100 mm). A : Ovocytes vitellogéniques et spermatides; B : Ovocytes matures et spermatides. om: ovocyte mature, ov: ovocyte vitellogénique, spt: spermatide, ti: tissu interacinal.

#### 1.2.4. Phénologie et effort reproduction

##### 1.2.4.1. Les phases du cycle de reproduction

Le cycle de reproduction des huîtres peut être divisé en quatre phases principales : 1) accumulation de réserves énergétiques par les géniteurs notamment lors de la phase dite de « repos sexuel »; 2) gamétogenèse; 3) émission des gamètes dans le milieu extérieur; 4) résorption des gamètes résiduels (Perdue, 1982; Maurer et Borel, 1986; Dinamani, 1987; Ruiz *et al.*, 1992; Barber, 1996; Steele et Mulcahy, 1999; Berthelin *et al.*, 2000; Lango-Reynoso *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2000; Chávez-Villalba *et al.*, 2001; Ren *et al.*, 2003). L'initiation et le déroulement de ces différentes étapes sont régulés par des cascades de réactions impliquant des interactions entre facteurs endogènes et exogènes. En France, le cycle de reproduction de *C. gigas* suit un rythme saisonnier. Les acini ne sont pas visibles en automne et au début de l'hiver durant la phase de « repos sexuel » (Lubet, 1991), alors que les gonies commencent à se développer et à se multiplier activement à la fin de l'hiver (Lango-Reynoso *et al.*, 2000). Au printemps, la maturation des gonades, correspondant à la spermatogenèse chez les mâles et à la vitellogenèse chez les femelles, commence avec l'entrée en méiose des gonies. Durant cette phase, le cytoplasme des ovocytes est hypertrophié par l'accumulation de réserves vitellines, constituées majoritairement de lipides

provenant de la transformation du glycogène stocké par les géniteurs (Gabbott, 1975; Bayne *et al.*, 1982; Deslous-Paoli *et al.*, 1982; Beninger et Lucas, 1984; Lubet et Mann, 1987; Ruiz *et al.*, 1992; Pazos *et al.*, 1996; Thompson *et al.*, 1996; Berthelin *et al.*, 2000; Heude Berthelin *et al.*, 2003). En été, les gamètes matures peuvent être libérés dans le milieu extérieur au cours d'une ponte totale ou de plusieurs pontes partielles (Galtsoff, 1930; Lango-Reynoso *et al.*, 1999; Chavez-Villalba *et al.*, 2001). A la fin de la période estivale, la résorption des gamètes résiduels correspond à un recyclage d'énergie vers les géniteurs (Beninger et Le Pennec, 1991; Steele et Mulcahy, 1999). Les réserves énergétiques de l'huître sont reconstituées en automne avant la ré-initiation d'un nouveau cycle de reproduction (Berthelin *et al.*, 2000).

#### 1.2.4.2. Rythmicité du cycle de reproduction

La régulation endogène des mécanismes de la reproduction est encore mal connue chez les bivalves, mais serait vraisemblablement d'origine endocrine et impliquerait des hormones et des neurohormones (Lubet et Mathieu, 1982; Mathieu *et al.*, 1991). Chez les Mollusques, les hormones sont généralement synthétisées par des cellules neurosécrétrices localisées dans le tissu nerveux et agissent directement sur les cellules cibles (Joose et Geraerts, 1983). Les extraits de cellules neurosécrétrices exercent, *in vitro*, un effet mitogène sur les cellules de *Mytilus edulis* tandis que des récepteurs particuliers ont été mis en évidence chez *C. gigas* (Pazos et Mathieu, 1999).

En revanche, la régulation exogène par des facteurs environnementaux (température, photopériode, condition trophique, salinité, ...) est relativement bien documentée chez *C. gigas*. Comme chez la plupart des organismes poïkilothermes, la température extérieure contrôle l'activation et l'intensité des processus métaboliques. Ainsi, le déclenchement de la maturation des gonades et celui de l'émission des gamètes ont été associés à des seuils minimum de température mis en évidence en laboratoire et variables suivant les auteurs (Mann, 1979; Deslous-Paoli *et al.*, 1982; Muranaka et Lannan, 1984; Fabioux *et al.*, 2005). La régulation du cycle de reproduction dépendrait également d'un couplage entre la température et la photopériode (Fabioux *et al.*, 2005). Une nourriture abondante favorise la gamétogenèse et entraîne la production d'un nombre de gamètes plus important (Muranaka et Lannan, 1984; Pearse, 1999; Chávez -Villalba *et al.*, 2003a), tandis qu'une salinité inférieure à 30 peut également avoir un effet négatif sur la gamétogenèse (Muranaka et Lannan, 1984; Pearse, 1999).

#### 1.2.4.3. Effort de reproduction

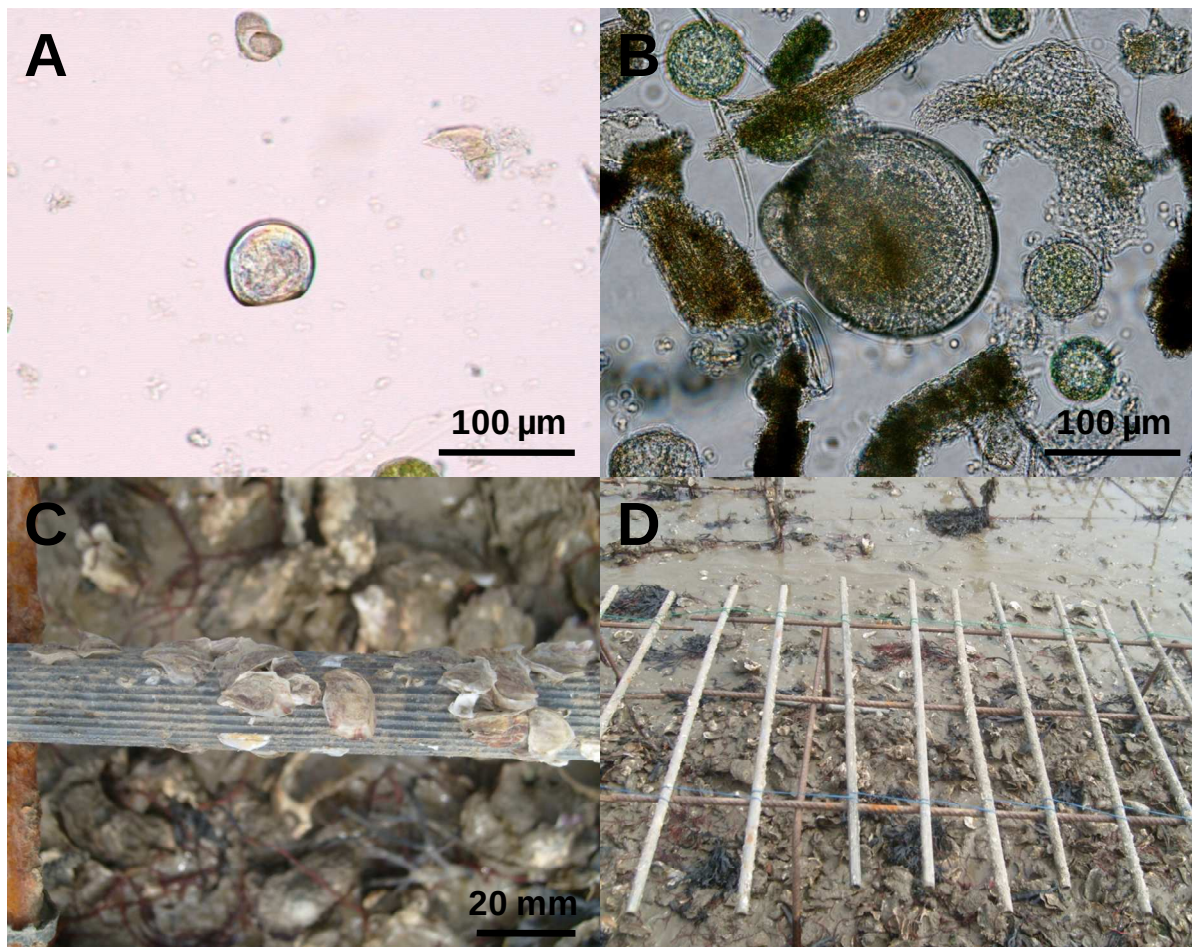
L'effort de reproduction d'un Mollusque Bivalve correspond à la proportion d'énergie qu'il investit dans ses activités de reproduction, et qui n'est plus disponible pour assurer d'autres fonctions biologiques telles que le maintien du métabolisme de base, la croissance coquillière ou la croissance somatique (Stearns, 1976; Bayne *et al.*, 1983; Todd et Havenhand, 1983; Thompson, 1984). Une partie de cette énergie est consommée par les réactions métaboliques liées à la gamétogenèse, tandis qu'une autre partie est stockée dans les gamètes, notamment lors de l'accumulation de réserves vitellines dans le cytoplasme des ovocytes. Au cours du cycle de reproduction, l'énergie stockée dans les cellules germinales peut être définitivement perdue lors des émissions de gamètes matures dans le milieu extérieur, ou récupérée et stockée par les géniteurs suite à la résorption des gamètes au sein des acini. *C. gigas* présente une stratégie de reproduction de type « r », caractérisée par l'émission d'une grande quantité de gamètes (plusieurs millions d'ovocytes) dans la colonne d'eau (Lubet, 1976; Héral, 1989; Takada et Nakajima, 1992; Gérard, 1998; Lubet et Mathieu, 1999). Chez cette espèce, les règles d'allocation d'énergie peuvent varier suivant l'âge des individus et suivant les conditions environnementales (Browne et Russell-Hunter, 1978). Des conditions environnementales défavorables peuvent notamment réduire la quantité d'énergie acquise par l'alimentation ou altérer le déroulement du cycle reproducteur, et ainsi modifier la proportion d'énergie allouée à la reproduction. Chez les Bivalves comme *C. gigas*, l'évaluation de l'effort de reproduction est rendue difficile par l'absence de séparation nette entre les gonades et le reste de la masse viscérale, ainsi que par la présence, au sein de la gonade, de tissus de réserves (Lucas, 1980; 1982a).

## 1.3. Développement larvaire et recrutement

---

### 1.3.1. De la vie pélagique à la vie benthique

Les huîtres ont un **cycle de vie benthopélagique** caractérisé par une **phase larvaire planctonique** et une **phase adulte sédentaire**. Les stades larvaires sont définis d'après leurs caractères morpho-anatomiques et les dimensions de leur coquille (Stafford, 1909; Rees, 1950; Le Pennec, 1978; His, 1991). Après fécondation, le zygote diploïde se divise et devient, après quelques heures, une **larve trochophore** ciliée et mobile qui persiste 1 à 2 jours dans le milieu. La larve trochophore se métamorphose en une **larve véligère** de type D (57 – 105  $\mu\text{m}$ ) qui sécrète une coquille larvaire et développe un vélum (Figure 11A). Le vélum est un organe cilié en forme de cloche que la larve utilise pour se déplacer en nageant et pour capturer les particules nutritives en suspension. Lorsqu'un crochet, ou umbo, se forme au niveau de la charnière, la larve véligère est dite « umbonée » (105 – 260  $\mu\text{m}$ ) (Figure 11B). Le stade suivant correspond à une larve véligère « œillée » (260 – 280  $\mu\text{m}$ ) chez laquelle se développe une paire de taches oculaires sombres qui sont visibles par transparence au travers de la coquille et seraient sensibles à la lumière (Nelson, 1926). La larve d'huître atteint le stade « pédivéligère » (280 – 300  $\mu\text{m}$ ) lorsqu'elle développe un pied temporaire (Prieur, 1971). Durant cette période, la larve se rapproche du substrat et rampe à sa surface afin de sélectionner un emplacement favorable où elle se fixera (Waller, 1981). La larve pédivéligère sécrète, au niveau du pied, un ciment organique qu'elle utilise pour coller sa valve gauche sur le substrat sélectionné (Andrews, 1979). Ce ciment sèche en quelques minutes, puis la larve subit une métamorphose, durant laquelle se développent les branchies et les palpes labiaux, tandis que le vélum, le pied et le muscle adducteur antérieur régressent (Waller, 1981; Burke, 1983; Cannuel et Beninger, 2006). La larve fixée et métamorphosée, dite « plantigrade » ou **naissain**, sécrète alors sa coquille définitive (Figure 11C et D).



**Figure 11.** Larves pélagiques et naissains de *Crassostrea gigas* en baie de Bourgneuf. A: Larve-D dans un échantillon de plancton; B: Larve umbonée dans un échantillon de plancton; C: Naissains fixés sur un collecteur artificiel; D: Collecteurs artificiels de naissains installés, en baie de Bourgneuf, sur des tables ostréicoles à 60 cm au-dessus du sédiment.

### 1.3.2. Endotrophie, mixotrophie et exotrophie

Le développement des jeunes larves commence par une **phase endotrophe**, durant laquelle l'apport d'énergie dépend du catabolisme des réserves ovocytaires (Bartlett, 1979; Lucas *et al.*, 1986; Whyte *et al.*, 1987; 1990; 1992; Lee et Hefferman, 1991; Delaunay *et al.*, 1992; Videla *et al.*, 1998; Jonsson *et al.*, 1999; Labarta *et al.*, 1999; Garcia Esquivel *et al.*, 2001; Cannuel et Beninger, 2005). Après quelques jours, le système digestif des larves-D devient progressivement fonctionnel et leur permet d'utiliser l'énergie issue des particules alimentaires capturées au niveau du vélum, puis ingérées. Durant cette **phase mixotrophe** de transition, les larves continuent néanmoins à utiliser les réserves ovocytaires jusqu'à huit jours

après la fécondation (Lucas *et al.*, 1986). La **phase exotrophe** définitive, qui se poursuit à l'état adulte, correspond à une fourniture d'énergie basée uniquement sur l'alimentation suspensivore (Gerdes, 1983).

### 1.3.3. Dispersion, survie larvaire et recrutement des juvéniles

Chez les huîtres, les stades larvaires libres présentent plusieurs avantages vis-à-vis des adultes benthiques, qui sont fixés de façon définitive à un substrat. Le mouvement des masses d'eau littorales peut favoriser la **dispersion des larves planctoniques** vers de nouveaux habitats, réduisant ainsi les risques de compétition trophique avec les géniteurs et de croisements avec des individus de la même lignée (Strathmann, 1974; Vermeij, 1978; Jablonski et Lutz, 1983; Jackson, 1986; Havenhand, 1995; Shanks, 1995; Pusey et Wolf, 1996; Pechenik, 1999). Étant dépendantes des mouvements d'eau, les larves planctoniques peuvent également être transportées dans des habitats inhospitaliers et sont également vulnérables vis-à-vis des prédateurs pélagiques et benthiques, notamment lorsqu'elles se rapprochent du substrat avant de se fixer (Strathmann, 1986; Rumrill, 1990). La larviphagie, intra- et interspécifique, a été observée chez certains Bivalves suspensivores, tels que *C. gigas* et *Mytilus edulis* (Lehane et Davenport, 2004; Troost *et al.*, 2008a; 2008b). Le **taux de mortalité des larves planctoniques** est corrélé à la durée de la vie larvaire, qui est elle-même dépendante des conditions environnementales. La température de l'eau, la salinité et la ressource trophique sont les principaux facteurs influant sur le développement et la croissance larvaires (Bayne, 1965; Walne, 1974; Andrews, 1979; Sastry, 1979; Gouilletquer *et al.*, 1994; Powell *et al.*, 2002; Rico-Villa *et al.*, 2006; 2009). Les larves de *C. gigas* tolèrent une gamme de température entre 17 et 32°C, avec des conditions optimales de développement et de croissance au-dessus de 20-22°C (Seno *et al.*, 1926; Gerdes, 1983; Arakawa, 1990; His et Seaman, 1992; Shatkin *et al.*, 1997; Powell *et al.*, 2002; Hofmann *et al.*, 2004; Rico-Villa *et al.*, 2009). Le **recrutement** de nouveaux individus correspond au nombre de juvéniles survivant au-delà d'une période de temps définie après la fixation et la métamorphose (Keough et Downes, 1982). Chez les invertébrés marins ayant un cycle de vie benthopélagique, le recrutement détermine la structure des populations benthiques et la continuité des populations (Gosselin et Qian, 1997; Hunt et Scheibling, 1997).

## 1.4. Introduction et élevage de *Crassostrea gigas* en France

---

### 1.4.1. Des huîtres exotiques au secours de l'ostréiculture

En France, les huîtres constituent depuis longtemps une ressource alimentaire pour les populations humaines vivant près des littoraux. Des travaux archéologiques, réalisés dans le sud de la Bretagne, ont montré que l'huître plate européenne, *Ostrea edulis*, était consommée en quantités importantes par des populations humaines mésolithiques, il y a environ 7 000 ans (Dupont et Gruet, 2005). Durant l'Antiquité, cette espèce autochtone était également très appréciée par les Romains qui construisaient, sur les côtes françaises, des bassins de stockage et de tri des huîtres, dont certaines étaient destinées à l'exportation (Neveu et Bretaudeau, 2001). Cependant, ce n'est qu'à partir du 17<sup>ème</sup> siècle que l'on peut réellement parler d'ostréiculture en France avec la collecte de naissains sauvages d'huîtres plates mis individuellement à croître dans d'anciens marais salants, ou « claires », de la côte Atlantique (Héral, 1989; Héral et Deslous-Paoli, 1991; Goulletquer et Héral, 1997).

L'intensification de la collecte de *O. edulis* a progressivement entraîné une chute démographique des populations sauvages d'huîtres plates dans leurs aires de recrutement naturel (Diaz-Almela *et al.*, 2004). Pour pallier au déficit économique engendré par la diminution du stock de *O. edulis*, l'huître creuse, *Crassostrea angulata* a été importée du Portugal et introduite sur les côtes françaises en 1860 (Héral, 1989). En un siècle, la production de cette espèce est devenue trois fois plus importante que celle de *O. edulis*, jusqu'à ce que des mortalités massives, causées par la « maladie des branchies », entre 1970 et 1973, déciment presque entièrement les populations de *C. angulata* (Comps, 1978). C'est à cette période que l'huître creuse du Pacifique, *C. gigas*, connue pour son taux de croissance élevé et sa grande tolérance aux variations environnementales (eurythermie et euryhalinité) (Coleman, 1986; Smith *et al.*, 1986; Grizel, 1996), a été introduite en France. Cette introduction s'est déroulée en deux phases avec, dans un premier temps, des huîtres adultes importées de Colombie Britannique (Canada) en grandes quantités et réparties dans les bassins ostréicoles français, puis, dans un deuxième temps, des naissains importés du Japon (Gruet *et al.*, 1976; Grizel et Héral, 1991). Bien que des différences morphologiques (Batista *et al.*, 2008), physiologiques (Haure *et al.*, 2003; Batista *et al.*, 2007; Soletchnik, 2008) et

génétiques (O’Foighil *et al.*, 1998; Huvet *et al.*, 2000; Leitão *et al.*, 2007) aient été mises en évidence entre ces deux taxons, l’origine géographique, la proximité génétique et la production d’hybrides fertiles suggèrent que *C. angulata* pourrait être une variété de *C. gigas* (Menzel, 1974; Boudry *et al.*, 1998; Huvet *et al.*, 2004). A la fin des années 1970, une nouvelle vague d’infections, causée par deux protozoaires parasites, *Marteilia refringens* et *Bonamia ostreae*, a décimé les populations autochtones d’huîtres plates mais a peu affecté *C. gigas*, qui est ainsi devenue l’espèce dominante de l’ostréiculture française.

#### **1.4.2. La production ostréicole en France**

Avec une production commerciale comprise entre 110 000 et 130 000 tonnes par an, la France est actuellement le premier pays producteur d’huîtres en Europe, et le quatrième au niveau mondial derrière la Chine, le Japon et la Corée (FAO, 2007). *C. gigas* représente 98% de la production française contre seulement 2% pour *O. edulis*. La majorité de la production annuelle est destinée à la consommation nationale, tandis qu’environ 7500 tonnes d’huîtres sont exportées vers d’autres pays de l’Union Européenne (CNC, 2006). En 2000, les huîtres cultivées provenaient à 85% du recrutement naturel de naissains sur le littoral atlantique sud correspondant à l’estuaire de la Gironde et aux baies d’Arcachon et de Marennes-Oléron, tandis que les 15% restant étaient produits en écloserie (Goulletquer et Héral, 1991; Robert et Gérard, 1999; Agreste, 2001). Cependant, aujourd’hui, certains professionnels estiment que le naissain issu d’écloserie pourrait représenter 40 à 50% de l’approvisionnement en huîtres cultivées (Toulhoat, 2008).

Dans le nord et sur la façade Atlantique de la France, les « huîtres de pleine mer » sont élevées dans des parcs ostréicoles concédés sur le Domaine Public Maritime, soit « à plat », c’est-à-dire posées individuellement sur l’estran, soit dans des poches ajourées en plastique afin de faciliter leur manipulation et de les protéger contre les prédateurs (Figure 12). Sur le littoral méditerranéen, les naissains d’huîtres sont collés sur des cordes synthétiques suspendues dans les lagunes (Gangnery, 2003). Les huîtres adultes sont commercialisables, après deux à quatre années de croissance suivant les conditions environnementales, lorsqu’elles atteignent une masse totale minimum de 30 g.



**Figure 12.** Parcs ostréicoles sur le site de La Coupelasse, en baie de Bourgneuf. Émersion des huîtres (*Crassostrea gigas*) cultivées dans des poches ostréicoles en période de marée basse.

#### 1.4.3. Mortalités estivales et prolifération de *Crassostrea gigas*

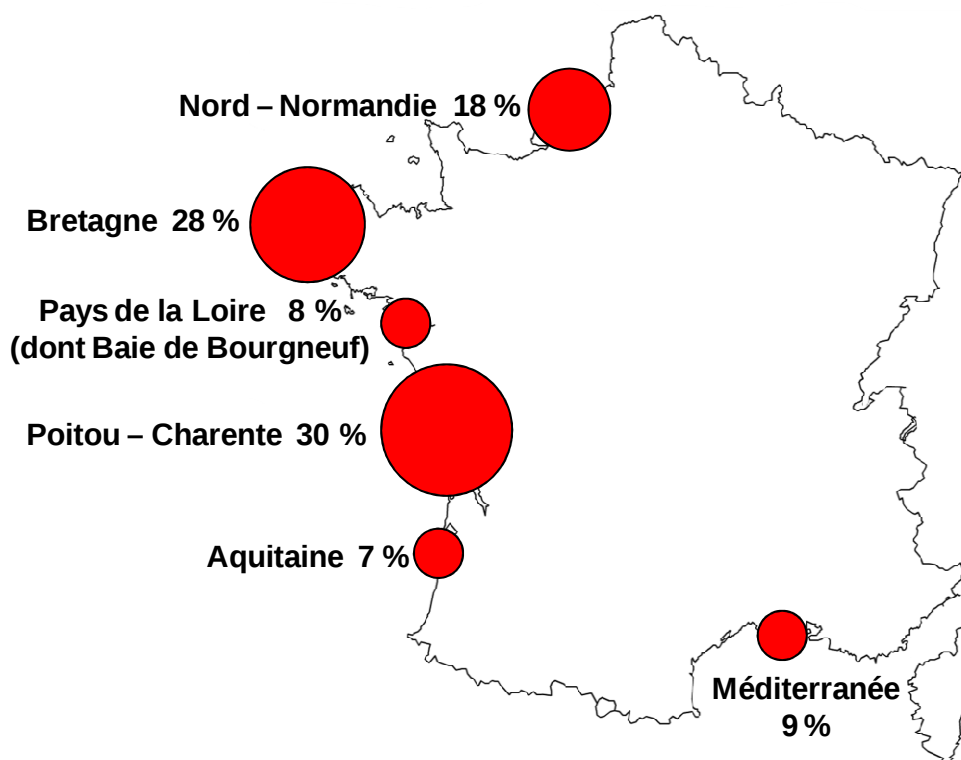
Depuis les années 1940, des mortalités estivales massives de *C. gigas*, touchant plus de 30% des stocks cultivés, ont été observés dans plusieurs régions du monde, notamment au Japon et sur la côte ouest des États-Unis (Mackin, 1961; Imai *et al.*, 1965; Glude, 1975; Beattie *et al.*, 1980; Farley, 1992; Cheney *et al.*, 2000). En France, les premières mentions de ces phénomènes datent des années 1980, avec notamment un taux de mortalité de 90% en 1988 dans le bassin de Marennes-Oléron (Maurer et Comps, 1986; Bodoy *et al.*, 1990; Renault *et al.*, 1994; Goulletquer *et al.*, 1998; Soletchnik *et al.*, 1999). Les mortalités estivales massives, qui affectent aussi bien les adultes que les juvéniles de *C. gigas* (Cheney *et al.*, 2000; Fleury *et al.*, 2001), ne présentent pas de symptômes caractéristiques et semblent être la conséquence d'une combinaison de facteurs environnementaux (pathogènes, micro-algues toxiques ou événements climatiques exceptionnels) et de facteurs biologiques intrinsèques (Mackin, 1961; Beattie *et al.*, 1980; Ventilla, 1984; Farley, 1992; Renault *et al.*, 1994; Fleury *et al.*, 2001; Dégremont *et al.*, 2007). Il a notamment été suggéré que les mortalités estivales

d'adultes, qui se produisent lorsque la maturation des gonades de *C. gigas* est maximale (Imaï *et al.*, 1965; Perdue *et al.*, 1981), étaient liées à des stress physiologiques, consécutifs à l'allocation d'une grande quantité d'énergie vers la reproduction (Goulletquer *et al.*, 1998; Berthelin *et al.*, 2000; Ernande *et al.*, 2004; Soletchnik *et al.*, 2006; Delaporte *et al.*, 2007). Ainsi, l'intensification de la reproduction des huîtres cultivées, mise en évidence par des recrutements massifs et réguliers d'huîtres férales, pourrait contribuer à une augmentation des phénomènes de mortalités estivales de *C. gigas* dans les régions ostréicoles françaises. Il semble également qu'une variabilité génétique plus faible des individus produits en éclosure, par rapport à ceux issus de recrutements naturels et soumis à une pression de sélection importante, pourrait être à l'origine des mortalités estivales d'huîtres (Dégremont *et al.*, 2007). Dans ce cas, l'utilisation de naissains féraux pour la production ostréicole permettrait d'améliorer la résistance génétique des stocks d'huîtres cultivées vis-à-vis des mortalités estivales. Cette solution a notamment été envisagée lors des surmortalités de juvéniles cultivés de *C. gigas* survenues en été 2008, et qui semblent se répéter en 2009 (IFREMER, 2009).

#### 1.4.4. Huîtres férales et huîtres cultivées en baie de Bourgneuf

La récente invasion de *C. gigas* est particulièrement bien visible sur le littoral atlantique français où les recrutements naturels, qui auparavant se produisaient principalement sur la côte atlantique sud, entraînent à présent la prolifération d'huîtres férales sur la côte atlantique nord. La limite entre ces deux aires géographiques se situe juste au sud d'un bassin ostréicole de 340 km<sup>2</sup> récemment envahi par des huîtres férales : **la baie de Bourgneuf**. L'ostréiculture, répartie sur un dixième des 10 000 ha d'estran, est la principale ressource économique de cette baie. Cependant, avec une production annuelle d'environ 10 000 t pour un stock de 48 000 t d'huîtres cultivées, cette région, correspondant au 5<sup>ème</sup> bassin ostréicole français (Figure 13), présente des rendements ostréicoles relativement faibles en relation avec un allongement de la durée de croissance des huîtres (Haure et Baud, 1995; Fleury *et al.*, 2003). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène comme, par exemple, une mauvaise qualité de la nourriture due à la forte turbidité des eaux ou un dépassement de la capacité trophique de l'écosystème lié à une augmentation des densités d'huîtres en élevage (Haure et Baud, 1995). La prolifération de compétiteurs trophiques potentiels comme les moules, les crépidules et les huîtres férales est également susceptible d'influencer les

rendements de production ostréicole. En baie de Bourgneuf, bien que les stocks de moules, *Mytilus edulis*, variant de 6 000 à 40 000 t suivant les années (Baud et Haure, 1988), aient une influence négative sur la croissance des huîtres d'élevage lorsqu'ils dépassent les 20 000 t d'individus, les rendements de production ostréicole restent malgré tout faibles lorsque ce seuil n'est pas atteint. Les stocks de crépidules, *Crepidula fornicata*, ont été estimés à 5 000 t en zone intertidale et à 50 000 t en zone subtidale. Bien que l'éradication de cette espèce puisse améliorer de façon significative le rendement des élevages ostréicoles, notamment dans le bassin de Marennes-Oléron, il semble que la compétition trophique entre les huîtres et les crépidules soit limitée aux périodes hivernale et printanière (de Montaudouin *et al.*, 1999; Riera *et al.*, 2002; Decottignies *et al.*, 2007). Du fait de leur appartenance à la même espèce et de leur cohabitation quasi systématique, les huîtres férales, estimées à environ 28 000 t d'individus en baie de Bourgneuf, semblent être les plus à même d'entrer en compétition avec les huîtres cultivées pour la ressource trophique (Figure 14; Cognie *et al.*, 2004; 2006; Martin *et al.*, 2004; 2005). Le nettoyage des installations ostréicoles colonisées par les huîtres férales représente également un surplus de travail pour les ostréiculteurs.



**Figure 13.** Répartition de la production ostréicole de *Crassostrea gigas* sur le littoral français (IFREMER, 2009).



**Figure 14.** Invasion de *Crassostrea gigas* en baie de Bourgneuf (site de la Coupelasse). A : Récif d'huîtres férales au milieu de parcs ostréicoles. B : Installation d'huîtres férales au milieu de tables ostréicoles abandonnées.



## **CHAPITRE 2 :**

# **FLEXIBILITÉ DE L'ALIMENTATION PRÉ-INGESTIVE EN RELATION AVEC LA TAILLE DES ORGANES PALLÉAUX CHEZ DES POPULATIONS FÉRALES DE *CRASSOSTREA GIGAS***



## 2.1. Contexte des travaux

---

Les organismes inféodés aux écosystèmes côtiers et estuariens sont soumis aux fortes variations des conditions environnementales induites par l'action de la marée et/ou du vent (Mann, 1982). Ces variations concernent notamment la qualité et la quantité des matières en suspension (MES), constituées par un mélange de particules organiques d'origines diverses (zooplancton, phytoplancton, microphytobenthos, détritus, protozoaires, bactéries) et de particules inorganiques de tailles variables (Newell, 1965; Lopez et Levinton, 1987), et affectent particulièrement les Bivalves suspensivores (Berg et Newell, 1986; Fegley *et al.*, 1992), présents en populations importantes dans les zones littorales.

Chez de nombreuses espèces de Bivalves, des études menées en laboratoire ont permis de mettre en évidence des variations du taux de filtration et de l'efficacité de la sélection pré-ingestive des particules en relation avec la quantité et la qualité des MES (Bayne *et al.*, 1987; Navarro *et al.*, 1992; Hawkins *et al.*, 1996; Iglesias *et al.*, 1996; Barillé *et al.*, 1997; Navarro et Widdows, 1997; Beninger *et al.*, 2007; 2008; Decottignies *et al.*, 2007; Dutertre *et al.*, 2007). Ces ajustements permettent aux individus de tolérer les variations de turbidité dans une gamme spécifique de concentrations en MES, limitée par des seuils physiologiques d'activation ou de cessation des mécanismes de traitement pré-ingestif des particules. Concernant l'huître creuse *Crassostrea gigas*, des expériences menées avec des individus élevés à Marennes-Oléron ont mis en évidence un taux maximal de filtration pour une concentration en MES de l'ordre de 90 mg.l<sup>-1</sup>, et une cessation des activités de sélection pré-ingestive et de filtration lorsque cette concentration atteignait respectivement 150 mg.l<sup>-1</sup> et 192 mg.l<sup>-1</sup> (Barillé *et al.*, 1997b). De plus, une diminution de l'efficacité de la sélection pré-ingestive de *C. gigas* a été observée lorsque la concentration en MES était supérieure à 25 mg.l<sup>-1</sup> (Pastoureaud *et al.*, 1996). Cependant, cette espèce semble capable de prospérer dans des zones côtières ou estuariennes présentant des concentrations en MES supérieures au seuil de cessation de la filtration (Barillé *et al.*, 2000; Cognie *et al.* 2006; Dutertre *et al.*, en révision).

Des observations réalisées chez plusieurs espèces de Bivalves marins et dulçaquicoles, ont mis une évidence des variations inter- et intra-spécifiques de la taille des organes palléaux en relation avec les conditions de turbidité (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Mettam, 1993; Payne *et al.*, 1995a, 1995b; Barillé *et al.*, 2000; Honkoop *et al.* 2003; Drent *et al.*, 2004;

Compton *et al.*, 2008). Ainsi, lorsque la concentration en MES augmente, les palpes deviennent plus larges tandis que la surface branchiale décroît. L'existence de relations entre les tailles des organes palléaux et le traitement pré-ingestif des particules a été mise en évidence par la corrélation entre le taux de filtration et la surface branchiale de plusieurs espèces de Bivalves (Franz, 1993; Pouvreau *et al.*, 1999), et l'observation, chez le Bivalve homorhabdite *Mytilus edulis*, d'une augmentation de l'efficacité de la sélection pré-ingestive en relation avec des palpes labiaux plus grands (Kjørboe et Mølhenberg, 1981). Cependant, ces relations n'ont jamais été considérées dans le cadre du traitement intégré des particules entre les branchies et les palpes labiaux, notamment chez les Bivalves hétérorhabdites, et les variations morpho-anatomiques des organes palléaux en fonction des conditions de turbidité n'ont pas été clairement établies chez l'huître *Crassostrea gigas* (Barillé *et al.*, 2000; Honkoop *et al.*, 2003).

Dans le but de comprendre la capacité des populations fécales de *Crassostrea gigas* à proliférer dans les écosystèmes côtiers caractérisés par de fortes concentrations en MES, l'influence des tailles des branchies et des palpes labiaux sur le traitement pré-ingestif des particules a été étudié *in vivo* en laboratoire, tandis que les variations des tailles de ces organes palléaux ont été mesurées *in situ* en relation avec les variations spatiales et temporelles des conditions de turbidité. Les tailles des branchies et des palpes labiaux ont été déterminées à partir d'analyses d'images numériques en prenant uniquement en compte les surfaces de traitement des particules.

## **2.2. Réponses fonctionnelles associées aux variations des organes palléaux chez l'huître creuse *Crassostrea gigas***

---

D'après un article soumis le 6 février 2007, accepté le 14 juillet 2007

**Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 352:139-151**

### **Functional responses associated with pallial organ variations in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793)**

**Mickaël Dutertre, Laurent Barillé, Joël Haure, Bruno Cognie**

#### **2.2.1. Abstract**

The plasticity and function of the pallial organs were studied in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* from three sites of Bourgneuf Bay (French Atlantic coast, 46-47°N, 1-2°W) characterized by different turbidity conditions. Labial palp area was closely and positively related to the turbidity gradient. No clear pattern was established between the gill area and the gradient of suspended particulate matter (SPM). The functional responses induced by these morphological variations were investigated in the laboratory by means of ecophysiological experiments and endoscopic observations. Oysters with different pallial organ areas were supplied with mixed suspensions of heat-killed *Tetraselmis suecica* and living *Skeletonema costatum* added to different concentrations of kaolinite to simulate low ( $\text{SPM} = 8.5 \pm 0.4 \text{ mg.l}^{-1}$ ) and high ( $\text{SPM} = 48.3 \pm 1.4 \text{ mg.l}^{-1}$ ) turbidity conditions. At each SPM concentration, heat-killed *T. suecica* were preferentially rejected in pseudofaeces compared to *S. costatum*, indicating a preingestive particle selection. At low seston load, clearance rate (CR) was closely and positively related to gill area and particle selection occurred only on the gills, between the ventral grooves and dorsal tracts. At higher seston load, palps exhibited a particle-sorting capacity dependent on gill area. Indeed, with small gills, an increase in selection efficiency (SE) and CR was positively related to palp area. On the other hand, large

gills processed the particles without an effect of palps but with a decrease in CR. The functional responses associated with pallial organ variations clearly showed that the preingestive particle processing in oysters is an integrated mechanism dependant on the gill and labial palp areas.

### 2.2.2. Résumé

La plasticité et la fonction des organes palléaux ont été étudiées chez l'huître du Pacifique, *Crassostrea gigas*, à partir d'individus collectés dans trois sites de la baie de Bourgneuf (côte atlantique française, 46-47°N, 1-2°O), caractérisés par des conditions différentes de turbidités. La taille de la surface des palpes labiaux augmente en suivant le gradient croissant de turbidité. En revanche, aucune relation claire n'a pu être établie entre la taille des branchies et la concentration en matières en suspension (MES). Les réponses fonctionnelles associées à ces variations morphologiques ont été mise en évidence au moyen d'expériences écophysiologiques et d'observations endoscopiques réalisées en laboratoire. Des huîtres, possédant des organes palléaux de tailles différentes, ont été alimentées avec des suspensions microalgales mixtes de *Tetraselmis suecica* thermo-dégradées et *Skeletonema costatum* vivantes, auxquelles ont été ajoutées différentes concentrations de kaolinite afin de simuler de faibles ( $MES = 8.5 \pm 0.4 \text{ mg.l}^{-1}$ ) et de fortes ( $MES = 48.3 \pm 1.4 \text{ mg.l}^{-1}$ ) conditions de turbidité. Pour chaque condition, une sélection pré-ingestive a été mise en évidence par le rejet préférentiel des cellules thermodégradées de *T. suecica* dans les pseudofèces, par rapport à *S. costatum*. Avec une faible charge sestonique, la filtration était dépendante de la taille de la surface branchiale et la sélection des particules s'effectuait uniquement sur les branchies, entre les gouttières ventrales et les sillons dorsaux. Avec une forte charge sestonique, les palpes montraient une capacité de sélection des particules, dépendante de la surface branchiale. En effet, chez les individus possédant de petites branchies, l'efficacité de sélection et la filtration des particules étaient liées à la taille des palpes. En revanche, de larges branchies permettaient de traiter les particules sans effet notable des palpes, mais avec une diminution de la filtration. Les réponses fonctionnelles associées aux variations des organes palléaux montrent clairement que le traitement pré-ingestif des particules chez les huîtres est un mécanisme dépendant de la taille des branchies et de celle des palpes labiaux.

### 2.2.3. Introduction

In marine and freshwater ecosystems, the trophic activity of suspension-feeding bivalves participates to the seston and biosediment dynamics (Kautsky and Evans, 1987; Prins *et al.*, 1991; Strayer *et al.*, 1999). These organisms capture and process particles on their pallial organs before ingestion (e.g. Newell and Jordan, 1983; Shumway *et al.*, 1985; Prins *et al.*, 1991). Early anatomical studies (Yonge, 1926; Atkins, 1937; Nelson, 1960) and the recent development of *in vivo* endoscopic observations (Ward *et al.*, 1991; Beninger *et al.*, 1992; Ward *et al.*, 1993; Ward, 1996; Beninger and St-Jean, 1997) have established that these operations are mainly performed by the gills and the labial palps. The structure, ciliation and mucocyte distribution of the gills are responsible for the retention efficiency (RE) of particles and for the clearance rate (CR), which is the volume of water completely cleared of particles per unit of time. The palps and their complex ciliated tracts have long been considered the main organs of preingestive particle selection (Nelson, 1960; Galtsoff, 1964; Jørgensen, 1966; Kiørboe and Mølhenberg, 1981), resulting in the enrichment in the quality of ingested material by preferential rejection of low nutritional particles in pseudofaeces (PF). However, gills with a plicated heterorhabdic structure, as in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*, have initial particle acceptance (dorsal tract, DT) and rejection (ventral groove, VG) tracts, allowing a first stage of sorting before transfer to the labial palps (Atkins, 1937; Barillé, 1994; Beninger and St-Jean, 1997; Ward *et al.*, 1998; Beninger *et al.*, 2004). Preingestive selection efficiency (SE) has been related to the size (Yonge, 1926; Atkins, 1937; Foster-Smith, 1975; Defosse and Hawkins, 1996), morphology (Hughes, 1975; Bougrier *et al.*, 1997), nutritive value (Kiørboe and Mølhenberg, 1981; Pastoureaud *et al.*, 1996; Barillé *et al.*, 1997; Ward *et al.*, 1998) or chemical properties (Loosanoff and Engle, 1947; Ward *et al.*, 1992; Cognie *et al.*, 2003; Beninger *et al.*, 2004) of the particles but the mechanism of particle sorting in bivalves has not been fully elucidated (Ward and Shumway, 2004).

Many bivalve species live in estuarine and coastal waters where the resuspension of sediment by tidal action involves significant variations in seston loads and a dilution of organic particles. In a highly turbid environment, bivalves tune their feeding mechanisms to different levels, maintaining a positive energetic balance between the cost of particle processing and the gain from food intake. Adjustments in RE and CR at the gill level avoid the saturation of pallial processing structures by an overload of particulate matter (Bayne *et al.*, 1987; Navarro *et al.*, 1992; Hawkins *et al.*, 1996; Iglesias *et al.*, 1996; Urrutia *et al.*, 1996; Barillé *et al.*, 1997; Navarro and Widdows, 1997). Variations in preingestive SE maximize the

food intake *via* pseudofaeces production, which also regulates the volume of ingested material (Kiørboe and Møhlenberg, 1981; Barillé *et al.*, 1997; Navarro and Widdows, 1997; Hawkins *et al.*, 1998; Velasco and Navarro, 2002). Nevertheless, the contribution of the pallial organs to the feeding mechanisms has seldom been considered as an integrated process (Foster-Smith, 1975, 1978; Milke and Ward, 2003; Ward *et al.*, 2003).

The ability of organisms to acclimate to variations in food availability has recently been related to the morphological plasticity of their foraging apparatus (Piersma and Lindström, 1997; Piersma and Drent, 2003). In suspension-feeding bivalves, relationships have been established between the natural turbidity and the size of gills and palps, showing the morphological flexibility of these pallial organs (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Mettam, 1993; Payne *et al.*, 1995a, 1995b; Barillé *et al.*, 2000). Reciprocal transplantations have shown the phenotypic basis of this morphological plasticity, which tends to induce smaller gills and larger labial palps at turbid sites. Kiørboe and Møhlenberg (1981) noted a relationship between palp size and SE in mussels from ecosystems with different turbidity but the role of pallial organ size variation in SE has never been considered in bivalves with heterorhabdic gills, where both gills and palps are preingestive selection sites (Beninger *et al.*, 2004).

Bourgneuf Bay, situated on the French Atlantic coast, is an important area of *C. gigas* production characterized by a marked gradient of turbidity over a relatively small area (Haure and Baud 1995) where wild oysters proliferate (Cognie *et al.*, 2006). Current research on the pallial organs of *C. gigas* has demonstrated their phenotypic plasticity (Barillé *et al.*, 2000; Honkoop *et al.*, 2003) and their role in the sorting process according to the food quality (Ward *et al.*, 1998; Cognie *et al.*, 2003). Therefore, it will be interesting to determine the contribution of pallial organ variations in the ability of *C. gigas* to withstand high seston loads (Nelson, 1960; Mathers, 1974; Barillé *et al.*, 1993, 1997).

The present study investigated the functional consequences of gill and labial palp variations in wild oysters, *Crassostrea gigas*, from areas in Bourgneuf Bay with different levels of turbidity. Experimental conditions, obtained by mixing two species of microalgae and kaolinite particles, were used to measure oyster preingestive responses (CR, SE) and to detail *in vivo* the extent of participation of the particle selection sites under varying inorganic particulate loads using video-endoscopy.

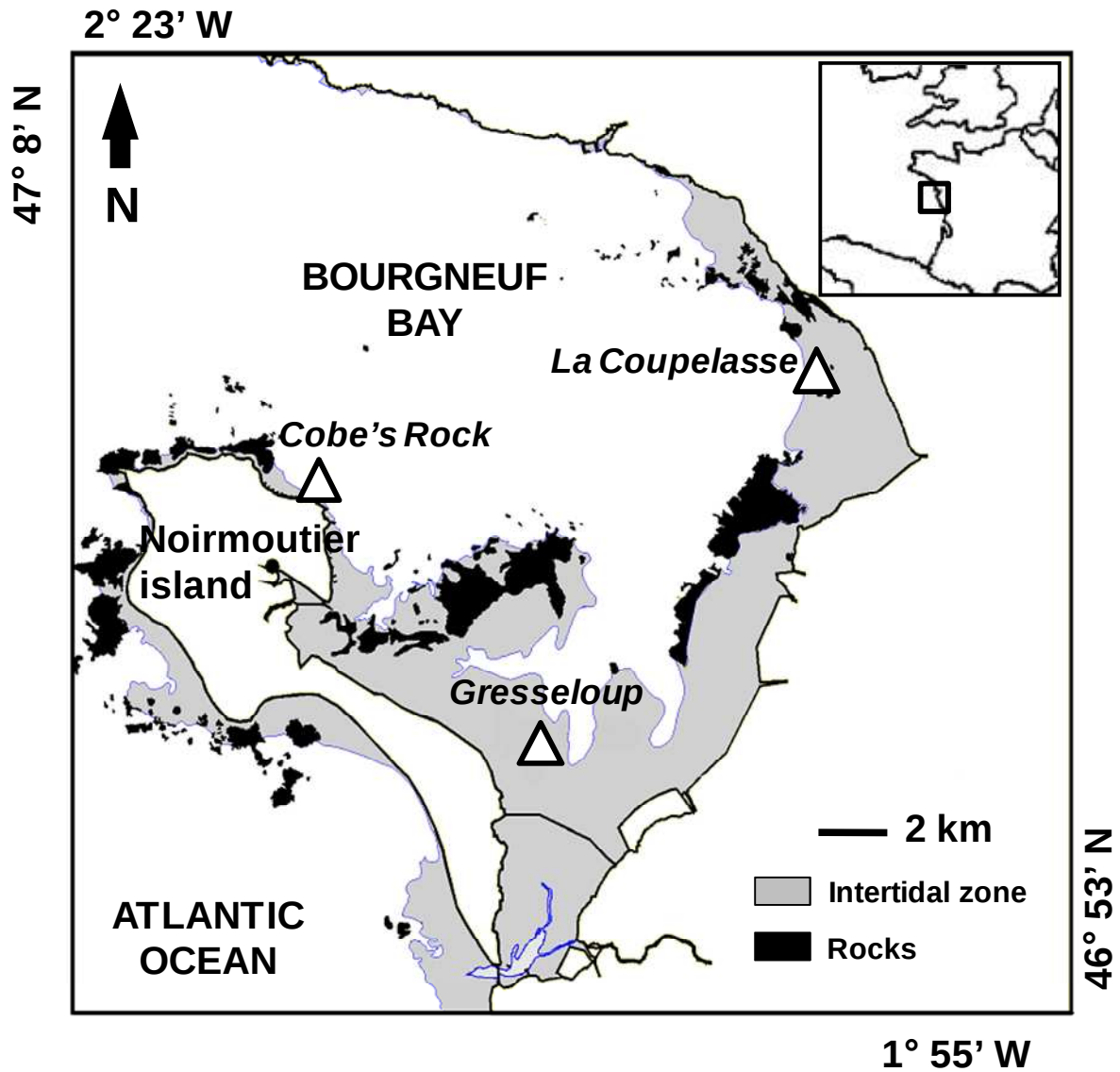
## 2.2.4. Materials and methods

### 2.2.4.1. Specimen sampling and maintenance

The Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, used in this study were wild individuals from Bourgneuf Bay on the French Atlantic coast (46-47°N, 1-2°W) (Figure 15).

According to a north-south decreasing gradient of turbidity (Haure and Baud, 1995), three different sites were chosen to collect oysters: (1) La Coupelasse (47° 1' 34.7''N, 2° 1' 55.9''W), a northern site characterized by a high turbidity (HT), is an area in which *C. gigas* is farmed on a mudflat and where particles below 44 µm represent 44 % of the total weight of the sediment, (2) Gresseloup (46° 57' 2.6''N, 2° 7' 53.4''W), a southern site with an intermediate turbidity (IT), is a sandy-muddy sea-farming area where the particle size fraction below 44 µm represents less than 10 % of the total weight of the sediment, (3) Cobe's Rock (47° 1' 10.0''N, 2° 13' 35.3''W), a western site at the entrance of the bay with a low turbidity (LT), is the most oceanic location characterized by rocky areas and sandy sediment. For HT and IT sites, Haure and Baud (1995) have determined an annual mean suspended particulate matter (SPM) concentration of 154 mg.l<sup>-1</sup> and 34 mg.l<sup>-1</sup> respectively, and an annual mean concentration of chlorophyll-*a* of 12.0 µg.l<sup>-1</sup> and 4.4 µg.l<sup>-1</sup> respectively. Data from a nearby south station of LT showed an annual mean SPM concentration of 24 mg.l<sup>-1</sup> and an annual mean chlorophyll-*a* concentration of 1.8 µg.l<sup>-1</sup> (Quadrige database, IFREMER).

Within each site, only wild oysters attached to the substratum were collected to obtain specimens that had grown *in situ*. Individuals were cleaned of their epibionts and stored in oxygenated filtered (Millipore 0.2 µm) seawater for a week. From each of the three turbid sites, 32 oysters were collected in March 2005 to measure the functional responses (CR and SE) and 10 oysters were collected in May 2006 to localize particle selection sites.



**Figure 15.** Oyster sampling sites (Δ) in Bourgneuf Bay.

**Figure 15.** Sites de prélèvements des huîtres dans la baie de Bourgneuf.

#### 2.2.4.2. Biometric measurements

Shell length, corresponding to the largest shell axis, was measured to the nearest 0.1 mm with a caliper. Gill and labial palp sizes were estimated by the areas of the outer right gill lamella and the outer right palp respectively. Pallial organs were dissected and recorded by digital photographs (Nikon Coolpix 995). These photographs were analyzed with the image analysis software LUCIA G 4.80 (Image Analysis Systems) to delineate organ outlines and

calculate their areas (cm<sup>2</sup>). Then, all soft parts of oysters were dried at 60 °C for 48 h to obtain individual dry tissue mass (DTM) (g). Anatomical orientation terminology used herein refers to the mouth (anterior) and anus (posterior) axis, rather than to the shell hinge, since this system is much more comprehensible with respect to feeding processes.

#### 2.2.4.3. Microalgal cultures

Two species (Figure 16) of microalgae, isolated from Bourgneuf Bay water samples, were cultivated in the laboratory in underground salt water mixed with F/2 medium (Guillard, 1982) and kept in the algal collection of the Laboratoire de Biologie Marine (Faculté des Sciences et des Techniques, University of Nantes). Preliminary studies showed that the Prasinophyceae *Tetraselmis suecica* (n = 30, length =  $14.38 \pm 1.01$  SD  $\mu\text{m}$ , width =  $7.77 \pm 0.80$  SD  $\mu\text{m}$ ) heat-killed at 100 °C for 1 h was preferentially rejected by oysters compared to the Bacillariophyceae *Skeletonema costatum* (n = 30, length =  $8.50 \pm 0.93$  SD  $\mu\text{m}$ , width =  $7.41 \pm 0.59$  SD  $\mu\text{m}$ ). The use of a single microalga was not possible because diatoms as *S. costatum* do not withstand heat treatment and, living and heat-killed *T. suecica* are not easily discriminated on a optical microscope. The sizes of heat-killed *T. suecica* and chains of *S. costatum* (four to six cells per chain) ensured a complete retention on oyster gills (Barillé *et al.*, 1993) and were smaller than the critical size threshold for entry into the plical openings of the gills (Cognie *et al.*, 2003).

Diet samples taken during the experiment were fixed in acetic Lugol's solution which stained the microalgae yellow-brown. This staining enabled *S. costatum* and heat-killed *T. suecica* to be easily discriminated from inorganic particles on hematometric counter cells and their concentrations to be estimated (cell.l<sup>-1</sup>).



**Figure 16.** Microalgae used in the experimental diets for *Crassostrea gigas*. (A) *Tetrastelmis suecica*; (B) Heat-killed *T. suecica* (note the loss of the flagellae and the granular aspect of the cytoplasm); (C) Chain of *Skeletonema costatum*.

**Figure 16.** Microalgues utilisées dans les régimes expérimentaux pour *Crassostrea gigas*. (A) *Tetrastelmis suecica*; (B) *T. suecica* thermo-dégradée (perte des flagelles et aspect granuleux du cytoplasme); (C) Chaîne de *Skeletonema costatum*.

#### 2.2.4.4. Experimental diet determinations

Oysters were fed with mixtures of the two microalgae added to different concentrations of kaolinite (BS1, AGS, 17270 Montguyon, France) to simulate natural turbidities. This clay represents up to 30 % of particulate inorganic matter (PIM) in Bourgneuf Bay (Barillé, 1996). The ecophysiological responses measured with a flow-through system were obtained with conditions C1 and C2 while the detailed particle selection on the gill observed with video-endoscopy was obtained with conditions C3 and C4 (Table 1). With each experimental system, equivalent low (C1 – C3) and high (C2 – C4) seston loads were tested.

The loss-on-ignition method was used to determine SPM, PIM, particulate organic matter (POM) and kaolinite clay contents ( $\text{mg.l}^{-1}$ ). Water samples were filtered through precombusted weighed Whatman GF/F filters. Samples were dried at 60 °C for 48 h to obtain dry mass (SPM, g), and then ashed at 450 °C for 4 h to obtain inorganic mass (PIM, g). POM, estimated as ash-free dry mass (AFDM, g), was the difference between SPM and PIM. A correction factor of 11 %, determined by Cognie (2001), was used to avoid overestimation of AFDM due to clay structural water, separating crystal layers of silicates (Barillé-Boyer *et al.*, 2003).

**Table 1.** Experimental conditions for the measurements of functional responses (C1, C2) and for the localization of particle selection sites (C3, C4) in oysters, *Crassostrea gigas*, with different pallial organ areas. POM: particulate organic matter; PIM: particulate inorganic matter; SPM: suspended particulate matter. Microalgal concentrations were estimated on hematometric counter cells (n = 10). SPM concentrations were estimated by sample drying at 60°C for 48 h prior to obtain PIM and POM concentrations by loss-on-ignition (n = 4). Mean values are given with their standard deviation.

**Tableau 1.** Conditions expérimentales pour les mesures des réponses fonctionnelles (C1 et C2) et la localisation des sites de sélection des particules (C3 et C4) chez des huîtres, *Crassostrea gigas*, possédant des organes palléaux de tailles différentes. POM : matière organique particulaire; PIM : matière inorganique particulaire; SPM : matière en suspension. Les concentrations en microalgues ont été estimées à partir de comptages sur des cellules hématimétriques (n = 10). Les concentrations en MES ont été estimées à partir d'échantillons séchés à 60°C pendant 48h, avant de déterminer les concentrations en PIM et POM par la méthode de la perte-au-feu (n = 4). Les valeurs moyennes sont données avec leurs écarts-types.

|           | Heat-killed<br><i>Tetraselmis suecica</i><br>(10 <sup>3</sup> cell.l <sup>-1</sup> ) | <i>Skeletonema</i><br><i>costatum</i><br>(10 <sup>3</sup> cell.l <sup>-1</sup> ) | Kaolinite<br>(mg.l <sup>-1</sup> ) | SPM<br>(mg.l <sup>-1</sup> ) | POM<br>(mg.l <sup>-1</sup> ) | PIM<br>(mg.l <sup>-1</sup> ) |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| <b>C1</b> | 8 560<br>± 750                                                                       | 24 960<br>± 2 600                                                                | 3.6<br>± 0.2                       | 8.5<br>± 0.4                 | 3.6<br>± 0.3                 | 4.9<br>± 0.2                 |
| <b>C2</b> | 11 300<br>± 918                                                                      | 25 850<br>± 2 670                                                                | 43.5<br>± 1.3                      | 48.3<br>± 1.4                | 3.4<br>± 1.3                 | 44.9<br>± 1.3                |
| <b>C3</b> | 11 840<br>± 1 055                                                                    | 28 160<br>± 4 969                                                                | 5.5<br>± 0.8                       | 11.6<br>± 0.2                | 4.6<br>± 0.8                 | 7.1<br>± 1.0                 |
| <b>C4</b> | 11 360<br>± 859                                                                      | 30 721<br>± 3 072                                                                | 36.1<br>± 2.5                      | 45.1<br>± 1.8                | 7.4<br>± 0.1                 | 37.7<br>± 1.9                |

#### 2.2.4.5. Functional response measurements (Conditions C1 and C2)

Oysters were placed in a flow-through system made up of eight chambers (volume = 3.75 l, rectangular shape) containing a living animal and two chambers containing an empty shell to constitute sedimentation controls (the outflow of control chambers was used to represent the inflow of chambers with individual oysters). Within each chamber, water

temperature was maintained at 18 °C and a mean flow rate of 8 l.h<sup>-1</sup> was chosen for the experiment, considering the recommendations of Riisgård (1977) concerning the use of flow-through chambers. Sixteen oysters from each turbid site were fed with the low turbidity condition (C1) the first day and 16 other oysters from each site were tested with the high turbidity condition (C2) the next day.

Using an electronic particle counter (Coulter Multisizer II), the mean individual CR of oysters, calculated as [(inflow – outflow) / inflow] × flow rate, was based on the equivalent spherical diameter (ESD) size range of *S. costatum* (10 – 15 µm). Mean individual CRs were standardized to an oyster of 1 g of DTM using the following equation (Bayne *et al.*, 1987):

$$\text{CR (l.h}^{-1}\text{.g}^{-1}\text{)} = \text{CR (l.h}^{-1}\text{)} \times (1 / \text{DTM (g)})^b$$

with the allometric coefficient  $b = 0.65$  determined for *C. gigas* by Shpigel *et al.* (1992).

After one hour of feeding, PF were removed from each experimental chamber and fixed in acetic Lugol's solution to determine the relative microalgal concentrations on hematometric counter cells. Preingestive selection was calculated using the electivity index (EI) proposed by Ward *et al.* (1998):

$$\text{EI} = (t - w) / [(t + w) - (2tw)]$$

where  $t$  is the proportion of heat-killed *T. suecica* cells in the PF and  $w$  is the proportion of heat-killed *T. suecica* cells in the water. A positive or a negative EI indicates enrichment or depletion, respectively, of heat-killed *T. suecica* cells in the PF compared to the water.

#### 2.2.4.6. Endoscopic localization of particle selection sites (Conditions C3 and C4)

Endoscopic observations were carried out according to the method described by Ward *et al.* (1991). A 4 mm diameter rigid optical insertion tube (OIT) was connected to a video camera (SONY Hyper HAD, CCD-IRIS/RGB). Video images were digitally stored on a computer using a miroVIDEO DC 1000 video card (Pinnacle Systems) and Adobe Premiere 5.0 image software (Adobe Systems).

An aperture was opened in the left shell margin of the oyster one week before experimentation. To localize the particle selection site, each experimental oyster was placed

on a chamber supplied with an experimental diet at a mean flow rate of  $8 \text{ l.h}^{-1}$  and at a water temperature of  $12^{\circ} \text{ C}$ . For each experimental condition, the same 10 oysters from each site were used. The OIT was placed at the entrance of the shell aperture to observe particle movements in the VG and in the DT of the gills. Material from the VG and DT, as well as PF was collected with glass micropipets manually handled (Ward *et al.*, 1998). All samples were fixed in acetic Lugol's solution and the relative microalgal concentrations were estimated on hematometric counter cells. EI was then calculated for each sample (VG, DT, PF) compared to the water.

#### 2.2.4.7. Statistical analysis

Normality and heteroscedasticity of the distributions were checked prior to perform parametric tests. One-way ANOVA and Student-Newman-Keuls (SNK) multiple comparison tests were used to analyze biometric measurements and experimental diet characteristics. For the functional response measurements (C1 and C2), CRs and EIs were compared for each turbidity condition and each pallial organ area with two-way ANOVA followed by SNK-tests. *In vivo* endoscopic determinations (C3 and C4) were tested for oysters from the same geographical location, with one-way ANOVA followed by SNK-tests to analyze EIs within each diet, and with paired t-tests to compare EIs between diets. Sigmastat 3.1 (Systat Software) software was used for all statistical analyses.

### 2.2.5. Results

#### 2.2.5.1. Biometric measurements

In all experimental conditions (C1 to C4), shell lengths (Table 2) were statistically equivalent in oysters from HT and IT sites (SNK-tests,  $p = 0.81$ ) and significantly lower in individuals from the LT site (SNK-tests,  $p < 0.01$ ).

In the experimental conditions C1 and C2, DTM of all oysters (Table 2) were not significantly different between the three sites of different turbidity (one-way ANOVA,  $p = 0.40$ ). The same result was obtained for the experimental conditions C3 and C4 (one-way

ANOVA,  $p = 0.34$ ). DTM was, however, significantly higher in C3 and C4 than in C1 and C2 (SNK-tests,  $p < 0.01$ ). Visual inspection of the gonadal region indicated that oysters collected in May showed a more advanced reproductive stage compared to those collected in March.

Oysters from the same site assigned to different experimental conditions (C1, C2 vs C3, C4) had statistically similar gill areas (one-way ANOVA, LT site,  $p = 0.20$ ; IT site,  $p = 0.38$ ; HT site,  $p = 0.14$ ) and similar labial palp areas (one-way ANOVA, LT site,  $p = 0.30$ ; IT site,  $p = 0.94$ ; HT site,  $p = 0.31$ ). For each experimental condition, gill area was largest in the IT site (SNK-tests,  $p < 0.01$ ) and statistically similar in LT and HT sites (SNK-tests,  $p = 0.27$ ). The largest palp area was found in the most turbid site whereas the smallest palp area was obtained for oysters living in the least turbid site (SNK-tests,  $p < 0.05$ ).

**Table 2.** Biometric measurements of oysters, *Crassostrea gigas*, from three sites of different turbidity, used for the ecophysiological experiments (conditions C1 and C2,  $n = 32$ ) and for the localization of particle selection sites (conditions C3 and C4,  $n = 10$ ). Gill corresponds to the area of the outer right gill lamella and Palp to the area of the outer right labial palp. DTM: dry tissue mass; HT: high turbidity site; IT: intermediate turbidity site; LT: low turbidity site. Mean values are given with their standard deviation.

**Tableau 2.** Mesures biométriques des huîtres, *Crassostrea gigas*, provenant de trois sites de turbidités différentes et utilisées pour les expériences écophysologiques (conditions C1 et C2,  $n = 32$ ) et pour la localisation des sites de sélection des particules (conditions C3 et C4,  $n = 10$ ). La taille de la branchie est estimée à partir de la surface de la lamelle externe droite, et celle du palpe est estimée à partir de la surface d'un palpe externe droit. DTM : masse de tissus secs; HT : site de forte turbidité; IT : site de turbidité intermédiaire; LT : site de faible turbidité. Les valeurs moyennes sont données avec leurs écarts-types.

|               | Turbidity<br>of sites | Shell length<br>(mm) | DTM<br>(g)  | Gill<br>(cm <sup>2</sup> ) | Palp<br>(cm <sup>2</sup> ) |
|---------------|-----------------------|----------------------|-------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>C1, C2</b> | LT                    | 86.5 ± 11.3          | 1.53 ± 0.44 | 4.49 ± 1.32                | 0.74 ± 0.19                |
|               | IT                    | 110.8 ± 7.9          | 1.58 ± 0.50 | 5.83 ± 1.14                | 1.27 ± 0.26                |
|               | HT                    | 109.9 ± 18.0         | 1.42 ± 0.44 | 3.93 ± 1.12                | 1.54 ± 0.37                |
| <b>C3, C4</b> | LT                    | 93.8 ± 11.4          | 2.62 ± 1.10 | 3.87 ± 1.15                | 0.82 ± 0.22                |
|               | IT                    | 128.1 ± 12.2         | 3.73 ± 0.66 | 6.20 ± 0.93                | 1.26 ± 0.28                |
|               | HT                    | 112.2 ± 12.0         | 3.47 ± 1.15 | 4.88 ± 1.24                | 1.41 ± 0.26                |

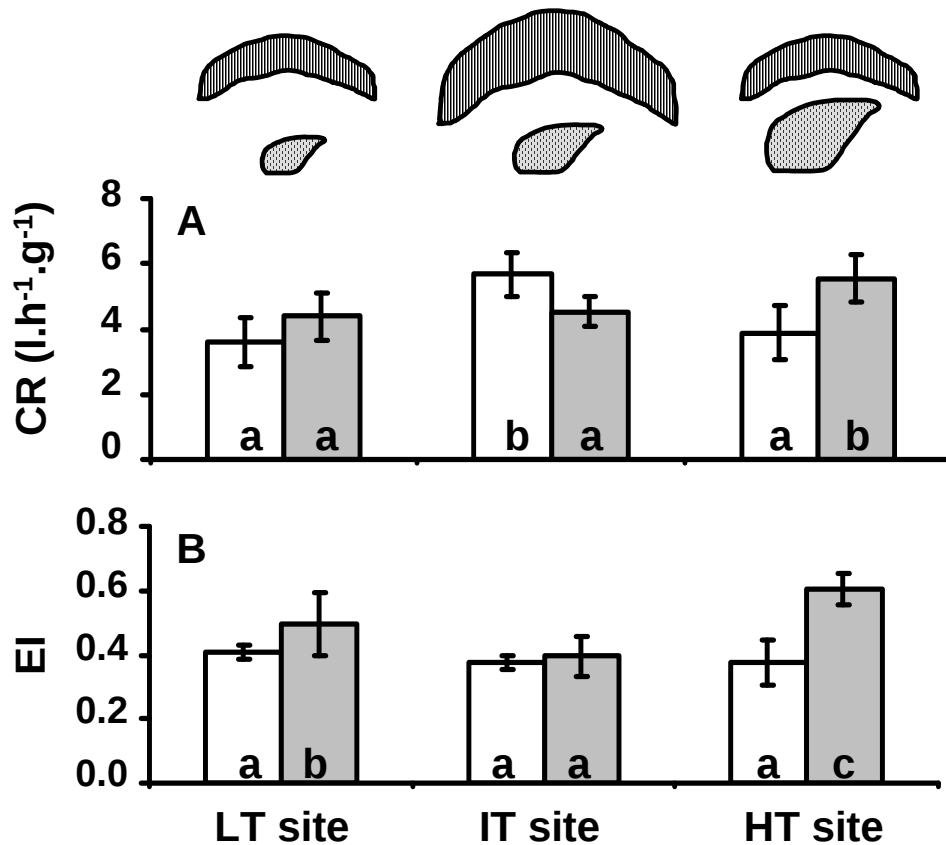
#### 2.2.5.2. Experimental conditions

After heat treatment, *T. suecica* cells remained intact but lost their flagellae and green granules were observed in their cytoplasm (Figure 16). The general morphology of the cells was also modified, becoming more voluminous with an ovoid shape.

For the functional response measurements (C1 and C2) and localization of the particle selection sites (C3 and C4), two experimental turbidity conditions were tested (Table 1). For each condition, concentrations of heat-killed *T. suecica* (one-way ANOVA,  $p = 0.24$ ) and *S. costatum* (one-way ANOVA,  $p = 0.06$ ) were not significantly different while the amount of kaolinite varied (SNK-tests,  $p < 0.01$ ). Oysters were exposed to low turbidity conditions (C1 and C3) and high turbidity conditions (C2 and C4).

#### 2.2.5.3. Clearance rate

At a low SPM concentration of  $8.5 \text{ mg.l}^{-1}$  (C1), CR was statistically similar for oysters with small gills from LT and HT sites (Figure 17A, SNK-tests,  $p = 0.89$ ), but was higher for oysters with larger gills from the IT site (SNK-tests,  $p < 0.05$ ). At a high SPM concentration of  $48.3 \text{ mg.l}^{-1}$  (C2), CR decreased in oysters with large gills (SNK-tests,  $p < 0.05$ ) but increased in oysters with small gills and large labial palps (SNK-tests,  $p < 0.05$ ). Although there was a trend to increase, CR remained statistically similar in oysters with small gills and small palps (SNK-tests,  $p = 0.28$ ).



**Figure 17.** Functional responses of oysters, *Crassostrea gigas*, with different pallial organ areas at low (C1, suspended particulate matter (SPM) =  $8.5 \text{ mg.l}^{-1}$ , white bars) and high (C2, SPM =  $48.3 \text{ mg.l}^{-1}$ , gray bars) turbidity conditions. (A) Clearance rate (CR); (B) Electivity index (EI) for pseudofaeces collected during feeding-rate experiments. The relative gill and labial palp areas of oysters from the three sites with different turbidity (LT: low turbidity, IT: intermediate turbidity, HT: high turbidity) are featured at the top. Within each graph, bars sharing the same lowercase letter are not significantly different (SNK-tests,  $p > 0.05$ ). Mean values are given with their 95 % confidence interval,  $n = 16$ .

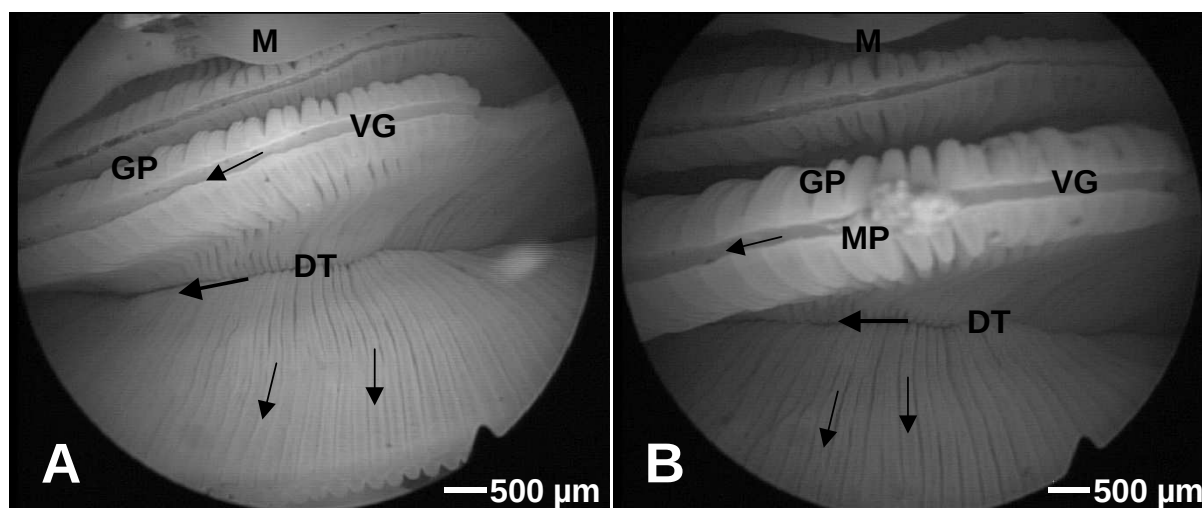
**Figure 17.** Réponses fonctionnelles des huîtres, *Crassostrea gigas*, possédant des organes palléaux de tailles différentes pour des conditions de turbidités faible (C1, matière en suspension (MES) =  $8,5 \text{ mg.l}^{-1}$ , barres blanches) et forte (C2, MES =  $48,3 \text{ mg.l}^{-1}$ , barres grises). (A) Taux de filtration (CR); (B) Indice d'électivité (EI) pour les pseudofèces collectés lors des expériences d'alimentation. Les tailles relatives des branchies et des palpes labiaux des huîtres provenant des trois sites de turbidités différentes (LT : faible turbidité; IT : turbidité intermédiaire; HT : forte turbidité) sont représentées en haut. Pour chaque graphique, les barres partageant la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes (tests SNK,  $p > 0,05$ ). Les valeurs moyennes sont données avec leur intervalle de confiance à 95%,  $n = 16$ .

#### 2.2.5.5. Endoscopic localization of the selection sites

Endoscopic examinations (Figure 18) of oyster gills showed, at low SPM concentration (C3, SPM = 11.6 mg.l<sup>-1</sup>), particles with a dominant green color in the VG corresponding to heat-killed *T. suecica*, while particles in the DT were mainly brown corresponding to *S. costatum*. At higher SPM concentration (C4, SPM = 45.1 mg.l<sup>-1</sup>), a mixture of heat-killed *T. suecica* and white kaolinite particles was observed in the VG. In the VG and in the DT, particles were always directed anteriorly towards the labial palps. On the plical crests of the gill lamella, particles were mainly directed to the VG. At low SPM concentration (C3), particles were transported in the VG in homogeneous and linear strings (Figure 18A) while at higher SPM concentration (C4), irregular masses of mucus-bound particles were transported, partly outside of the VG (Figure 18B). In the DT, mucus-particle suspension was less cohesive than in the VG and no difference was observed between the different turbidity conditions.

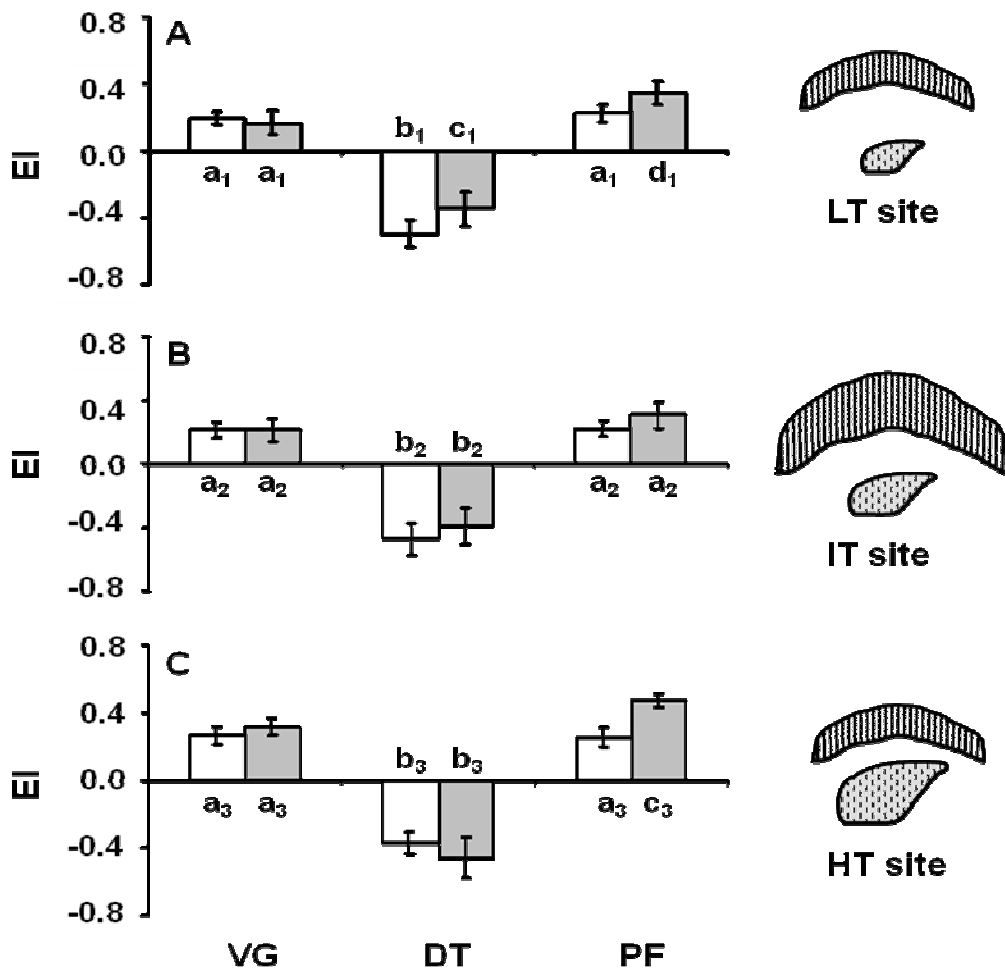
#### 2.2.5.6. Gill and pseudofaeces particle samplings

For each experiment, EI was positive in the VG and PF, indicating a preferential rejection of heat-killed *T. suecica*, while it was negative in DT, indicating a preferential acceptance of *S. costatum* (Figure 19). At low SPM concentration (C3), EI was statistically similar in the VG and in PF (paired t-tests,  $p = 0.27$ ). At higher SPM concentration (C4), EI remained unchanged in VG samples (paired t-tests,  $p = 0.15$ ) and in DT samples (paired t-tests,  $p = 0.31$ ), except for DT sample oysters from the LT site (paired t-tests,  $p < 0.05$ ). On the other hand, the addition of kaolinite particles (C4) caused an increase in EI in the PF of oysters with small gills (paired t-tests,  $p < 0.05$ ) while it remained unchanged in the PF of oysters with the largest gills (paired t-tests,  $p = 0.06$ ). In oysters with small gills, the increase in EI at higher SPM concentration was greater for those with the largest palps compared to those with the smallest palps (paired t-tests,  $p < 0.01$ ). The results obtained for the EI measured in PF with conditions C3 and C4 confirmed those obtained with conditions C1 and C2, with the same trend for the oysters from the three different sites. However, SE was systematically higher in the first experiment (Figure 17B vs. Figure 19 ABC, PF, SNK-tests,  $p < 0.05$ ).



**Figure 18.** Still images from video-endoscopy of gills of oyster, *Crassostrea gigas*, in ventral view. (A) In low turbidity conditions (C3, suspended particulate matter (SPM) = 11.6 mg.l<sup>-1</sup>), no accumulation of particles can be seen in the ventral groove (VG); (B) In high turbidity conditions (C4, SPM = 45.1 mg.l<sup>-1</sup>), the VG continuously transports masses of mucus-bound particles (MP). Particle movements in gill tracts are indicated by black arrows. DT: dorsal tract; GP: gill plicae; M: mantle.

**Figure 18.** Images instantanées des branchies d'huîtres, *Crassostrea gigas*, en vues ventrales, obtenues par vidéo-endoscopie. (A) Dans des conditions de faible turbidité (C3, matière en suspension (MES) = 11,6 mg.l<sup>-1</sup>), pas d'accumulation visible de particules dans la gouttière ventrale (VG); (B) Dans des conditions de forte turbidité (C4, MES = 45,1 mg.l<sup>-1</sup>), les gouttières ventrales transportent des masses muqueuses de particules (MP). Les mouvements de particules dans les voies branchiales sont indiquées par des flèches blanches. DT : sillon dorsal; GP : plis branchiaux; M : manteau.



**Figure 19.** Electivity index (EI) in oysters, *Crassostrea gigas*, with different pallial organ areas for low turbidity (C3, suspended particulate matter (SPM) = 11.6 mg.l<sup>-1</sup>, white bars) and high turbidity (C4, SPM = 45.1 mg.l<sup>-1</sup>, gray bars) conditions. (A) Oysters from a low turbidity (LT) site; (B) oysters from an intermediate turbidity (IT) site; (C) oysters from a high turbidity (HT) site. DT: dorsal tract; PF: pseudofaeces; VG: ventral groove. For each graph, the relative gill and labial palp areas are featured on the right. From each site, the same oysters (n = 10) were used for each experimental condition. Bars with the same lowercase letter and the same subscript number are not significantly different (paired t-tests,  $p > 0.05$ ). Mean values are given with their 95 % confidence interval.

**Figure 19.** Indice d'électivité (EI) chez des huîtres, *Crassostrea gigas*, possédant des organes palléaux de tailles différentes pour des conditions de turbidités faible (C3, matière en suspension (MES) = 11,6 mg.l<sup>-1</sup>, barres blanches) et forte (C4, MES = 45,1 mg.l<sup>-1</sup>, barres grises). (A) Huîtres provenant d'un site de faible turbidité (LT); (B) huîtres provenant d'un site de turbidité intermédiaire (IT); (C) huîtres provenant d'un site de forte turbidité (HT). DT : sillon dorsal; PF : pseudofèces; VG : gouttière ventrale. Pour chaque graphique, les tailles relatives des branchies et des palpes sont représentées sur la droite. Les huîtres (n = 10) provenant d'un même site ont été réutilisées pour chaque condition expérimentale. Les barres avec la même lettre minuscule et le même indice numérique ne sont pas significativement différentes (tests t paires,  $p > 0,05$ ). Les valeurs moyennes sont données avec leur intervalle de confiance à 95%.

## 2.2.6. Discussion

### 2.2.6.1. Relationship between pallial organ area and turbidity

Biometric measurements showed that wild oysters, collected in three sites characterized by different conditions of turbidity, had different gill and labial palp areas.

The oysters collected in May compared to those collected in March were in an advanced reproductive stage involving a higher DTM, which was not reflected in pallial organ size.

Labial palp area was closely and positively related to the turbidity gradient. Larger labial palp sizes in high turbidity conditions have already been reported in several bivalve species comparing only two sites (Barillé *et al.*, 2000) or geographically distant sites (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Payne *et al.*, 1995a, 1995b). However, as argued by Scheiner (1993), these types of observations only indicate a change without highlighting the dynamic aspect of the morphological variation. In contrast to Mettam (1993), in *Mytilus edulis*, our study clearly establishes a relationship between the spatial variations in SPM concentrations and the morphological changes of the labial palps. Beatty and Aldrich (1993) noted a decrease in labial palp size in mussels at high turbidity. Nevertheless, this observation was based on mass measurements, which could vary because of the role of glycogen storage by the labial palps (Lenoir *et al.*, 1989). Moreover, labial palp mass includes the entire organ surface while only the inner ridged faces are involved in preingestive processes. In Bourgneuf Bay, turbidity variations have been related to the resuspension of fine sediment (Haure and Baud, 1995), which could induce an increase in the labial palp size as described in deposit-feeding bivalves (Yonge, 1949; Foster-Smith, 1978; Drent *et al.*, 2004). The functional consequence of labial palp size variations in a turbid environment has only been investigated by Kiørboe and Møhlenberg (1981) who observed higher selection efficiency in *M. edulis* with larger labial palps. However, this result concerned a bivalve species whose homorhabdic gill type does not perform particle selection (Ward *et al.*, 1998). On the other hand, in heterorhabdic species like *C. gigas*, the gills are able to effect a preliminary selection before particle transfer to the labial palps, which can also control the ingestion volume (Bernard, 1974; Foster-Smith, 1978).

Contrary to the labial palps, the relationship between gill area and SPM concentration showed no clear pattern, as observed in *M. edulis* by Theisen (1977). Although the decrease in gill size between IT and HT corresponded to the general trend previously reported in suspension-feeding bivalves (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Beatty and Aldrich, 1993;

Payne *et al.*, 1995a, 1995b; Barillé *et al.*, 2000), it was surprising to observe small gills in the LT site. As argued by Beninger and Dufour (2000), the bivalve gill is very susceptible to modification related to environmental pressure and the literature identifies several factors that induce gill variations. A short feeding period at high shore level (Franz, 1993) or oligotrophic conditions (Worrall *et al.*, 1983; Iglesias *et al.*, 1996; Pouvreau *et al.*, 1999) have been related to an increase in gill area while a reduction in gill size avoided the risk of overload by a large amount of fine particles (Hawkins *et al.*, 1990). Oysters from the LT site have small gills despite a low food availability (lowest annual concentration of chlorophyll-*a*), suggesting that another variable must explain gill variations. With a limited environmental characterization of the LT site, we can only mention an habitat difference, this site located at the north of Noirmoutier Island, being exposed to more hydrodynamic conditions than the two other sheltered sites.

#### 2.2.6.2. Processing of heat-killed *Tetraselmis suecica*

Qualitative observations showed that the heat-killed *T. suecica* cells had the same appearance as the heat-killed *Chlorella* used by Brillant and MacDonald (2003) and the calculation of EI always indicated a preferential rejection of heat-killed *T. suecica* in the PF compared to *S. costatum*. Bougrier *et al.* (1997) showed, however, that oysters fed with a mixture of these two microalgae preferentially rejected *S. costatum*. Thus, heat treatment altered the way in which *T. suecica* was processed before ingestion and revealed the ability of oysters to select the same microalgae differently, as previously observed for the heterorhabdic *Placopecten magellanicus* (Brillant and MacDonald, 2003). No sensorial receptor has ever been observed on the processing surfaces of the pallial organs of bivalves but the preferential rejection of heat-killed *T. suecica* cells can be attributed to its altered nutritive value and/or morphology.

#### 2.2.6.3. Functional responses related to gill and labial palp areas

An increase in SPM concentration resulted in CR and SE variations linked to the pallial organ areas of oysters. At low seston load, CR was positively related to gill area as described in other bivalves (Worrall *et al.*, 1983; Jones *et al.*, 1992; Pouvreau *et al.*, 1999). High CR in

poor nutritive conditions has been considered as a mechanism for maximizing food intake (Bayne *et al.*, 1987; Willows, 1992; Hawkins *et al.*, 1998). The efficiency of preingestive sorting that occurred between the microalgae was similar in all individuals suggesting an absence of regulation by the pallial organ areas.

At higher seston load, CR was reduced in oysters with large gills while it tended to increase in those with small gills. A negative relationship between CR and SPM concentration has been reported in several bivalve species, such as *C. gigas* (Barillé *et al.*, 1997), *Ostrea edulis* (Wilson, 1983), and *M. edulis* (Bayne *et al.*, 1987), and in the cockle *Cerastoderma edule* (Navarro *et al.*, 1992; Urrutia *et al.*, 1996; Iglesias *et al.*, 1996; Navarro and Widdows, 1997). As in oysters with small gills, Hawkins *et al.* (1996) observed in *M. edulis* an increase in CR at higher seston load. Contradictory responses in CR of the same species can be related to the type of particles used in experimentation (Hawkins *et al.*, 2001) but, in the present study, they were linked to the variations in pallial organ areas. Indeed, in oysters with small gills, the increase in CR was higher when labial palps were larger, which indicated that both gill and labial palp areas could explain CR variations. A retroactive control of the labial palps on the gills was suggested in *M. edulis* (Richoux and Thompson, 2001) to control ingestion volume and the interaction of these pallial organs in turbid conditions was highlighted. The ability of oysters with small gills to increase their CR showed that CR was not maximal for the experimental low seston load and suggested a regulation of gill activity independent of gill area. In oysters with small gills, the addition of kaolinite also caused an increase in SE positively related to labial palp area, suggesting a role for palp size in preingestive particle selection as described in the homorhabdic bivalve *M. edulis* by Kiørboe and Mølhenberg (1981).

#### 2.2.6.4. Particle selection sites related to gill and labial palp areas

In all anatomical samples, EI indicated an enrichment of heat-killed *T. suecica* in preferential rejection routes (VG and PF) and a depletion in preferential ingestion routes (DT) compared to the diatom *S. costatum*. Although the endoscope resolution did not allow the identification of the particles transported on ordinary filaments of gill plicae towards the VG, observations confirmed the results obtained with EI, showing a dominance of heat-killed *T. suecica* cells in the VG and of *S. costatum* in the DT. Moreover, with the addition of kaolinite, a mixture of green and white material embedded in mucus string was observed in the VG

suggesting that the clay was also preferentially rejected on the gills. The heterorhabdic gill of *C. gigas* performed a selection not only between organic particles, as observed by Ward *et al.* (1998), but also between organic and inorganic fine material which improve the ingested ration when food is diluted by non nutritive particles. Whatever the gill area and the seston load, EI was the same for the VG. Thus, gill area is not related to the absolute level of gill SE but may play a role in the regulation of the amount of material processed.

At a low SPM concentration, EI was similar in the VG and in the PF as observed in the same species by Ward *et al.* (1998). On the other hand, a higher amount of kaolinite led to a greater SE in the PF than in the VG for oysters with small gills. This increase in SE was greater in individuals with larger labial palps suggesting an overload of the small palps (Beninger *et al.*, in preparation) and that, contrary to the gills, palp area was determinant in the absolute level of particle SE (Kiørboe and Mølhenberg, 1981; Milke and Ward, 2003). As observed by MacDonald and Ward (1994) in the scallop *P. magellanicus*, particle selection on the palps is a limiting step in the feeding process. Nevertheless, unchanged EI in the PF of oysters with large gills suggests a small or no palp sorting activity, which can be dependent on gill area. Indeed, at high SPM concentration, large gills probably processed and sorted most particles, directly rejecting PF (Ward *et al.*, 1994). On the other hand, with small gills, many more particles were transferred to the palps, which improved the particle selection and probably regulated the volume of ingestion (Bernard, 1974; Foster-Smith, 1978). A more efficient particle transfer between small gills and large palps, allowing a rapid clearing of the gills, could also explain the increase in CR at high SPM concentration. The present study highlights the functional complementarity of gills and labial palps in the feeding adaptability of bivalves to high turbidity conditions. In the evolutionary history of the bivalves, the association of gills and palps in oysters is considered as an adaptive radiation of higher taxa (Stasek, 1963).

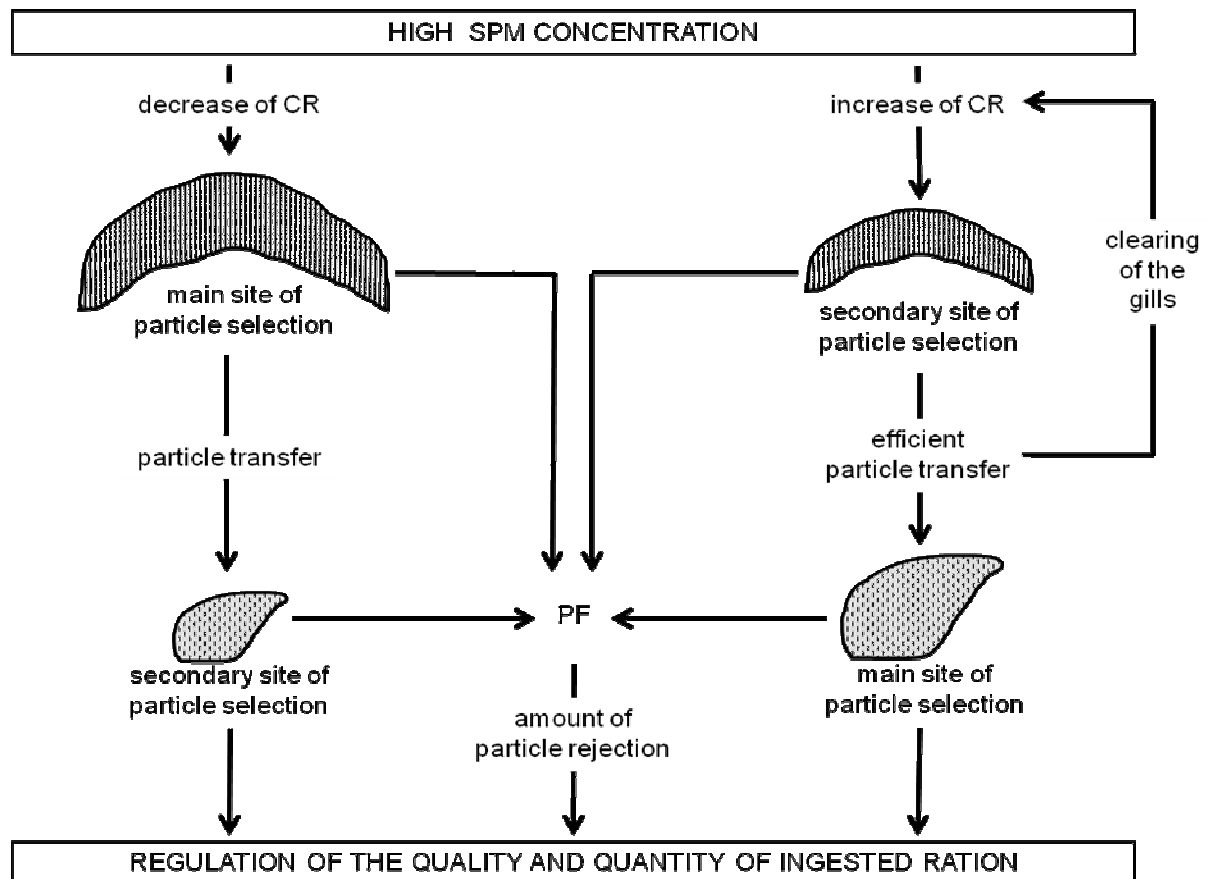
In this work, the sorting role of palps appears secondary but can involve an improvement in SE, which could be a selective advantage in the natural environment where oysters are subjected to a higher diversity of particles than in experimental diets. The overall impact of selection on the ingested material should in the future integrate both mechanistic (SE estimation) and fluxes measurements (amount of PF) to analyze the role of preingestive selection on the energy budget of a bivalve submitted to pallial organ variations in a turbid habitat (Newell and Jordan, 1983; MacDonald and Ward, 1994; Bacon *et al.* 1998).

Eventually, although SE was mainly related to the pallial organ area, EI in the PF was lower in C3 and C4 than in C1 and C2. As particle sorting is quite dependent on ciliary and

muscular activities, we suggest that the lower water temperature (Jørgensen, 1990) and/or the reproductive stage could cause a decrease in SE.

### 2.2.7. Conclusion

The present study shows that variations in gill and labial palp areas represent an essential element in the understanding of the capacity of the Pacific oyster, *C. gigas*, to withstand high turbidity conditions. Indeed, complementarity between small gills and large labial palps ensures particle selection and ingestion volume regulation by avoiding the overloading of processing structures (Figure 20). When the labial palps are the main site of particle selection as proposed in the conceptual scheme (Figure 20), a possible feed-back mechanism on CR is suggested increasing the amount of particles to be processed. These results demonstrating pallial organ plasticity in response to seston concentration open the way to further investigations on the morphological adaptation of feeding mechanisms in *C. gigas*. In particular, it will be interesting to observe the seasonal modifications of gill and palp areas in relation to the high variability of food and seston, characteristic of macrotidal ecosystems (Barillé *et al.*, in preparation). Moreover, at high SPM concentration, endoscopic observations have suggested a possible role for the mantle in the rejection of masses of mucus-bound particles, thus a possible phenotypic variation of the number and size of mantle rejection tracts should be considered (Beninger and Veniot, 1999).



**Figure 20.** Conceptual representation of functional responses associated with the pallial organ variations in a high turbidity environment for oysters, *Crassostrea gigas*, with large gills and small palps (on the left) and for oysters with small gills and large labial palps (on the right). CR: clearance rate; PF: pseudofaeces; SPM: suspended particulate matter.

**Figure 20.** Représentation conceptuelle, dans un environnement turbide, des réponses fonctionnelles associées aux variations des organes palléaux chez des huîtres, *Crassostrea gigas*, possédant de larges branchies et de petits palpes (à gauche) et pour des huîtres possédant de petites branchies et de larges palpes (à droite). CR : taux de filtration; PF : pseudofèces; SPM : matière en suspension.

## 2.2.8. Acknowledgements

The authors thank P.G. Beninger for his valuable comments on the manuscript, and P. Gaudin and P. Rosa for their technical assistance in microalgal cultures and oyster samplings.

## **2.3. Variations des tailles des organes palléaux chez l'huître invasive, *Crassostrea gigas*, le long d'un gradient de turbidité extrême**

---

D'après un article soumis le 25 mai 2009, accepté le 1<sup>er</sup> juillet 2009

**Estuarine, Coastal and Shelf Science 85:431-436**

### **Variations in the pallial organ sizes of the invasive oyster, *Crassostrea gigas*, along an extreme turbidity gradient.**

**Mickaël Dutertre, Laurent Barillé, Peter G. Beninger, Philippe Rosa, Yves Gruet**

#### **2.3.1. Abstract**

Spatial size variations of labial palps, gills and the adductor muscle of the invasive feral oyster, *Crassostrea gigas*, were studied along two gradients of suspended particulate matter (SPM) concentrations in the temperate macrotidal Bourgneuf Bay, (annual mean SPM concentration gradient of 21.0 to 154.0 mg.l<sup>-1</sup>) and the adjacent Loire Estuary (annual mean SPM concentration gradient of 24.1 to 630.4 mg.l<sup>-1</sup>) on the French Atlantic Coast. The gill-to-palp (G:P) ratios decreased with increasing turbidity, both in the bay and the estuary. Changes in G:P ratios were chiefly related to palp area variations, increasing gradually from low turbidity to very high turbidity sites, while gill area showed no clear relationship with turbidity conditions. The G:P ratio, showing a significant relationship ( $r^2 = 0.97$ ) with SPM concentrations, is proposed as a pallial organ index of oyster acclimation to turbidity conditions. The area of the striated part of the adductor muscle was always greater than that of the smooth one, and adductor muscle area tended to decrease when SPM concentration increased. These observations show the morphological capacity of the oyster *Crassostrea gigas* to tolerate SPM concentrations above the feeding cessation thresholds previously determined experimentally. They also suggest that pallial organ size variations could help explain the success of recent feral oyster invasions in temperate turbid ecosystems.

### 2.3. 2. Résumé

Les variations spatiales des tailles des palpes labiaux, des branchies et du muscle adducteur de *Crassostrea gigas*, ont été étudiées chez des huîtres férales prélevées le long de deux gradients de concentrations en matières en suspension (MES), dans la baie de Bourgneuf (gradient de concentrations annuelles moyennes en MES de 21,0 to 154,0 mg.l<sup>-1</sup>) et dans l'estuaire de la Loire (gradient de concentrations annuelles moyennes en MES de 24,1 to 630,4 mg.l<sup>-1</sup>). Les rapports branchie/palpe (B/P) diminuent lorsque la turbidité augmente dans la baie et dans l'estuaire. Les changements des rapports B/P sont principalement liés aux variations des surfaces des palpes qui augmentent progressivement entre les sites de faible turbidité et de très forte turbidité, alors que les surfaces branchiales ne montrent pas de relation évidente avec les conditions de turbidité. Le rapport B/P, montrant une relation statistiquement significative ( $r^2 = 0,97$ ) avec les concentrations en MES, est proposé comme indice morphologique d'acclimatation aux conditions de turbidité dans les écosystèmes marins côtiers. La surface de la partie striée du muscle adducteur est toujours plus grande que celle de la partie lisse, et la surface du muscle adducteur tend à diminuer lorsque la turbidité augmente. Ces observations montrent la capacité morphologique de l'huître *Crassostrea gigas* à tolérer les concentrations en MES supérieures aux seuils de cessation d'alimentation précédemment déterminés. Elles suggèrent également que les variations des tailles des organes palléaux pourraient aider à expliquer le succès des récentes invasions d'huîtres férales dans les écosystèmes tempérés turbides.

### 2.3.3. Introduction

The Pacific cupped oyster, *Crassostrea gigas*, was deliberately introduced to worldwide coastal waters for aquaculture in the twentieth century. In northern European temperate ecosystems, *C. gigas* has become an invasive species due to the recent extension and proliferation of feral populations (Reise *et al.*, 1999; Wehrmann *et al.*, 2000; Cognie *et al.*, 2006). It is assumed that the proliferation of *C. gigas* in European farming areas is attributed to a rise in water temperature over the past decades, allowing successful reproduction, larval development, and settlement (Diederich *et al.*, 2005; Dutertre *et al.*, in press a and b). However, high densities of feral *C. gigas* are found not only in the oyster-farming areas but also outside them, notably in high - turbidity estuaries. This is even more remarkable since,

the few available data concerning the turbidity of their native range in Japan indicate that *C. gigas* is farmed in low turbidity conditions (Ventilla, 1984; Fujisawa *et al.*, 1987; Kobayashi *et al.*, 1997). To date, functional SPM thresholds have been determined in laboratory experiments and subsequently used in current models; these suggest a cessation of filtration and selection activities at 192 mg.l<sup>-1</sup> and 150 mg.l<sup>-1</sup>, respectively, which correspond to SPM concentrations markedly lower than those encountered by some feral *C. gigas* populations, which nevertheless seem to thrive in very high - turbidity ecosystems (Deslous-Paoli *et al.*, 1992; Pastoureaud *et al.*, 1996; Barillé *et al.*, 1997b). Considering the role of this reef-building oyster as an ecosystem engineer and its economic interest (see Ruesink *et al.*, 2005 for a review), it would be interesting to determine the underlying mechanisms enabling *C. gigas* to invade very high turbidity coastal ecosystems.

In suspension-feeding bivalves, pre-ingestive particle processing is performed by gills and/or labial palps (Newell and Jordan, 1983; Ward *et al.*, 1991; Beninger *et al.*, 1992; 2004; Barillé, 1994; Beninger and St-Jean, 1997; Cognie *et al.*, 2003; Ward and Shumway, 2004). Intraspecific pallial organ variations, characterized by smaller gills and larger palps when seston concentration increases, have mainly been described in bivalves with a functionally homorhabdic (*sensu* Beninger and Decottignies, 2008) gill structure (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Payne *et al.*, 1995a; 1995b; Drent *et al.*, 2004), in which post-capture particle selection occurs only on the palps (Beninger *et al.*, 1997; Beninger and St-Jean, 1997; Ward *et al.*, 1998). However, recent studies on the functionally heterorhabdic pseudolamellibranch *Crassostrea gigas* have shown a relationship between gill and palp sizes, and particle clearance and selection efficiency, at different turbidity levels (Dutertre *et al.*, 2007). These studies suggest that *C. gigas* gill size variations could be more complex than the generally-observed morphological trend (Barillé *et al.*, 2000; Honkoop *et al.*, 2003; Dutertre *et al.*, 2007; Dutertre, 2008), potentially in relation to the particularly complex functionally heterorhabdic gill structure, which enables particle selection and ingestion volume regulation to be carried out on both gills and palps (Cognie *et al.*, 2003; Beninger *et al.*, 2005; 2008).

In high-turbidity ecosystems where *C. gigas* is now invasive, delimiting the range of SPM concentrations it can tolerate is of prime importance, especially for integration into predictive ecophysiological models of growth performance and population dynamics (Barillé *et al.*, 1997a; Kobayashi *et al.*, 1997; van der Meer, 2006). It is thus interesting to determine whether the observed phenotypic plasticity of the *C. gigas* pallial organs may be a factor in the extension of this species' range of tolerated turbidity conditions. An intraspecific relationship between pallial organ size and SPM concentrations should therefore be quantified

not only to answer this question, but also to adapt feeding thresholds integrated into ecophysiological models, and for use as a time-integrated indicator of turbidity conditions (Payne *et al.*, 1995b).

Previous studies suggest that, although not directly involved in particle processing, the oyster adductor muscle size may also be an indicator of turbidity conditions (Yonge, 1936; Barillé *et al.*, 2000). Bivalve adductor muscle consists of a smooth part, responsible for prolonged valve closure in unfavorable external conditions, and a striated part, mediating rapid closure of valves in response to predator attack or waste ejection from the pallial cavity (Yonge, 1936; Morrison, 1996). Just as adductor muscle size has been observed to vary in mussels in relation to predation pressure (Hancock, 1965; Theisen, 1982), so it may be hypothesized that frequent and strong valve claps, resulting from the accumulation of large amounts of rejected particles in the pallial cavity under high-turbidity conditions, might produce an increase in the size of the striated adductor muscle.

The aim of the present work was to investigate the potential relationship between extreme SPM gradient and the size variations of feral *C. gigas* palps, gills and adductor muscle, in Bourgneuf Bay, an important French oyster-farming area, and the adjacent Loire Estuary. A further objective was to establish a quantitative relationship between *C. gigas* G:P ratios and SPM concentrations.

## **2.3.4. Materials and methods**

### **2.3.4.1. Environmental characteristics**

Bourgneuf Bay and the Loire Estuary are northern temperate ecosystems subject to a combination of seasonal and short-term variations in hydrological parameters. Bourgneuf Bay, a macrotidal shellfish ecosystem on the French Atlantic Coast, is characterized by a marked turbidity gradient, decreasing from North (annual mean SPM concentration = 154.0 mg.l<sup>-1</sup>) to South (annual mean SPM concentration = 33.8 mg.l<sup>-1</sup>) and from East to West (annual mean SPM concentration = 21.0 mg.l<sup>-1</sup>) (Table 3; Haure and Baud, 1995; IFREMER, Quadrigé Database 2004). The northern high turbidity (HT) site of La Coupelasse is an oyster-farming area located on a mudflat while the southern intermediate turbidity (IT) site, Gresseloup, is a sandy-muddy farming area. At the entrance of the bay, the western low

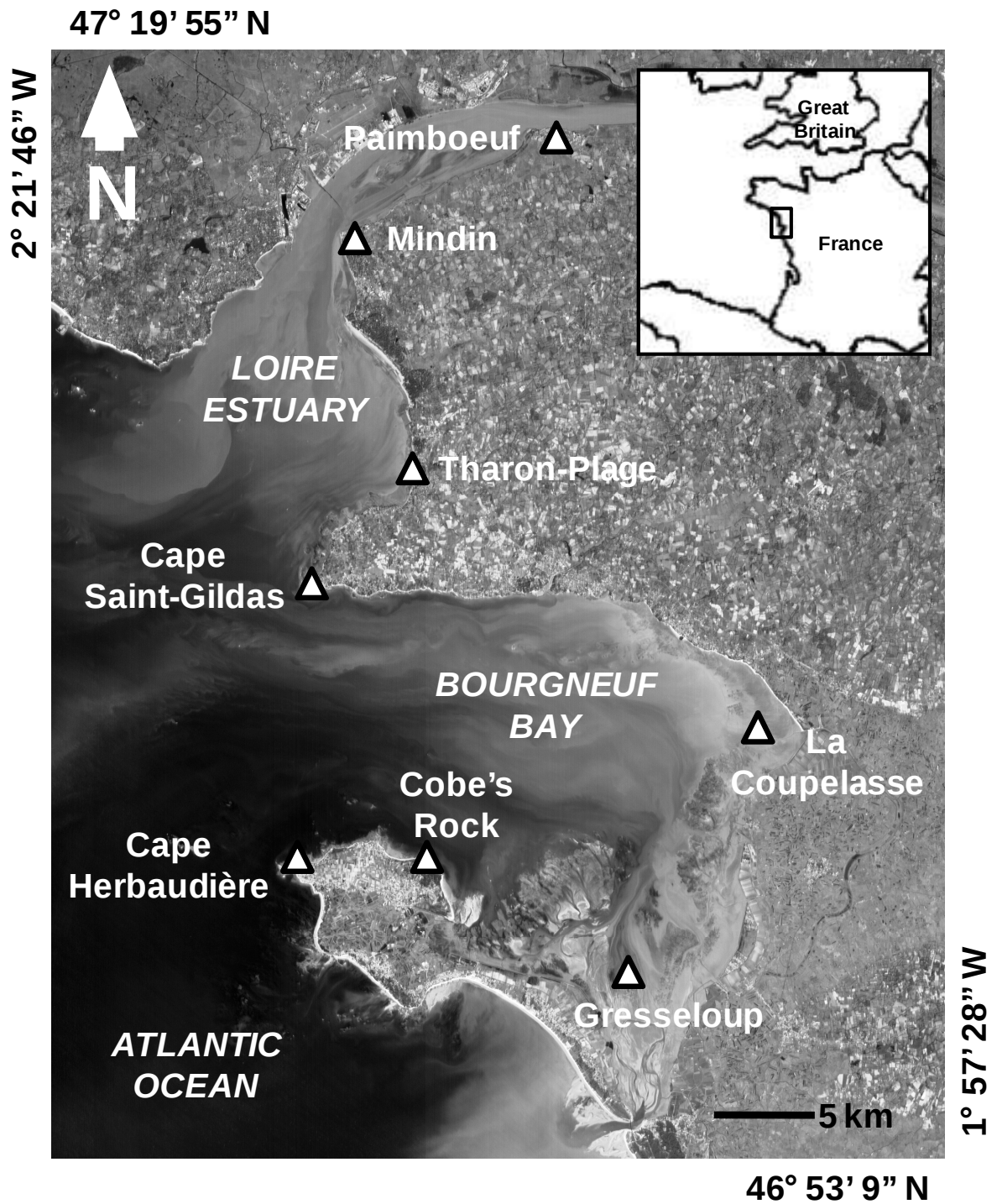
turbidity (LT) sites, Cobe's Rock and Cape Herbaudière, are characterized by sandy sediment and rocky areas. The mean annual salinity in Bourgneuf Bay is 32.5 – 33.9 psu.

The Loire Estuary has a mean annual flow of  $853 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ , with peak floods in winter reaching  $4000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ , while summer flows can be as low as  $100 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ . SPM concentrations vary from 10 to more than  $2000 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  in the maximum turbidity area (Froidefond *et al.*, 2003). The Loire estuary shows a decreasing SPM gradient seaward. The four selected stations (Table 3, Figure 21) encompass two stations at the outer estuary, Cape Saint-Gildas (low turbidity, LT) and Tharon-Plage (IT), and two others at Mindin (HT) and Paimboeuf (very high turbidity, VHT) in the polyhaline sector (30 to 16 psu) of the inner estuary. Mean annual SPM concentrations were obtained from different monitoring programs (IFREMER, Quadrigé Database, 2004; GIP Loire Estuaire, MECCEL Database, 2007). For two stations (Tharon-Plage and Mindin), only partial turbidity data were available (irregular satellite readings - Froidefond *et al.*, 2003), so these stations were not used for determination of the pallial organ index.

#### 2.3.4.2. Feral oyster sampling and maintenance

Feral oysters were collected at eight sites in Bourgneuf Bay (November 2004) and the adjacent Loire Estuary (December 2007), along the French Atlantic Coast (Figure 21, Table 3). Adult feral oysters were selected, on rocky substrates, within a shell length range of 7 – 10 cm in order to reduce the variability linked to animal size. Nevertheless, natural growth conditions lead to a high variability in oyster shell shape, especially when a crowding effect, related to the scarcity of rocky substrates, is associated with the longitudinal growth of the shell (Orton, 1936; Gunter, 1938; Galtsoff, 1964). A possible effect of shell shape, described by length-to-width (L:W), on gill-to-palp ratios was tested; subsequent comparisons between oysters required a standardization of the pallial organ measurements to those of an equivalent individual of 1 g dry tissue mass in order to take into account the influence of different sizes and ages (Andrews, 1979).

Since glycogen cells are a major component of oyster palps (Berthelin *et al.*, 2000), we performed these measurements at the end of the reproductive season, to avoid palp size changes due to glycogen storage or utilization. The same day of their sampling, individuals were taken to the laboratory and manually cleaned of their shell epibionts, prior to biometric and pallial organ measurements.



**Figure 21.** Map showing location of study area and sampling sites ( $\Delta$ ) of oysters, *Crassostrea gigas*, in Bourgneuf Bay and the Loire Estuary (SPOT satellite image).

**Figure 21.** Carte montrant la zone d'étude et les sites d'échantillonnages ( $\Delta$ ) des huîtres férales, *Crassostrea gigas*, dans la baie de Bourgneuf et dans l'estuaire de la Loire (Image satellite SPOT).

#### 2.3.4.3. Biometric measurements

Measurements were performed on thirty oysters sampled in each of the eight sites in Bourgneuf Bay and the Loire Estuary. Shell dimensions (mm) were measured with a caliper to obtain length, width, length-to-width (L:W) ratio and height. The right valve was removed to take digital photographs of the pallial organs, on which areas were delineated and calculated with LUCIA G 4.80 image analysis software (Image Analysis Systems). The functional association of gills and palps in oysters can be expressed as the gill-to-palp (G:P) ratio. Gill and palp sizes were estimated from the areas of the outer right gill lamella and labial palp, and G:P was calculated. The striated, smooth, and total adductor muscle areas were estimated from their transverse sections, and all soft parts were then dried at 60 °C for 48 h to obtain the dry tissue mass (DTM, g). As shell dimension and soft tissue mass are not influenced in the same way by environmental variations (Hilbish, 1986), morphological responses involving pallial organs of bivalves are commonly standardized to those of an equivalent individual of 1 g DTM as follows (Bayne *et al.*, 1987; Barillé *et al.*, 2000):

$$POA_s = (1 / DTM)^b \times POA_{ex}$$

where  $POA_s$  represents the pallial organ area for the standard oyster,  $POA_{ex}$  is the experimental value and  $b$  the allometric exponents determined by Barillé *et al.* (2000).

#### 2.3.4.4. Statistical analysis

Sigmastat 3.1 (Systat software) was used for all statistical analyses. After checking the normality and heteroscedasticity of the distributions, one-way or two-way parametric ANOVA were performed. Where appropriate, Student-Newman-Keuls (SNK) tests were then carried out *a posteriori*. Non-parametric Spearman tests were also used to determine correlations between distributions (Conover, 1999). Variations in G:P ratio were fitted against log(SPM concentrations) using an inverse polynomial model  $y = a + (b / x) + (c / x^2)$  which was tested by analysis of variance.

**Table 3.** Characteristics of the sampling sites of feral oysters, *Crassostrea gigas*, in Bourgneuf Bay (first four sites) and the adjacent Loire Estuary (last four sites). SPM: suspended particulate matter. HT: high turbidity; IT: intermediate turbidity; LT: low turbidity; VHT: very high turbidity <sup>1</sup>Decottignies P., Université de Nantes, unpublished data; <sup>2</sup>IFREMER, Quadriga Database 2004; <sup>3</sup>Haure and Baud, 1995; <sup>4</sup>Froidefond *et al.*, 2003 (data partially available); <sup>5</sup>GIP Loire Estuaire, MECCEL Database 2007.

**Tableau 3.** Caractéristiques des sites d'échantillonnages d'huîtres férales, *Crassostrea gigas*, dans la baie de Bourgneuf (les quatre premiers sites) et dans l'estuaire de la Loire (les quatre derniers sites). HT: forte turbidité; IT: turbidité intermédiaire; LT: faible turbidité; SPM: matière en suspension; VHT: très forte turbidité. <sup>1</sup>Decottignies P., Université de Nantes, données non publiées; <sup>2</sup>IFREMER, Quadriga Database 2004; <sup>3</sup>Haure and Baud, 1995; <sup>4</sup>Froidefond *et al.*, 2003 (données partiellement disponibles); <sup>5</sup>GIP Loire Estuaire, MECCEL Database 2007.

| Sampling site     | Co-ordinates                   | Annual mean SPM<br>(mg.l <sup>-1</sup> ) | Turbidity condition |
|-------------------|--------------------------------|------------------------------------------|---------------------|
| Cape Herbaudière  | 47°1' 39.9" N<br>2°18' 32.1" W | 21.0 <sup>1</sup>                        | LT                  |
| Cobe's Rock       | 47°1' 10.0" N<br>2°13' 35.3" W | 24.3 <sup>2</sup>                        | LT                  |
| Gresseloup        | 46°57' 2.6" N<br>2°7' 53.4" W  | 33.8 <sup>3</sup>                        | IT                  |
| La Coupelasse     | 47°1' 34.7" N<br>2°1' 55.9" W  | 154.0 <sup>3</sup>                       | HT                  |
| Cape Saint-Gildas | 47°7' 58.3" N<br>2°15' 2.3" W  | 24.1 <sup>2</sup>                        | LT                  |
| Tharon-Plage      | 47°10' 40.7" N<br>2°9' 54.9" W | dpa <sup>4</sup>                         | IT                  |
| Mindin            | 47°16' 3.4" N<br>2°10' 16.8" W | dpa <sup>4</sup>                         | HT                  |
| Paimboeuf         | 47°17' 25.8" N<br>2°1' 57.5" W | 630.4 <sup>5</sup>                       | VHT                 |

### 2.3.5. Results

Differences in oyster shell shape (Table 4, one-way ANOVA,  $p < 0.01$ ) were considered with regard to the length:width ratio (L:W). Shells showed a similar sub-circular shape (L:W = 1.4 to 1.7) in most of the sampling sites, but they were longer and thinner (L:W = 2.3 to 2.6) in the oyster-farming sites of La Coupelasse and Gresseloup (SNK-tests,  $p < 0.01$ ),

characterized by a sparseness of rocks for attachment. However, L:W ratios were not correlated to G:P ratios (Spearman correlation test,  $p = 0.34$ ) indicating that shell shape did not significantly influence the size of the pallial organs.

**Table 4.** Mean ( $\pm$  SD) shell measurements (length, width, length:width (L:W) ratio and height) and proportion of the striated part of the adductor muscle in feral oysters, *Crassostrea gigas*, collected from different turbid sites of Bourgneuf Bay (first four sites) and the adjacent Loire Estuary (last four sites).

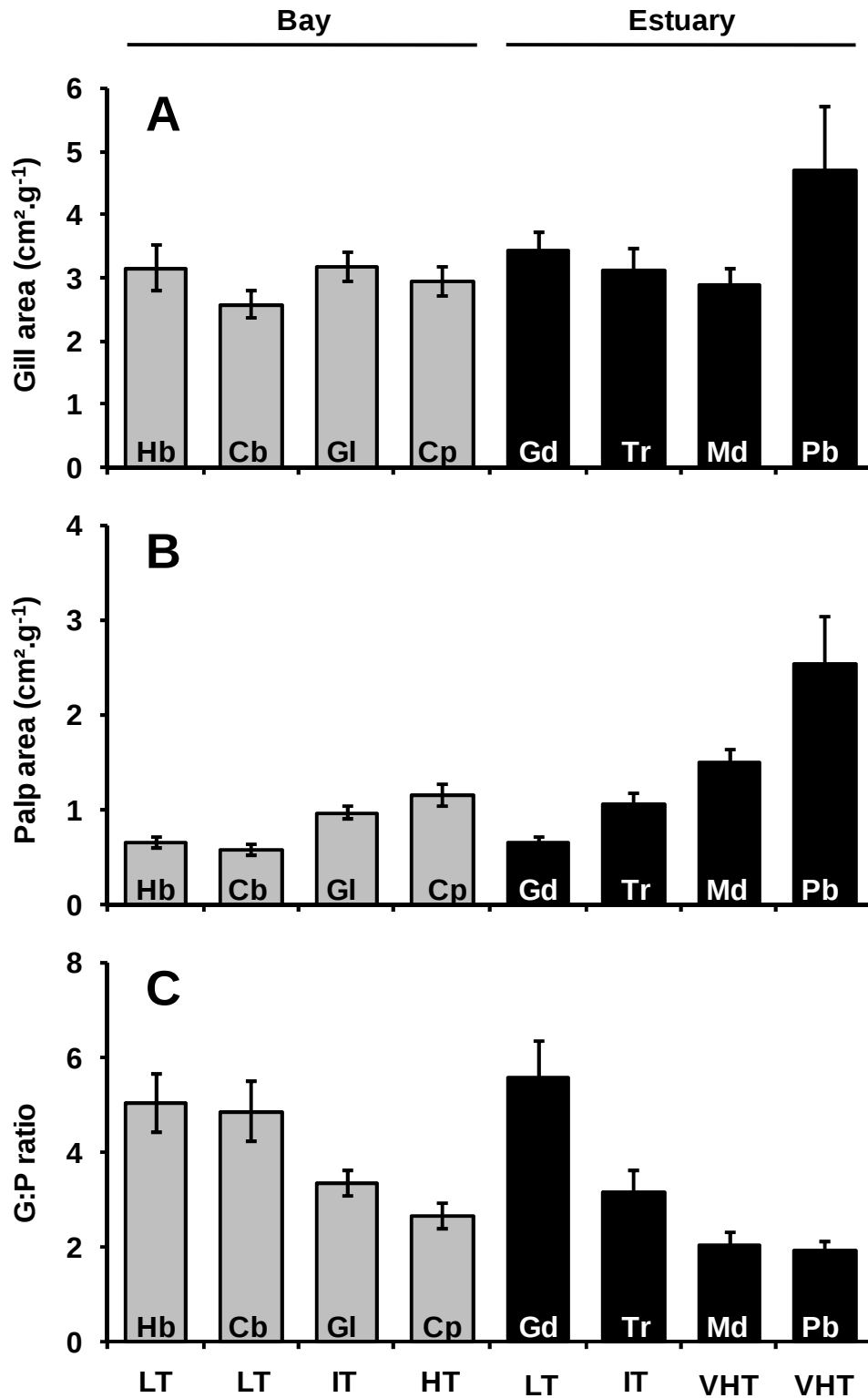
**Tableau 4.** Mesures de la coquille (longueur, largeur, rapport longueur/largeur et hauteur) et proportion de la surface striée du muscle adducteur chez des huîtres férales, *Crassostrea gigas*, collectées dans des sites de turbidités différentes de la baie de Bourgneuf (les quatre premiers sites) et de l'estuaire de la Loire (les quatre derniers sites).

| Sampling site     | n  | Shell length (mm) | Shell width (mm) | L:W ratio     | Shell height (mm) | Striated area (%) |
|-------------------|----|-------------------|------------------|---------------|-------------------|-------------------|
| Cape Herbaudière  | 30 | 70.3 $\pm$ 9.5    | 50.1 $\pm$ 9.2   | 1.4 $\pm$ 0.3 | 21.4 $\pm$ 4.1    | 57.2 $\pm$ 6.2    |
| Cobe's Rock       | 30 | 84.5 $\pm$ 11.0   | 51.3 $\pm$ 8.3   | 1.7 $\pm$ 0.3 | 23.2 $\pm$ 4.1    | 55.0 $\pm$ 7.9    |
| Gresseloup        | 30 | 103.3 $\pm$ 12.1  | 46.2 $\pm$ 5.0   | 2.3 $\pm$ 0.3 | 25.4 $\pm$ 4.1    | 53.7 $\pm$ 6.6    |
| La Coupelasse     | 30 | 104.0 $\pm$ 11.3  | 40.7 $\pm$ 5.3   | 2.6 $\pm$ 0.4 | 25.9 $\pm$ 2.8    | 56.1 $\pm$ 5.5    |
| Cape Saint-Gildas | 30 | 83.0 $\pm$ 8.3    | 57.6 $\pm$ 5.8   | 1.5 $\pm$ 0.2 | 18.1 $\pm$ 3.1    | 56.9 $\pm$ 7.6    |
| Tharon-Plage      | 30 | 76.8 $\pm$ 9.3    | 51.3 $\pm$ 7.8   | 1.5 $\pm$ 0.2 | 30.3 $\pm$ 9.5    | 60.9 $\pm$ 4.8    |
| Mindin            | 30 | 85.1 $\pm$ 11.2   | 54.5 $\pm$ 10.5  | 1.6 $\pm$ 0.3 | 29.8 $\pm$ 7.5    | 65.8 $\pm$ 4.4    |
| Paimboeuf         | 30 | 80.1 $\pm$ 10.4   | 50.0 $\pm$ 8.2   | 1.6 $\pm$ 0.3 | 21.4 $\pm$ 5.0    | 64.0 $\pm$ 6.0    |

Significant variations were recorded for gill areas between the different turbidity sites of Bourgneuf Bay and the Loire Estuary (Figure 22A, one-way ANOVA,  $df = 7$ ,  $F = 9.70$ ,  $p < 0.01$ ), palp areas (Figure 22B, one-way ANOVA,  $df = 7$ ,  $F = 82.17$ ,  $p < 0.01$ ) and G:P ratios (Figure 22C, one-way ANOVA,  $df = 7$ ,  $F = 36.62$ ,  $p < 0.01$ ). Gill area was significantly larger at the VHT site and smaller at the LT site without any trend related to turbidity (Figure 22A, SNK-tests,  $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ , respectively). In contrast, a positive relationship between palp area and turbidity was observed both in the bay and in the estuary (Figure 22B). Palps were significantly smaller at the LT sites (SNK-test,  $p < 0.01$ ), while they were significantly larger at the VHT site (SNK-test,  $p < 0.01$ ).

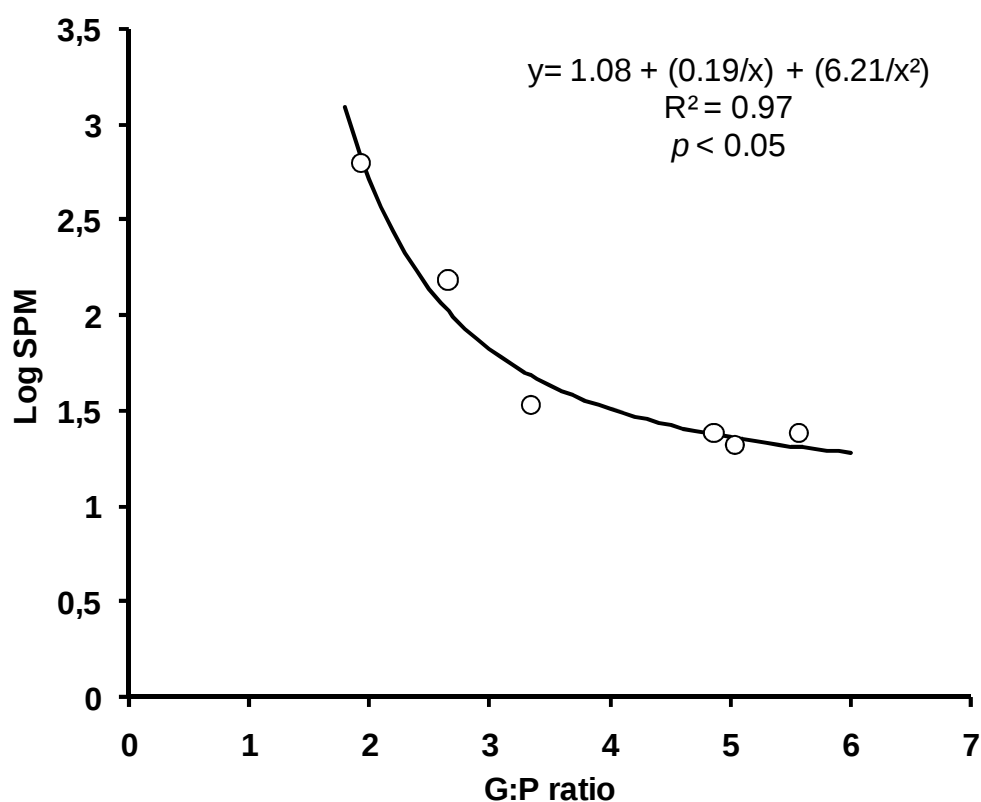
Although there was no correlation between gill and palp area variations (Spearman test,  $n = 8$ ,  $r = 0.30$ ,  $p = 0.41$ ), two clear gradients were established with the G:P ratios, showing significantly higher values at the LT sites (Figure 22C, SNK-test,  $p < 0.01$ ) and significantly lower values at the VHT sites (SNK-test,  $p < 0.01$ ). G:P ratios were negatively correlated with palp areas (Spearman correlation test,  $n = 8$ ,  $r = -0.93$ ,  $p < 0.01$ ), while no correlation was found with gill areas (Spearman correlation test,  $n = 8$ ,  $r = -0.07$ ,  $p = 0.84$ ). A quantitative relationship was established between G:P ratios and annual mean SPM concentrations (Figure 23, one-way ANOVA,  $p < 0.05$ ,  $\log(\text{SPM}) = 1.08 + (0.19 / (\text{G:P ratio})) + (6.21 / (\text{G:P ratio})^2)$ ,  $n = 6$ ,  $r^2 = 0.97$ ).

The adductor muscle area of feral oysters showed significant variations according to the differing turbidity sites of Bourgneuf Bay and the Loire Estuary (Figure 24, one-way ANOVA,  $df = 7$ ,  $F = 18.31$ ,  $p < 0.01$ ). Adductor muscle area was significantly largest at the LT sites (SNK-test,  $p < 0.05$ ), while it was smallest in the VHT conditions of Mindin (SNK-test,  $p < 0.01$ ). The proportion of the striated area of the adductor muscle was always higher than the smooth area at each site (Table 4, two-way ANOVA,  $df = 1$ ,  $F = 122.42$ ,  $p < 0.01$ ).



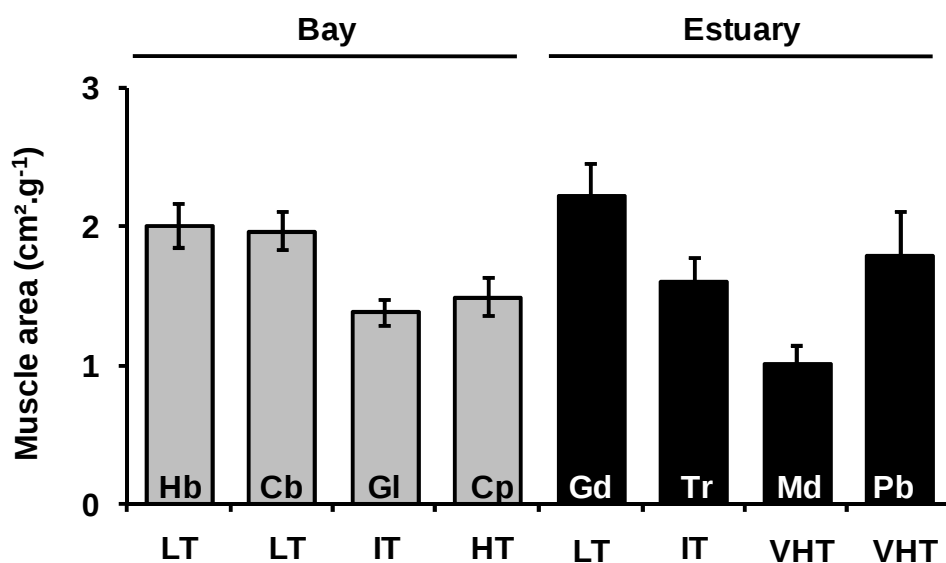
**Figure 22.** Mean areas ( $\pm$  95% CI;  $n = 30$ ) of palps (A), gills (B) and gill-to-palp (G:P) ratio (C) standardized to a feral oyster of 1 g dry tissue mass, from different turbid sites in Bourgneuf Bay and the Loire Estuary. Cb: Cobe's Rock; Cp: Coupelasse; Gd: Cape Saint-Gildas; Gl: Gresseloup; Hb: Cape Herbaudière; HT: high turbidity; IT: intermediate turbidity; LT: low turbidity; Md: Mindin; Pb: Paimboeuf; Tr: Tharon-Plage; VHT: very high turbidity.

**Figure 22.** Surfaces, standardisées pour 1 individu équivalent à 1 g de masse de tissus secs, des branchies (A) et des palpes (B), et rapports branchie/palpe (C) d'huîtres férales, *Crassostrea gigas*, provenant de différents sites turbides de la baie de Bourgneuf et de l'estuaire de la Loire. Cb : Rocher du Cobe; Cp : la Coupelasse; Gd :Pointe Saint-Gildas; Gl :Gresseloup; Hb : Pointe de l'Herbaudière; HT : site de forte turbidité; IT : site de turbidité intermédiaire; LT :site de faible turbidité; Md : Mindin; Pb : Paimboeuf; Tr : Tharon-Plage; VHT : site de très forte turbidité. Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%.



**Figure 23.** Relationship between gill-to-palp (G:P) ratios and suspended particulate matter (SPM) concentrations for feral oysters, *Crassostrea gigas*, living in different turbidity conditions in Bourgneuf Bay and the Loire Estuary on the French Atlantic Coast.

**Figure 23.** Relation entre les rapports branchie/palpe (G:P ratio) et les concentrations en matière en suspension (SPM) pour des huîtres férales, *Crassostrea gigas*, vivant dans des conditions de turbidités différentes dans la baie de Bourgneuf et dans l'estuaire de la Loire, sur la côte atlantique française.



**Figure 24.** Mean areas ( $\pm$  95% CI;  $n = 30$ ) of the adductor muscle standardized to a feral oyster of 1 g dry tissue mass, from the different turbid sites in Bourgneuf Bay and the Loire Estuary. Cb: Cobe's Rock; Cp: Coupelasse; Gd: Cape Saint-Gildas; Gl: Gresseloup; Hb: Cape Herbaudière; HT: high turbidity; IT: intermediate turbidity; LT: low turbidity; Md: Mindin; Pb: Paimboeuf; Tr: Tharon-Plage; VHT: very high turbidity.

**Figure 24.** Surface, standardisée pour 1 individu équivalent à 1 g de masse de tissus secs, du muscle adducteur d'huîtres férales, *Crassostrea gigas*, provenant de différents sites turbides de la baie de Bourgneuf et de l'estuaire de la Loire. Cb : Rocher du Cobe; Cp : la Coupelasse; Gd :Pointe Saint-Gildas; Gl :Gresseloup; Hb : Pointe de l'Herbaudière; HT : site de forte turbidité; IT : site de turbidité intermédiaire; LT :site de faible turbidité; Md : Mindin; Pb : Paimboeuf; Tr : Tharon-Plage; VHT : site de très forte turbidité. Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%.

## 2.3.6. Discussion

### 2.3.6.1. Relationship between SPM concentration and pallial organ areas

G:P varied inversely with turbidity (21.0 to 154 mg.l<sup>-1</sup> in the macrotidal bay; 24.1 to 630.4 mg.l<sup>-1</sup> in the estuary), suggesting a role of the relative pallial organ sizes in the tolerance of feral oysters to turbid conditions. However, taken separately, pallial organ variations showed some differences with the intraspecific trend observed in functionally homorhabdic bivalves (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Payne *et al.*, 1995a; Barillé *et al.*,

2000; Dutertre *et al.*, 2007). Indeed, while the *C. gigas* palp area clearly showed significant enlargement with increasing turbidity, gill area variations were less marked, despite a general decreasing trend in the bay (between IT and HT sites) and the adjacent estuary (between LT and HT sites). As it is recognized that feeding rates of suspension-feeding bivalves are related to feeding organ size (Kiørboe and Møhlenberg, 1981; Jones *et al.*, 1992; Franz, 1993; Pouvreau *et al.*, 1999; Dutertre *et al.*, 2007), smaller gills in high turbidity conditions have been hypothesized to reduce the amount of cleared particles to be processed by palps. In functionally homorhabdic bivalves, this mechanism probably avoids overloading the palps, which are the only pallial organ involved in post-capture particle selection and ingestion volume regulation (Beninger and St-Jean, 1997; Ward *et al.*, 1998). However, the capacity of oysters to qualitatively select particles first on their heterorhabdic gills, allows a reduction in the amount of particles transferred to the palps without a reduction in the clearance rate and/or gill area (Cognie *et al.*, 2003; Beninger *et al.*, 2008). Indeed, small gills have been linked with increases in clearance rate and particle selection efficiency, enhanced by large palps, in *C. gigas* exposed to high SPM concentrations (Dutertre *et al.*, 2007). Furthermore, it should be noted that in oysters, the inverse relationship between the annual mean SPM concentrations and the G:P ratios is chiefly the result of the palp area variations. However, although gill and palp sizes generally varied in opposite ways, at the most upstream site of the Loire Estuary, the lower salinity might have caused an increase in pallial organ cell volume (Neufeld and Wright, 1996), and, consequently, an overestimation of the gill and palp sizes.

Contrary to expectations, adductor muscle area tended to decrease when SPM concentration increased. In most oceanic LT sites, larger adductor muscle area could be associated with predator pressure due to the abundance of the starfish *Asterias rubens*, as previously observed in mussels (Figure 25; Hancock, 1965; Theisen, 1982). A larger striated part of the adductor muscle, which allows a more efficient ejection of waste particulate material from the pallial cavity, was attributed to the ability of the oyster genus *Crassostrea* to better withstand high seston loads than the genus *Ostrea* (Yonge, 1936). However, no variation in these relative proportions was observed related to the turbidity gradients, suggesting that the ejection of waste material from the pallial cavity is not a functional constraint for *C. gigas* living in high SPM concentrations.



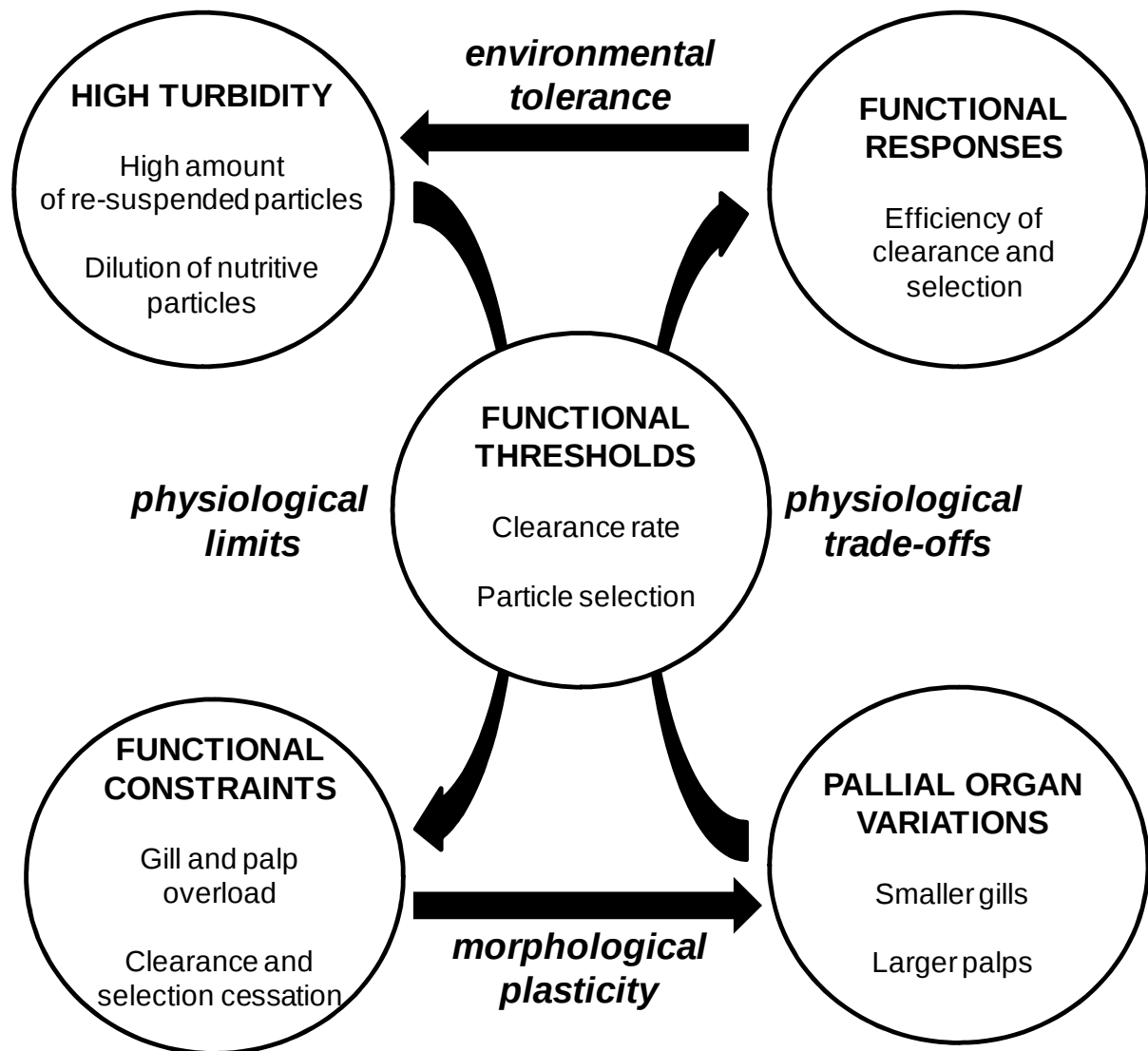
**Figure 25.** Predation, in laboratory, of the oyster *Crassostrea gigas* by the starfish *Asterias rubens*.

**Figure 25.** Prédation, en laboratoire, de l'huître *Crassostrea gigas* par l'étoile de mer *Asterias rubens*.

#### 2.3.6.2. Pallial organ index and feeding functional thresholds

The mean annual SPM concentrations used to establish the quantitative relationship were obtained from hourly-recording *in situ* probes, which measured the different sources of variability (seasonal, fortnightly and semidiurnal tidal cycles) to provide an unbiased integrated measurement of the turbidity conditions experienced by feral oysters. The significant relationship obtained between G:P ratios and SPM concentrations therefore suggests that, in *C. gigas*, gill and palp variations allow feeding and ingestion volume regulation at high turbidities (Bernard, 1974; Foster-Smith, 1978; Widdows *et al.*, 1979; Beninger *et al.*, 2008). Indeed, the particle-processing capacities of oyster heterorhabdic gills have only been demonstrated at low numerical SPM concentrations and could be insufficient, without augmentation by palp particle sorting, to optimize food intake at high turbidity conditions (Cognie *et al.*, 2003; Beninger *et al.*, 2008).

In bivalves, feeding constraints are commonly associated with functional thresholds of SPM concentrations, experimentally determined for particle retention (Palmer and Williams, 1980; Barillé *et al.*, 1993), filtration (Barillé *et al.*, 1997b; Navarro and Widdows, 1997; Velasco and Navarro, 2002) and selection (Pastoureaud *et al.*, 1996; Barillé *et al.*, 1997b; Navarro and Widdows, 1997). In oysters, some of these thresholds, such as the critical size of particles for entry into the openings of the gill principal filaments (Cognie *et al.*, 2003) and particle retention in the gill interfilamentary spaces (Palmer and Williams, 1980; Barillé *et al.*, 1993), have previously been directly related to the functionally heterorhabdic gill structure. During prolonged turbidity, the flexibility of the particle-processing surfaces of gills and palps could modify the functional thresholds and therefore the range of SPM concentrations tolerated by heterorhabdic bivalves (Figure 26). In high turbidity conditions, this induces a physiological - morphological trade-off, as the energetic cost of pallial organ size variations is compensated by optimization of the food intake (DeWitt *et al.*, 1998; Piersma and Drent, 2003; Bayne, 2004). Thus, the SPM concentration thresholds for the cessation of filtration ( $192 \text{ mg.l}^{-1}$ ) and pre-ingestive selection ( $150 \text{ mg.l}^{-1}$ ), determined for *C. gigas* living between IT and HT conditions (Barillé *et al.*, 1997b), could change as a function of habitat turbidity. It is thus evident that cost – benefit analysis of oyster pallial organ plasticity must be considered in any study of oyster energetics and production, and most importantly especially for the development of ecophysiological models which seek to quantify energy budgets and population management in turbid environments (Barillé *et al.*, 1997a; DeWitt *et al.*, 1998; Ernande *et al.*, 2004; Pouvreau *et al.*, 2006; van der Veer *et al.*, 2006).



**Figure 26.** Conceptual representation of feeding functional thresholds related to gill and palp size for oysters, *Crassostrea gigas*, living in a high turbidity environment.

**Figure 26.** Représentation conceptuelle des seuils fonctionnels d'alimentation liés à la taille des branchies et des palpes chez des huîtres, *Crassostrea gigas*, vivant dans un environnement turbide.

### 2.3.7. Acknowledgements

The authors wish to thank the Groupement d'Intérêt Public (GIP) Loire Estuaire for the environmental data recorded in the Loire Estuary.

## 2.4. Plasticité phénotypique des organes palléaux chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* en réponse aux variations temporelles de la turbidité

---

### 2.4.1. Introduction

Les populations férales de *C. gigas* sont susceptibles de présenter des variations des tailles des branchies et des palpes labiaux relatives aux conditions de turbidités des environnements dans lesquels elles se développent. Bien que les différences interspécifiques des tailles des organes palléaux puissent être d'origine génétique (Kiørboe et Møhlenberg, 1981; Compton *et al.*, 2007; 2008), de telles différences observées au sein d'une même espèce semblent avoir une origine phénotypique (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Payne *et al.*, 1995a; 1995b; Drent *et al.*, 2004). Par définition, la plasticité phénotypique constitue une réponse comportementale, physiologique ou morphologique graduelle et réversible d'un organisme vivant vis-à-vis des changements environnementaux (Piersma et Drent, 2003). La réalisation de transplantations réciproques entre sites caractérisés par des conditions de turbidités différentes a permis de mettre en évidence des variations phénotypiques des tailles des branchies et des palpes chez le Bivalve homorhabdite *M. edulis* (Essink *et al.*, 1989). Chez *C. gigas*, des variations saisonnières des masses relatives des branchies et des palpes ont été observées mais n'ont pas été mises en relation avec des modifications environnementales (Honkoop *et al.*, 2003; Piersma et Drent, 2003; Bayne et Honkoop, 2003).

Les écosystèmes tempérés côtiers sont caractérisés par de fortes variations des conditions environnementales, liées aux saisons, aux cycles de marées ou à l'action du vent (Mann, 1982). La fermeture hermétique de la coquille, par adduction des valves, est une réponse comportementale commune aux espèces de Bivalves vivant dans ces écosystèmes, qui leur permet de tolérer certaines conditions environnementales non optimales, voire défavorables pour leur survie (Shumway, 1996; Heinonen *et al.*, 1997). Lors d'une augmentation brutale de la concentration en MES, l'afflux de matériel particulaire sur les branchies et des palpes peut endommager les structures tissulaires, et/ou entraîner une surcharge et un arrêt du fonctionnement des surfaces de traitement des particules (Urrutia *et al.*, 1997). Cependant, la fermeture des valves est une réponse limitée dans le temps, car l'animal, isolé de la colonne d'eau, vit en anaérobiose et doit consommer ses réserves

énergétiques pour assurer le fonctionnement de son métabolisme (Akberali et Trueman, 1985). Des variations phénotypiques des tailles des branchies et des palpes labiaux constitueraient une réponse morphologique aux variations temporelles des concentrations en MES, évitant un jeûne et une anoxie prolongés. De plus, ces variations morphologiques permettraient également aux Bivalves d'optimiser la prise de nourriture, en fonction de leurs besoins énergétiques et de la quantité et de la qualité des MES (DeWitt *et al.*, 1998).

Afin d'étudier la dynamique de la plasticité phénotypique des organes palléaux de *C. gigas* en fonction des concentrations en MES, les variations des tailles des branchies et des palpes labiaux ont été suivies pendant une année, chez des huîtres férales provenant de deux sites où les paramètres environnementaux étaient enregistrés en continu. Une étude identique à également été menée sur des huîtres férales transplantées de façon réciproque dans chacun des deux sites.

## **2.4.2. Matériels et méthodes**

### **2.4.2.1. Transplantations réciproques et échantillonnage des huîtres férales**

En mars 2005, des huîtres férales adultes, s'étant développées *in situ* (naturellement fixées sur des substrats rocheux) dans la baie de Bourgneuf, ont été collectées dans un site de turbidité intermédiaire (TI, Gresseloup) et dans un site de forte turbidité (FT, La Coupelasse) (Haure et Baud, 1995; Figure 15). Afin de pouvoir suivre des lots identiques, les huîtres de chaque site ont été placées dans quatre poches ostréicoles en plastique ajourées ( $1,0 \times 0,5$  m, maille = 2 cm) contenant chacune 280 individus. Deux poches ont été laissées en place dans chacun des deux sites, tandis que les deux autres poches ont été transplantées réciproquement dans l'autre site afin d'être soumises à de nouvelles conditions de turbidité. Ainsi, certaines huîtres férales originaires de Gresseloup sont restées en place (huîtres TI) dans des conditions de turbidité intermédiaire tandis que d'autres ont été transplantées dans des conditions de turbidité plus forte (huîtres TFT). De même pour les huîtres férales originaires de la Coupelasse, certaines sont restées en place (huîtres FT) et d'autres ont été transplantées dans des conditions de turbidité plus faible (huîtres TTI). Dans chacun des deux sites, les poches contenant des huîtres transplantées ou non-transplantées ont été installées côte à côte, sur des tables ostréicoles, à 60 cm au-dessus du sédiment. Dans chacun des deux sites, 30 huîtres

transplantées et 30 huîtres non-transplantées ont été régulièrement échantillonnées de façon aléatoire dans chacun des deux sites, jusqu'en février 2006. Le jour même de leur prélèvement, les huîtres vivantes, maintenues à sec, ont été nettoyées à la main afin d'éliminer les épibiontes et les dépôts de sédiment, puis pesées et mesurées avec un pied à coulisse.

#### 2.4.2.2. Surfaces des organes palléaux et masse de tissus secs

L'estimation des surfaces des branchies et des palpes labiaux, ainsi que la détermination des rapports branchie/palpe (B/P) ont été réalisées suivant les protocoles décrits précédemment (cf. 2.2.4.2). Afin de limiter l'influence de la croissance et de la reproduction, les surfaces des organes palléaux ont ensuite été standardisées pour un individu équivalent à 1 g de masse de tissus secs (cf. 2.3.4.3).

#### 2.4.2.3. Enregistrement des paramètres environnementaux

Durant la période d'étude, des sondes multi-paramètres (YSI 6600), installées sur des tables ostréicoles à Gresseloup et à la Coupelasse, ont permis d'enregistrer les variations horaires de la température de l'eau, de la salinité (conductivité), de la concentration en MES (néphélométrie, NTU) et de la concentration en chlorophylle-*a* (fluorescence *in vivo*, %).

Des échantillons d'eau de mer, prélevés *in situ* dans chacun des deux sites durant deux cycles de marée, ont permis de calibrer les données obtenues à partir des enregistrements des sondes. Certains échantillons d'eau de mer ont été séchés à 60°C pendant 48 h puis calcinés à 450°C pendant 4 h afin d'obtenir respectivement les concentrations en MES et en matière inorganique particulaire (MIP) (Barillé-Boyer *et al.*, 2003), tandis que d'autres échantillons ont été analysés par spectrophotométrie, après extraction à l'acétone (Lorenzen 1967), afin de déterminer les concentrations en chlorophylle-*a*. Les concentrations en matière organique particulaire (MOP) correspondent à la différence entre les concentrations en MES et en MIP. Les données horaires provenant des sondes ont été transformées en concentrations en utilisant les équations de régression suivantes :

$$\text{MES (mg.l}^{-1}\text{)} = 1,44 \times \text{turbidité (NTU)} + 12,92, n = 17, r^2 = 0,93$$

$$\text{MOP (mg.l}^{-1}\text{)} = 0,18 \times \text{turbidité (NTU)} + 3,42, n = 17, r^2 = 0,94$$

$$\text{Chlorophylle-}a \text{ (}\mu\text{g.l}^{-1}\text{)} = 4,63 \times \text{fluorescence } in \text{ vivo } (\%) + 1,65, n = 16, r^2 = 0,92$$

La dilution et qualité de la nourriture, correspondant respectivement au pourcentage de MOP dans la MES et au pourcentage de chlorophylle-*a* dans la MOP, ont été calculées de la façon suivante :

$$\text{Dilution de la nourriture } (\%) = ( \text{MOP (mg.l}^{-1}\text{)} / \text{MES (mg.l}^{-1}\text{)} ) \times 100$$

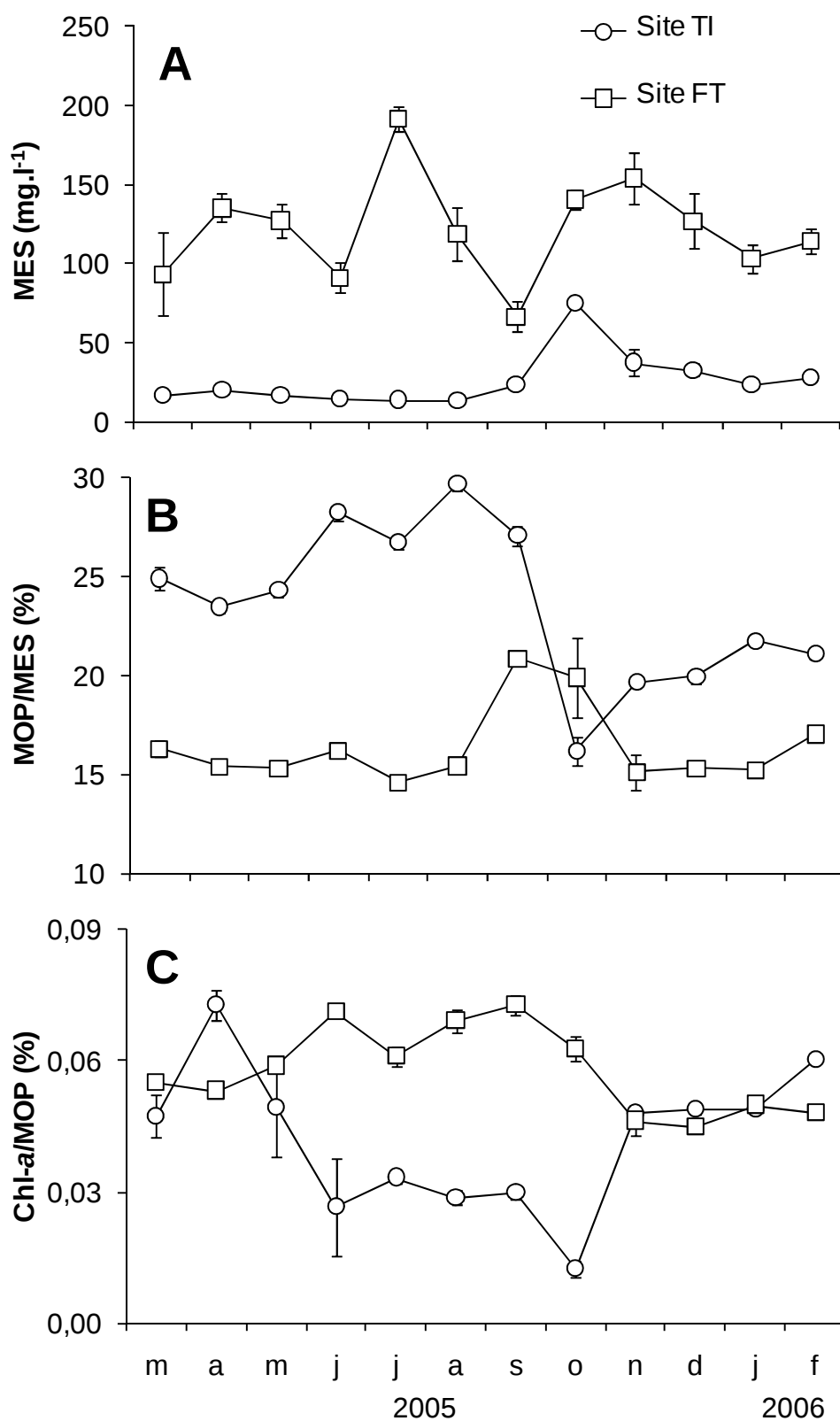
$$\text{Qualité de la nourriture } (\%) = ( \text{chlorophylle-}a \text{ (mg.l}^{-1}\text{)} / \text{MOP (mg.l}^{-1}\text{)} ) \times 100$$

### 2.4.3. Résultats

#### 2.4.3.1. Variations saisonnières des conditions environnementales

Dans les deux sites, les variations saisonnières de la température de l'eau sont similaires et correspondent au schéma général des écosystèmes tempérés de l'hémisphère nord. La salinité est également similaire entre les deux sites.

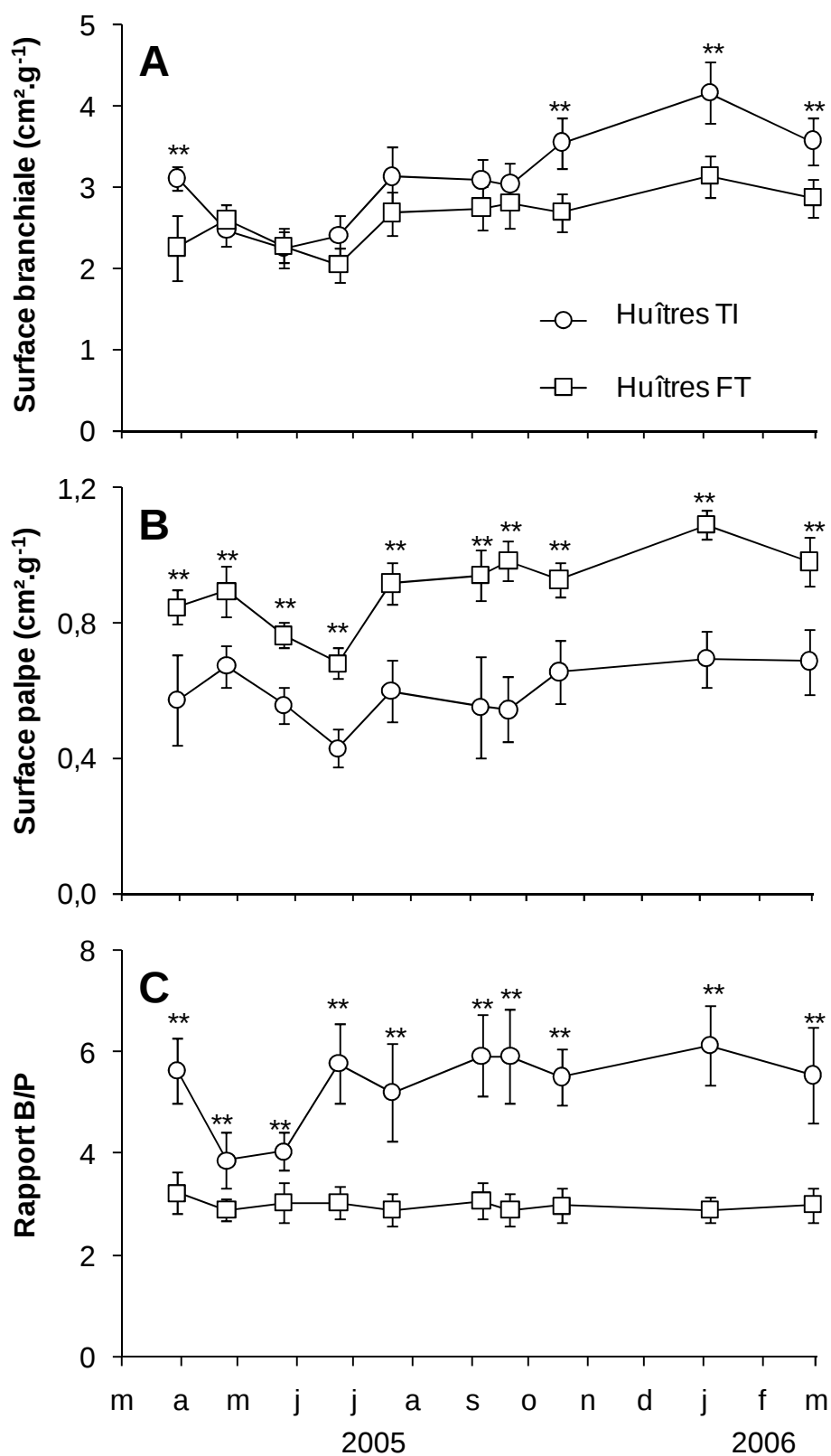
Entre mars 2005 et février 2006, les concentrations en MES ont toujours été nettement supérieures dans le site de forte turbidité (FT) par rapport au site de turbidité intermédiaire (TI) (Figure 26A; ANOVA à 2 facteurs;  $p < 0,01$ ). Dans le site FT, la concentration en chlorophylle-*a* est positivement corrélée à celle de la MES (Test de Spearman,  $r = 0,62$ ,  $p < 0,05$ ), mais ne montre pas de schéma saisonnier. En revanche, dans le site TI, la concentration en chlorophylle-*a* montre une corrélation négative avec la température de l'eau (Test de Spearman,  $r = - 0,79$ ,  $p < 0,01$ ), correspondant à des augmentations significatives de la concentration en chlorophylle-*a* au printemps et en automne, lorsque la température de l'eau est relativement basse. Durant la période d'étude, la dilution et la qualité de la nourriture montrent des différences significatives entre les deux sites (Figure 26B et C; ANOVA à 2 facteurs;  $p < 0,01$ ).



**Figure 26.** Variations (moyennes mensuelles  $\pm$  intervalles de confiance à 95%) des concentrations en matière en suspension (MES, A), de la dilution des particules organiques (MOP/MES, B) et de la qualité des particules organiques (Chl-a/MOP, C) dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, entre mars 2005 et février 2006.

#### 2.4.3.2. Variations saisonnières des surfaces des organes palléaux chez les huîtres non-transplantées (huîtres TI et FT)

Les variations temporelles des surfaces des branchies et des palpes des huîtres TI et FT, ainsi que du rapport B/P, présentent des différences significatives relatives aux sites et aux périodes de prélèvements (Figure 27; ANOVA à 2 facteurs;  $p < 0,01$ ). D'octobre à mars, la taille moyenne des branchies des huîtres TI est significativement plus grande que celle des huîtres FT (Figure 27A; tests SNK;  $p < 0,01$ ), alors qu'il n'y a pas de différence significative entre avril et septembre (tests SNK;  $p > 0,05$ ). Durant la période d'étude, la surface moyenne des palpes labiaux est toujours significativement plus importante chez les huîtres FT que chez les huîtres TI (Figure 27B; tests SNK;  $p < 0,01$ ). En revanche, le rapport B/P est significativement plus important chez les huîtres TI (Figure 27C; tests SNK;  $p < 0,01$ ). Chez ces huîtres, le rapport branchie/palpe diminue significativement, au printemps, entre mars et mai (tests SNK;  $p < 0,01$ ), augmente en juillet (SNK-test;  $p < 0,01$ ), puis ne montre plus de différences significatives jusqu'en février (tests SNK;  $p > 0,05$ ). Chez les huîtres FT, le rapport B/P ne présente pas de différences significatives durant toute l'année (tests SNK;  $p > 0,05$ ).



**Figure 27.** Variations temporelles des surfaces des branchies (A) et des palpes (B), ainsi que du rapport branchie/palpe (B/P, C), chez des huîtres fécales restées en place dans un site de turbidité intermédiaire (TI) et dans un site de forte turbidité (FT). Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%.

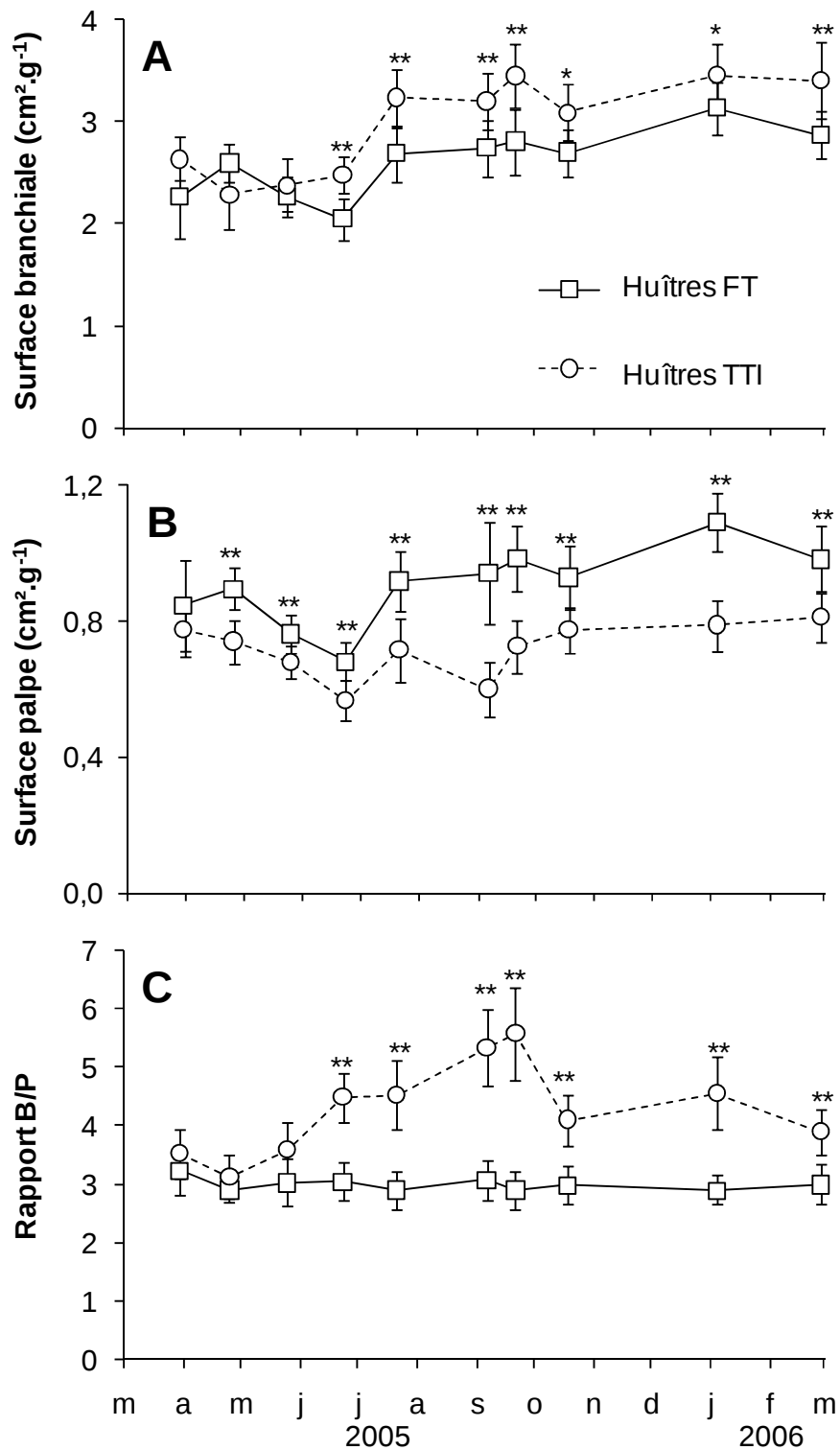
#### 2.4.3.3. Variations saisonnières des surfaces des organes palléaux chez les huîtres transplantées

##### 2.4.3.2.1. Huîtres transplantées sur le site de turbidité intermédiaire (huîtres TTI)

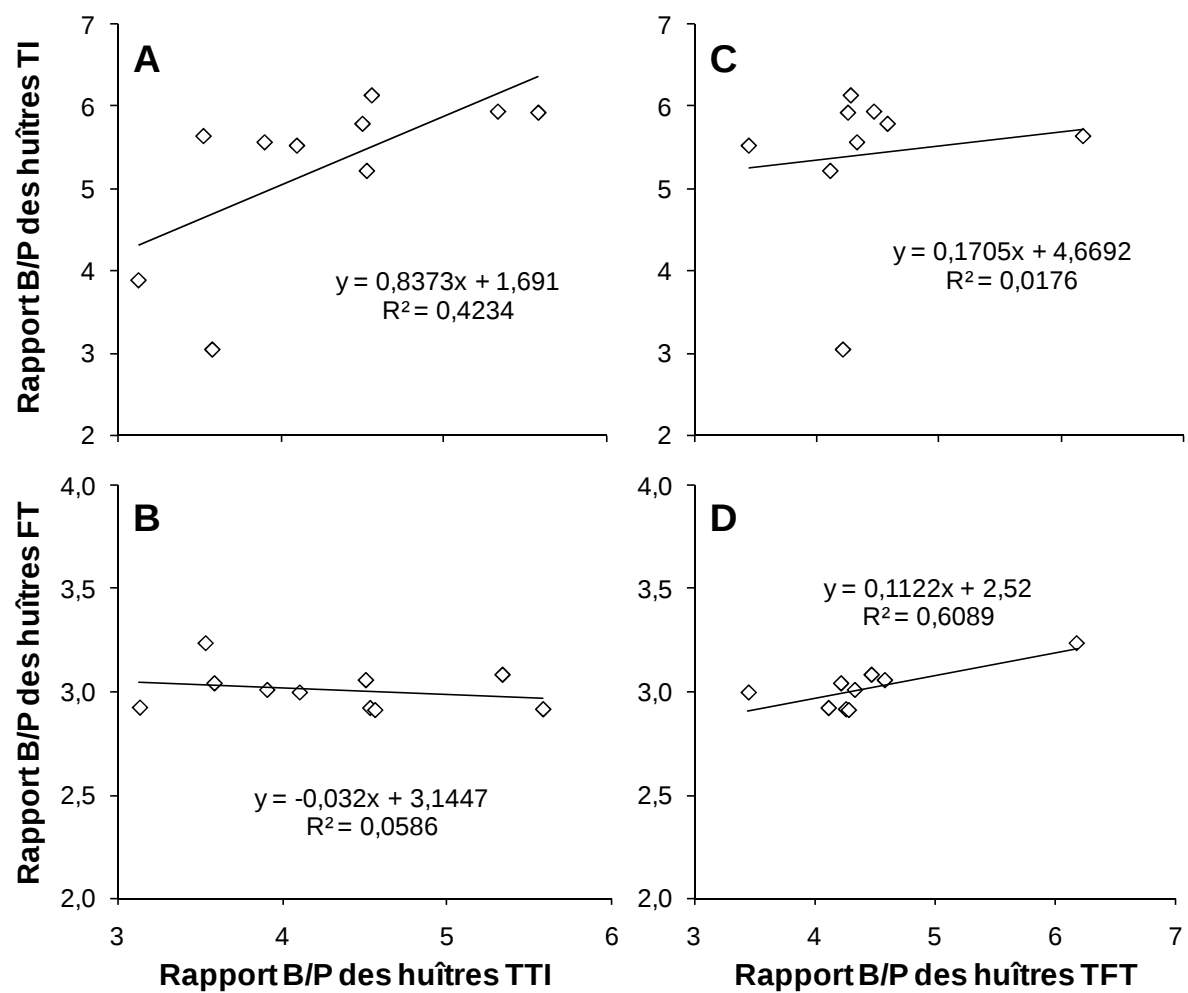
Durant la période d'étude, les surfaces des branchies et des palpes, ainsi que le rapport branchie/palpe, des huîtres TTI montrent des différences significatives vis-à-vis de celles des huîtres FT (Figure 28; ANOVA à 2 facteurs;  $p < 0,01$ ). Trois mois après la transplantation, la surface branchiale moyenne des huîtres TTI devient significativement plus grande que celle des huîtres FT (Fig. 28A; tests SNK;  $p < 0,05$ ). La surface moyenne des palpes labiaux des huîtres TTI devient significativement plus petite que celle des huîtres FT après un mois de transplantation (Figure 28B; tests SNK,  $p < 0,01$ ). Quatre mois après la transplantation, le rapport B/P moyen des huîtres TTI devient significativement supérieur à celui des huîtres FT (Figure 28C; tests SNK;  $p < 0,01$ ). La relation entre les variations saisonnières des rapports B/P des huîtres TI et des huîtres TTI est décrite par une régression linéaire significative (Figure 29A; Régression linéaire;  $n = 10$ ;  $R^2 = 0,42$ ;  $p < 0,05$ ). En revanche, cette relation n'est pas significative pour les huîtres FT et les huîtres TTI (Figure 29B; Régression linéaire;  $n = 10$ ;  $R^2 = 0,06$ ;  $p = 0,50$ ).

##### 2.4.3.2.2. Huîtres transplantées sur le site de forte turbidité (huîtres TFT)

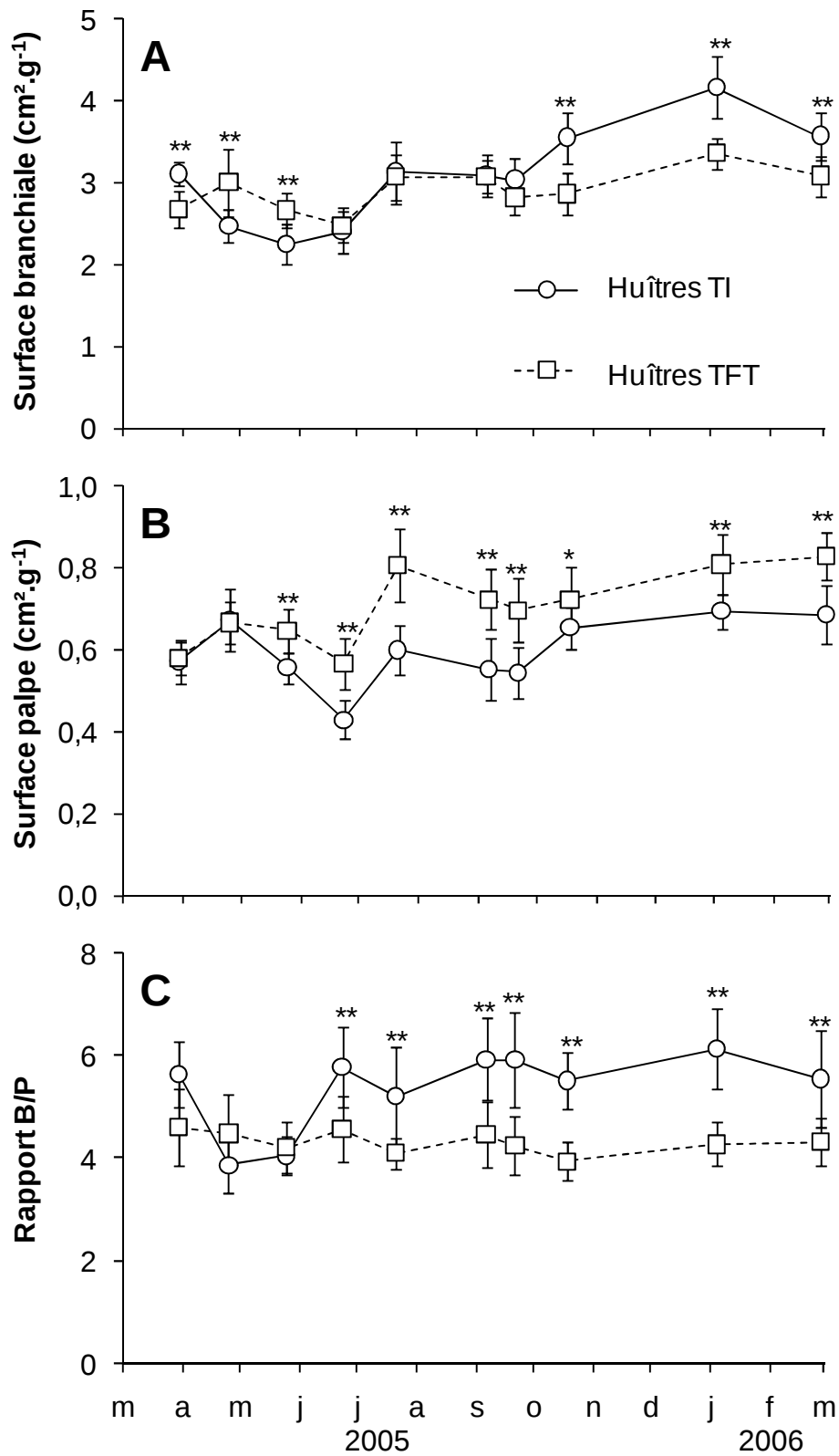
Durant la période d'étude, les surfaces des branchies et des palpes des huîtres TFT, ainsi que le rapport B/P, montrent des différences significatives vis-à-vis de celles des huîtres TI (Figure 30; ANOVA à 2 facteurs;  $p < 0,01$ ). Deux mois après la transplantation, la surface moyenne des palpes labiaux des huîtres TFT devient significativement supérieure à celle des huîtres IT (Figure 30B; tests SNK;  $p < 0,01$ ). Deux mois après la transplantation, le rapport B/P moyen des huîtres TFT devient significativement inférieur à celui des huîtres TI (Figure 30C; tests SNK;  $p < 0,01$ ). Une relation linéaire hautement significative a pu être établie entre les variations saisonnières des rapports B/P des huîtres FT et des huîtres TFT (Figure 29D; Régression linéaire;  $n = 10$ ;  $R^2 = 0,61$ ;  $p < 0,01$ ), mais pas entre les variations saisonnières des rapports B/P des huîtres TI et des huîtres TFT (Figure 29C; Régression linéaire;  $n = 10$ ;  $R^2 = 0,02$ ;  $p = 0,92$ ).



**Figure 28.** Variations temporelles des surfaces des branchies (A) et des palpes (B), ainsi que du rapport branchie/palpe chez des huîtres férales originaires d'un site de forte turbidité, et ayant été laissées en place (FT) ou transplantées dans un site de turbidité plus faible (TTI). Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%.



**Figure 29.** Régressions linéaires entre les rapports branchie/palpe (B/P) des huîtres férales transplantées ou non dans de nouvelles conditions de turbidité. FT : restées dans un site de forte turbidité; TFT; transplantées dans un site de forte turbidité; TI : restées dans un site de turbidité intermédiaire; TTI : transplantées dans un site de turbidité intermédiaire.



**Figure 30.** Variations temporelles des surfaces des branchies (A) et des palpes (B), et du rapport branchie/palpe chez des huîtres férales originaires d'un site de turbidité intermédiaire, et ayant été laissées en place (TI) ou transplantées dans un site de turbidité plus forte (TFT). Les valeurs moyennes sont données avec leurs intervalles de confiance à 95%.

#### 2.4.4. Discussion

##### 2.4.4.1. Variations temporelles des tailles des organes palléaux en fonction des concentrations en MES chez les huîtres non-transplantées

De même que pour la concentration en MES, la taille des palpes labiaux des huîtres férales demeure toujours nettement supérieure dans le site de forte turbidité par rapport au site de turbidité intermédiaire. Ceci confirme la relation existant entre la taille des palpes labiaux de *C. gigas* et la charge sestonique (Barillé *et al.*, 2000; Dutertre *et al.*, 2007), notamment concernant la nécessité pour les huîtres d'augmenter l'efficacité de la sélection pré-ingestive et de réguler le volume d'ingestion lorsque les particules organiques sont diluées par une quantité importante de matériel inorganique (Bernard, 1974; Foster-Smith, 1978; Beninger and St-Jean, 1997; Ward *et al.*, 1998).

La relation entre les variations de la taille des branchies et de la concentration en MES est beaucoup moins nette que pour les palpes labiaux. En effet, bien qu'entre juin et mars, la surface branchiale tende à être plus grande dans le site le moins turbide comme cela a été mis en évidence chez des Bivalves homorhabdites (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Payne *et al.*, 1995a; 1995b; Drent *et al.*, 2004), ce n'est pas le cas durant les mois d'avril et de mai. En avril, la diminution de la surface branchiale observée chez les huîtres vivant dans le site de turbidité intermédiaire coïncide avec une augmentation de la concentration en chlorophylle-*a*, correspondant à un bloom printanier de microalgues. Ce phénomène semble se produire également chez les huîtres qui ont été transplantées dans le site de turbidité intermédiaire. Ainsi, lorsque la quantité de nourriture n'est pas un facteur limitant, la réduction de la surface branchiale permettrait de diminuer l'énergie investie dans le traitement des particules, notamment concernant la production de mucus et les mouvements ciliaires, et d'allouer plus d'énergie vers la croissance et la reproduction.

Durant toute l'année, le rapport branchie/palpe est supérieur chez les huîtres férales vivant dans le site le moins turbide, montrant l'importance de la taille relative des palpes et des branchies dans la réponse des huîtres férales aux conditions de turbidité. En avril-mai, le rapport branchie/palpe des huîtres férales montre une diminution importante dans le site de turbidité intermédiaire consécutivement à la diminution de la surface branchiale. Ainsi, la réponse de la morphologie branchiale de *C. gigas* vis-à-vis de la ressource trophique est plus rapide que celle des palpes comme cela a été observé par Honkoop *et al.* (2003). Cependant,

contrairement à ce que ces auteurs suggéraient, à partir de mesures massiques réalisées sur des huîtres cultivées à Port Stephens (Australie), le rapport branchie/palpe diminue lorsque les conditions environnementales semblent favorables. Cette différence de réponse entre les deux études peut être le résultat de conditions expérimentales et/ou environnementales différentes. Dans le site de forte turbidité, les conditions trophiques varient significativement au cours de l'année alors que le rapport branchie/palpe reste relativement stable, aussi bien chez les huîtres restées en place (FT) ou transplantées (TFT) dans ce site. Ainsi, la forte variabilité des concentrations en matières en suspension sur des intervalles de temps relativement courts (heure, jour) ne permettrait pas une réponse graduelle de la morphologie des organes palléaux de *C. gigas*.

#### 2.4.4.2. Plasticité phénotypique des branchies et des palpes labiaux

Les variations morphologiques observées chez les huîtres transplantées et non-transplantées mettent en évidence la plasticité phénotypique des branchies et des palpes labiaux en fonction de la concentration en MES. En effet, la taille des organes palléaux impliqués dans l'alimentation des huîtres transplantées dans un milieu tend à converger vers celle des huîtres s'étant développées dans ce milieu. Ce phénomène est particulièrement visible au niveau des palpes labiaux dont la surface augmente lorsque les individus sont transplantés dans des conditions de turbidité plus fortes et diminue lorsqu'ils sont transplantés dans des conditions de turbidité plus faibles. Ceci confirme le rôle important joué par les palpes labiaux dans la tolérance de *C. gigas* vis-à-vis des fortes concentrations en MES (Barillé *et al.*, 2000; Dutertre *et al.*, 2007). Bien que les surfaces branchiales des huîtres transplantées tendent à augmenter lorsque la turbidité diminue, les variations de ces organes palléaux sont nettement moins marquées que celles des palpes labiaux. Contrairement à ce qui a été observé chez les Bivalves homorhabdites (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Payne *et al.*, 1995a; 1995b; Drent *et al.*, 2004), la concentration en MES n'influence que faiblement la surface branchiale de *C. gigas*. Ainsi, en effectuant un premier traitement des particules, la structure hétérorhabdite de la branchie des huîtres permet de réguler la quantité de matériel transféré vers les palpes labiaux sans que cela ne nécessite une réduction importante de la surface branchiale. Dès lors, l'augmentation de la taille des palpes des huîtres permettrait surtout d'améliorer, par le biais de la sélection pré-ingestive, la qualité du matériel particulaire ingéré plutôt que de réguler le volume d'ingestion. L'importance des tailles relatives des

branchies et des palpes dans la tolérance de *C. gigas* aux conditions de turbidité est mise en évidence par une meilleure corrélation entre les rapports branchie/palpes des huîtres soumises aux mêmes conditions environnementales, qu'entre ceux des huîtres originaires du même site.

#### **2.4.5. Conclusion**

La variation phénotypique des tailles des organes palléaux de *C. gigas* constitue un mécanisme de compensation vis-à-vis des variations temporelles de la qualité et de la quantité des MES, et semble être un des mécanismes favorisant la prolifération des huîtres fécales dans les écosystèmes tempérés turbides. Cette plasticité morphologique permet notamment de maintenir le fonctionnement des mécanismes de traitements pré-ingestifs des particules lors d'une exposition prolongée à un stress turbide, et, probablement, d'optimiser l'utilisation de la ressource trophique. Cet aspect temporel devrait être pris en compte dans l'utilisation de la taille relative des branchies et des palpes labiaux comme indicateur de l'acclimatation des huîtres, et plus largement des Bivalves, aux conditions de turbidité (Payne *et al.*, 1995b; Compton *et al.*, 2007; 2008).

**CHAPITRE 3 :**

**REPRODUCTION**

**ET RECRUTEMENT NATUREL**

**DE *CRASSOSTREA GIGAS***

**EN BAIE DE BOURGNEUF**



### 3.1. Contexte des travaux

---

La capacité des géniteurs à se reproduire dans les conditions naturelles et le recrutement de nouveaux individus viables sont deux aspects fondamentaux de la dynamique des populations qui conditionnent l'installation d'une espèce exotique dans un nouvel écosystème (Williamson, 1996). Cette espèce peut être considérée comme invasive lorsque l'augmentation de la densité des individus, liée à ces deux processus, entraîne des perturbations dans le fonctionnement de l'écosystème. Afin de déterminer l'origine d'une invasion biologique et d'en gérer les conséquences écologiques et économiques, il s'avère donc nécessaire de connaître les facteurs déterminant la stratégie de reproduction et le recrutement de l'espèce en question.

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'influence des conditions environnementales, notamment de la température de l'eau et de la ressource trophique, sur le cycle et l'effort de reproduction de *Crassostrea gigas* (Mann, 1979; Lubet, 1981; Ruiz *et al.* 1992; Lango-Reynoso *et al.* 2000; Chávez-Villalba *et al.* 2001; 2002; 2003; Fabioux *et al.*, 2005; Cardoso *et al.*, 2007). Cependant, les résultats obtenus en conditions contrôlées permettent d'améliorer le conditionnement des géniteurs *in vitro* mais ne reflètent pas la complexité des variations et des interactions environnementales auxquelles sont soumises les huîtres vivant dans des conditions naturelles. La variabilité des réponses écophysiologiques des individus issus de zones géographiques différentes et les difficultés méthodologiques liées aux études *in situ* ne permettent pas de déterminer les caractéristiques générales de la reproduction de *C. gigas*. La gestion des écosystèmes tempérés récemment envahis par cette espèce nécessite donc de définir avec précision la stratégie de reproduction des géniteurs et, notamment, de prendre en compte les capacités de reproduction des huîtres férales qui, en raison d'une acclimatation prolongée aux conditions environnementales, pourraient être différentes de celles des huîtres cultivées d'origine exogène. Ceci est particulièrement important dans les habitats turbides car l'influence des fortes concentrations en matière en suspension sur la reproduction de *C. gigas* n'a encore jamais été étudiée.

Lorsque les gonades ne peuvent pas être séparées du reste de la masse viscérale, comme c'est le cas chez la plupart des espèces de Bivalves, la détermination précise du cycle et de l'effort de reproduction requiert l'utilisation de techniques d'histologie qualitative et quantitative (Lucas, 1980; 1982a). L'observation microscopique des tissus et la stéréologie

permettent, en effet, de caractériser les différentes phases du cycle de reproduction et notamment certains événements écologiquement et physiologiquement importants telles que les émissions partielles ou l'atrésie des gamètes (DeVlaming *et al.*, 1982; Lucas et Beninger, 1985; Beninger, 1987). Associées à un enregistrement en continu des paramètres environnementaux, ces événements permettent d'établir la phénologie du cycle de reproduction des huîtres. Afin de quantifier avec précision la proportion de gamètes au sein des coupes histologiques d'huîtres, une méthode basée sur l'analyse d'images microscopiques a été mise au point et comparée avec les indices gono-somatiques généralement utilisés.

De même que pour la reproduction des géniteurs, l'influence des facteurs environnementaux sur le développement larvaire de *C. gigas* a principalement été démontrée lors d'expériences en laboratoire. Les hypothèses formulées quant à l'influence des modifications environnementales, et notamment du réchauffement climatique, sur la prolifération de *C. gigas* dans les zones côtières tempérées doivent donc d'être vérifiées *in situ*. Les données obtenues sur le recrutement naturel de cette espèce permettraient également de prédire les variations des quantités d'huîtres férales et leur impact sur les écosystèmes qu'elles envahissent.

L'objectif de ces travaux est d'étudier l'influence des variations environnementales, enregistrées *in situ* par des sondes multi-paramètres, sur la reproduction des huîtres adultes férales et cultivées, ainsi que sur le recrutement naturel de *C. gigas*, dans un écosystème côtier tempéré caractérisé par de fortes concentrations en matières en suspension.

## **3.2. Influence de la température, de la quantité et de la qualité du seston sur la reproduction des huîtres cultivées dans la baie de Bourgneuf**

---

D'après un article soumis le 09 mars 2009, accepté le 28 juillet 2009

**Aquatic Living Resources 22:319-329**

### **Temperature and seston quantity and quality effects on field reproduction of farmed oysters, *Crassostrea gigas*, in Bourgneuf Bay, France**

**Mickaël Dutertre, Peter G. Beninger, Laurent Barillé, Mathias Papin, Philippe Rosa, Anne-Laure Barillé, Joël Haure**

#### **3.2.1. Abstract**

The proliferation of the voluntarily-introduced cupped oyster, *Crassostrea gigas*, has attained the proportions of species invasion in many intertidal habitats in Europe, presumably resulting from successful reproduction of farmed individuals. It is thus imperative to better understand the reproductive characteristics of farmed oysters, since they are directly under human control. We quantified the dry tissue mass (DTM), gametosomatic index (GSI), and reproductive cycle of farmed oysters at two sites in Bourgneuf Bay, France, in relation to environmental parameters using continuously-recording probes in 2005 and 2006. The GSI was developed for this study, based on the actual area occupied by gametes, rather than the area of the gonad previously used for quantitative histological estimation of reproductive effort. The two sites, intermediate - (IT) and high-turbidity (HT), differed markedly in the amount and quality of particulate suspended matter, and also in fine-scale temperature variations. Oysters at both sites presented two spawning periods in both 2005 and 2006; Bourgneuf Bay is thus near the northernmost European limit for a 2-spawning cycle in *Crassostrea gigas*. Gonad maturation was initiated when spring water temperature reached 8-10°C, and gamete atresia occurred when water temperatures transiently dipped to 15-18°C.

Spawns, which occurred above 18°C, were timed by fine-scale water temperature variations. Particulate organic matter quality peaks, coinciding with gonad maturation, were related to DTM variations before spawning periods, for the IT oysters in both years, and for the HT oysters in 2006. The reproductive effort (GSI) of oysters was similar at both sites; however, the fates of the gametes differed according to site. At the first spawning, the IT oyster gamete emissions were +1 month delayed, as were peak water temperatures greater than 18°C, and more pronounced, compared to the HT site. Although the second spawning showed high proportions of atretic oocytes at both sites in both years, the IT oysters evacuated twice as many gametes as the HT oysters in 2005. The IT conditions therefore appear more suited to *Crassostrea gigas* gamete evacuation than the HT conditions.

### 3.2.2. Résumé

La prolifération de l'huître creuse volontairement introduite, *Crassostrea gigas*, a atteint les proportions d'une invasion biologique dans beaucoup d'habitats intertidaux en Europe, vraisemblablement en raison du succès de la reproduction des individus cultivés. Il est donc essentiel de mieux comprendre les caractéristiques de la reproduction des huîtres qui sont cultivées. Nous avons quantifié la masse de tissus secs (DTM), l'indice gaméto-somatique (GSI) et le cycle reproducteur des huîtres cultivées dans deux sites de la baie de Bourgneuf, en France, en relation avec les paramètres environnementaux enregistrés en continu par des sondes, en 2005 et 2006. L'indice GSI, développé pour cette étude, est basé sur l'aire réelle occupée par les gamètes, et non celle de la gonade utilisée antérieurement en histologie quantitative pour estimer l'effort de reproduction. Les deux sites, de turbidité intermédiaire (IT) et de forte turbidité (HT), diffèrent nettement dans la quantité et la qualité de la matière en suspension, et également dans la variabilité horaire de la température. Les huîtres présentent, dans les deux sites, deux périodes de pontes en 2005 et en 2006; la baie de Bourgneuf est donc proche de la limite nord du cycle à deux pontes chez *Crassostrea gigas*. La maturation des gonades est initiée quand la température printanière de l'eau atteint 8-10°C, et l'atrésie des gamètes se produit quand les températures de l'eau descendent transitoirement sous 15-18°C. Les pontes, qui sont induites au-dessus de 18°C, sont rythmées par la variabilité horaire de la température de l'eau. Des pics de qualité de la matière organique particulaire, coïncidant avec la maturation des gonades, sont liés aux variations de la DTM avant les périodes de pontes pour les huîtres IT en 2005 et 2006, et pour les huîtres HT en

2006. L'effort de reproduction (GSI) des huîtres est similaire dans les deux sites; cependant, le devenir des gamètes diffère suivant le site. Lors de la première ponte, les émissions de gamètes des huîtres IT sont décalées de un mois, comme le sont les pics de température supérieurs à 18°C, et plus prononcées, comparées au site HT. Bien que la deuxième ponte montre une grande proportion de gamètes atrésiques dans les sites en 2005 et 2006, les huîtres IT libèrent deux fois plus de gamètes que les huîtres HT en 2005. Les conditions IT semblent donc être plus favorables à l'émission des gamètes chez *Crassostrea gigas* que les conditions HT.

### 3.2.3. Introduction

Native populations of bivalve molluscs, which are one of the main components of estuarine and coastal ecosystems, have been exploited by humans since at least the European Mesolithic (Dupont and Gruet, 2005). In the twentieth century, exogenous bivalve species were introduced to European coasts for aquaculture purposes, such as the Japanese littleneck clam *Tapes philippinarum* or the robust, fast-growing Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* (Grizel and Héral, 1991; Flassch and Leborgne, 1992; Reise, 1999; Gosling, 2003; Ruesink *et al.*, 2005). However, in the past decade, the expansion of the biogeographic distribution of *C. gigas* in Europe, unrelated to new introductions, as well as increasing population densities, suggests the proliferation of feral populations (i.e. wild populations originally derived from farmed populations – Grizel and Héral, 1991; Drinkwaard, 1999; Wehrmann *et al.*, 2000; Diederich *et al.*, 2005; Smaal *et al.*, 2005; Cognie *et al.*, 2006). Considering that oysters are important ecosystem engineers (see Ruesink *et al.*, 2005 for review), increasing proliferation of feral oyster stocks could significantly impact coastal ecosystems around the world (Diederich, 2006; Kochmann *et al.*, 2008; Troost *et al.*, 2009). A firm understanding of the reproductive biology of farmed *C. gigas* stocks is therefore particularly important (Brandt *et al.*, 2008; Thresher *et al.*, 2009), since not only are they assumed to be at the origin of the feral populations, but they are the only reproductive component directly under human control.

Gametogenesis, the central process of reproduction in bivalves, is predominantly influenced by both food availability (quality and quantity of suspended particulate matter - SPM) and water temperature (Andrews, 1979; Sastry, 1979; Mann, 1979; Ruiz *et al.*, 1992; Lango-Reynoso *et al.*, 2000; Chávez-Villalba *et al.*, 2001; 2002; 2003b; Fabioux *et al.*, 2005).

In *C. gigas*, reproductive events, such as gonad maturation and spawns, have been related to water temperature thresholds, themselves used to elaborate predictive growth models in order to manage field oyster populations (Barillé, 1997; Kobayashi *et al.*, 1997; van der Meer, 2006). However, due to different laboratory conditioning, geographic locations and environmental monitoring accuracy, these thresholds vary over a wide range of temperature values (Mann, 1979; Ventilla, 1984; Dinamani, 1987; Shpigel, 1989; Fabioux *et al.*, 2005; Cardoso *et al.*, 2007). This range could conceivably be reduced using more precise and finer-scale temperature measurements.

Bivalve reproductive characteristics have not heretofore been investigated in relation to high turbidity conditions, which dominate in several of the habitat types, like estuaries and extensive intertidal mudflats of the French Atlantic coast and Wadden Sea, in which *C. gigas* currently proliferates (Cognie *et al.*, 2006; Diederich, 2006). The quantity and quality of the suspended particulate matter (SPM) greatly influence food quality and quantity available to *C. gigas* (Berg and Newell, 1986; Fegley *et al.*, 1992; Barillé *et al.*, 1997b; Beninger *et al.*, 2008b). In addition to enhanced temperature measurements, the use of continuously-recording environmental parameters could improve the understanding of the SPM dynamics, particularly in relation to *C. gigas* reproductive strategy in high-turbidity habitats.

Two broad approaches may be used in the field study of the bivalve reproductive cycle: monitoring dry tissue mass (gravimetric condition indices) and histological analysis of gonad activity (Thompson, 1977; Sastry, 1979; Robinson *et al.*, 1981; DeVlaming *et al.*, 1982; Beninger and Lucas, 1984; Beninger, 1987; Cardoso *et al.*, 2007). Quantitative histological analysis conventionally estimates either the proportions of tissue types within the gonad (stereology), or the areas of gonad relative to the areas of somatic tissue (gonosomatic ratio, GSR). However, the latter technique does not differentiate between actual area occupied by gametes, and that occupied by the variable intra-acinal lumen and inter-acinal tissue. It is therefore necessary to devise an area-based technique that successfully discriminates gametic tissue only.

In order to elucidate the field reproductive biology of farmed *Crassostrea gigas* and the eventual influence of temperature and seston quantity and quality, we studied the reproductive characteristics of farmed oysters at two sites in Bourgneuf Bay, an important oyster-farming area characterized by a marked gradient of SPM concentration (Barillé *et al.*, 2000), using continuously-recording environmental probes. A new index was developed to improve quantitative histology in which the "real" area occupied by gametes is compared to the total visceral mass.

### 3.2.4. Materials and methods

#### 3.2.4.1. Field sites and determination of environmental characteristics

In 2005 and 2006, two oyster-farming sites in Bourgneuf Bay were selected for comparisons, based on marked turbidity differences (Barillé *et al.*, 2000, Figure 15). The northern high turbidity (HT) site, La Coupelasse (47° 1' 34.7''N, 2° 1' 55.9''W), is a mudflat compared to the coarser sand-mud bottom of the southern intermediate turbidity (IT) site, Gresseloup (46° 57' 2.6''N, 2° 7' 53.4''W). At the HT site, more than 44% of the total weight of the sediment corresponds to a size fraction below 44 µm, vs. less than 10% at the IT site. Multi-parameter water quality probes (YSI 6600) were fixed to oyster racks installed at each sampling site, to hourly record temperature (°C), salinity (conductivity, psu), suspended particulate matter (SPM) concentration (nephelometry, NTU) and chlorophyll-*a* concentration (fluorometry, %). The corresponding monthly means were plotted with their 95% confidence intervals (n = 720).

Field calibrations were performed, both simultaneously from probe records, and from natural seawater samples collected at each oyster sampling site over two tidal cycles. Some seawater samples were dried at 60°C for 48 h and then ashed at 450°C for 4 h (Barillé-Boyer *et al.*, 2003) to obtain SPM, particulate inorganic (PIM) and organic (POM) matter concentrations (mg.l<sup>-1</sup>) respectively, while other samples were analysed by spectrophotometry after extraction with acetone (Lorenzen, 1967) to determine chl-*a* concentrations (µg.l<sup>-1</sup>). Hourly probe records were then transformed into concentrations using the following regression equations:

$$\text{SPM (mg.l}^{-1}\text{)} = 1.44 \times \text{turbidity (NTU)} + 12.92, n = 17, r^2 = 0.93$$

$$\text{POM (mg.l}^{-1}\text{)} = 0.18 \times \text{turbidity (NTU)} + 3.42, n = 17, r^2 = 0.94$$

$$\text{Chl-}a \text{ (}\mu\text{g.l}^{-1}\text{)} = 4.63 \times \text{fluorometry (\%)} + 1.65, n = 16, r^2 = 0.92$$

Food availability and quality, herein defined as the percent of organic content of SPM (POM:SPM ratio) and the percent of chl-*a* content of POM (chl-*a*:POM ratio), respectively, were calculated as follows:

$$\text{POM:SPM (\%)} = ( \text{POM (mg.l}^{-1}\text{)} / \text{SPM (mg.l}^{-1}\text{)} ) \times 100$$

$$\text{Chl-}a\text{:POM (\%)} = ( \text{chl-}a \text{ (mg.l}^{-1}\text{)} / \text{POM (mg.l}^{-1}\text{)} ) \times 100$$

PIM was calculated as SPM – POM.

#### 3.2.4.2. Oyster sampling, biometric measurements and tissue fixation

At the beginning of the study, in February 2005, adult farmed oysters (18 - month hatchery-born spat, origin Vendée Naissain, shell length =  $69.2 \pm 4.9$  SD mm) were installed, at both the northern and southern sites, in  $1.0 \times 0.5$  m plastic, 20 mm mesh bags and tied to oyster racks ( $3.0 \times 1.0$  m) at 0.6 m above the bottom. Each bag contained 280 individuals, corresponding to 5 - 10 kg of oysters. At each site, 45 farmed oysters were then sampled once monthly until March 2006 and then twice monthly until July 2006. The oysters, kept dry to avoid artificial spawns, were immediately transferred to the laboratory after collection and manually cleaned of their epibionts.

For each oyster, shell dimensions were measured with a caliper. Soft tissues of 30 oysters were then immediately recovered in pre-weighed aluminium cups and dried at 60°C for 48h to obtain dry tissue mass (DTM), while soft tissues of the other 15 oysters were fixed in cold Bouin's solution for histological purposes (Martoja and Martoja-Pierson 1967).

#### 3.2.4.3. Histological preparation

After fixation, a 0.5 mm-thick slice of the visceral mass was removed from the region along the line connecting the left and right palp-gill junctions (Morales-Alamo and Mann 1989). The tissue was rinsed under running water overnight, dehydrated and embedded in paraffin. Ten 7 µm sections were performed per individual, and the sections were rehydrated, stained with a modified Masson's trichrome and dehydrated before being mounted on glass slides in mounting medium (Beninger *et al.*, 2001). Mounted sections were then dried at 60°C for at least one week.

#### 3.2.4.4. Gametosomatic index (GSI)

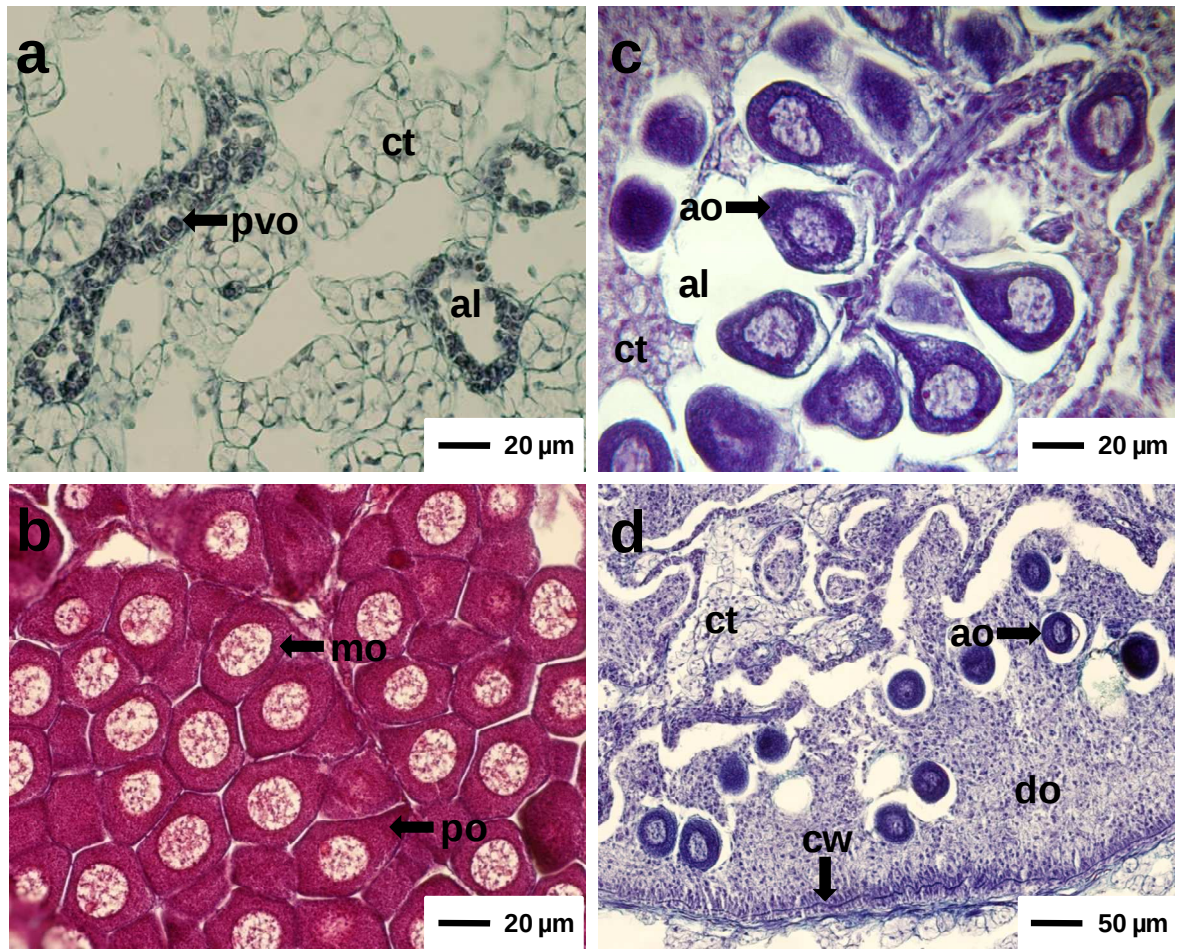
In the present study we determined a gametosomatic index (GSI), which compared area of gametes to area of the total visceral mass on histological sections. The sections were digitized (Sony Cyber-Shot 7.2 MegaPixels) and stored for image analysis. LUCIA 4.80 software (Image Analysis Systems) was used to measure the whole visceral mass area (VMA), excluding gills and palps, as well as the area filled by gametes (gamete area, GA), in the 10 histological sections for each oyster. GSI, corresponding to the proportion of gamete area on the histological sections, was then calculated as:

$$\text{GSI (\%)} = (\text{GA } (\mu\text{m}^2) / \text{VMA } (\mu\text{m}^2)) \times 100$$

Individual GSI means were averaged for each sampling date and each site.

#### 3.2.4.5. Gonadal tissue variations during the reproductive cycles

Histological sections were observed (200 x) on a computer screen through a video camera mounted on an optical microscope (Olympus AX70). A 10 × 10 point matrix was used to quantify the proportions of different types of tissue with stereological counts, which reflect variations in the different stages of the reproductive cycle (Beninger, 1987; Morvan and Ansell, 1988; Pazos *et al.*, 1996; Beninger *et al.*, 2001). Five gonadal tissue categories were identified for stereological purposes: interacinal connective tissue, developing gametes, mature gametes, acinal lumen and degenerating gametes (Figure 31). As the loose nature of female gonad tissue can lead to artefacts in the proportion of acinal lumen, stereological counts were performed in three different gonadal regions in three histological sections per individual, excluding the regions of evacuating ducts. Significant variations in tissue proportions can therefore be attributed to natural mechanisms, while spawns are revealed by increases of the proportions of acinal lumen, as well as by the observations of free mature gametes in the evacuating ducts of the gonads. The percentage of each tissue was determined in relation to total gonadal tissue and individual means were subsequently averaged for each sampling date and each site.



**Figure 31.** Photomicrographs of oocytes in gonads of *Crassostrea gigas*. A: Pre-vitellogenic oocytes; B: Mature oocytes; C: Atretic oocytes in acinal lumen; D: Atretic oocytes in evacuating ducts. al: acinal lumen, ao: atretic oocyte, ct: connective tissue, cw: ciliated wall of evacuating duct, do: degenerated oocytes, mo: mature oocyte, po: pedunculated oocyte; pvo, pre-vitellogenic oocyte.

**Figure 31.** Photographies au microscope d'ovocytes dans les gonades de *Crassostrea gigas*. A : Ovocytes pré-vitellogéniques; B : Ovocytes matures; C : Ovocytes atrésiques dans la lumière acinale; D : Ovocytes atrésiques dans les canaux évacuateurs. al: lumière acinale, ao: ovocyte atrésique, ct: tissu conjonctif, cw: paroi ciliée d'un canal évacuateur, do: ovocytes dégénérés, mo: ovocyte mature, po: ovocyte pédonculé; pvo, ovocyte pré-vitellogénique.

#### 3.2.4.6. Statistical analysis

Sigmastat 3.1 (Systat software) was used to check the normality and heteroscedasticity of data distributions, and subsequent statistical analyses. Annual means and seasonal variations of environmental factors were compared between sites by Student t-tests and two-way ANOVA, respectively. Analyses of data from biometric measurements (DTM) and histological determinations (GSI and stereological counts) were performed using two-way parametric ANOVA. Student-Newman-Keuls (SNK) tests were used, where justified, in *a posteriori* analyses. Relationships between environmental factors within each site, as well as correlations between reproductive data, were determined with Spearman correlation tests (Conover, 1999).

### 3.2.5. Results

#### 3.2.5.1. Environmental characteristics

##### 3.2.5.1.1. Water temperature and salinity

Water temperature variations at the two sites corresponded to the general pattern of a northern temperate nearshore ecosystem. The annual mean water temperature was equivalent at both oyster-farming sites, 13.8 – 13.9°C, in 2005 and 2006 (Table 5, t-test,  $p = 0.95$  and  $p = 0.99$ , respectively). Fine – scale variations of water temperature, revealed by the calculations of the daily amplitudes, showed significant differences related to both site and year (Table 6, two-way ANOVA,  $p < 0.01$ ). Daily water temperature amplitude was significantly higher at the HT site in both years (SNK-test,  $p < 0.01$ ), and in 2005 for both sites (SNK-test,  $p < 0.01$ ).

The annual mean water salinity was also equivalent at the HT and IT sites in 2005 and 2006 (Table 5, t-test,  $p = 0.93$  and  $p = 0.10$ , respectively). Salinity over the sampling period varied from 29.0 to 35.3 psu.

**Table 5.** Annual means ( $\pm$  standard deviations) of environmental factors at the northern high turbidity (HT) and southern intermediate turbidity (IT) sites in Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006. Chl-*a*: chlorophyll-*a*, PIM: particulate inorganic matter, POM: particulate organic matter, WT: water temperature. T-tests were performed to compare annual mean values of environmental factors between sites.

**Tableau 5.** Moyennes annuelles ( $\pm$  écarts-types) des facteurs environnementaux dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Chl-*a*: chlorophylle-*a*, PIM: matière inorganique particulaire, POM: matière organique particulaire, WT: température de l'eau. Des tests-t ont été réalisés pour comparer les valeurs annuelles moyennes des facteurs environnementaux entre les sites.

|      |                | PIM<br>(mg.l <sup>-1</sup> ) | POM<br>(mg.l <sup>-1</sup> ) | Chl- <i>a</i><br>(µg.l <sup>-1</sup> ) | WT<br>(°C)     | Salinity<br>(psu) |
|------|----------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------------|----------------|-------------------|
| 2005 | HT             | 107.2 $\pm$ 29.4             | 16.9 $\pm$ 4.1               | 7.8 $\pm$ 1.5                          | 13.8 $\pm$ 6.0 | 33.3 $\pm$ 0.7    |
|      | IT             | 21.7 $\pm$ 15.8              | 5.1 $\pm$ 2.2                | 1.8 $\pm$ 0.9                          | 13.9 $\pm$ 5.6 | 33.3 $\pm$ 1.6    |
|      | <i>p</i> value | < 0.01                       | < 0.01                       | < 0.01                                 | 0.95           | 0.93              |
| 2006 | HT             | 86.2 $\pm$ 24.3              | 17.6 $\pm$ 11.7              | 9.0 $\pm$ 2.3                          | 13.9 $\pm$ 6.0 | 32.6 $\pm$ 1.3    |
|      | IT             | 25.6 $\pm$ 13.0              | 6.3 $\pm$ 2.6                | 3.6 $\pm$ 1.3                          | 13.8 $\pm$ 5.6 | 31.9 $\pm$ 2.2    |
|      | <i>p</i> value | < 0.01                       | < 0.01                       | < 0.01                                 | 0.99           | 0.10              |

**Table 6.** Annual means ( $\pm$  standard deviations) of daily water temperature amplitude at the northern high turbidity (HT) and southern intermediate turbidity (IT) sites in Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006.

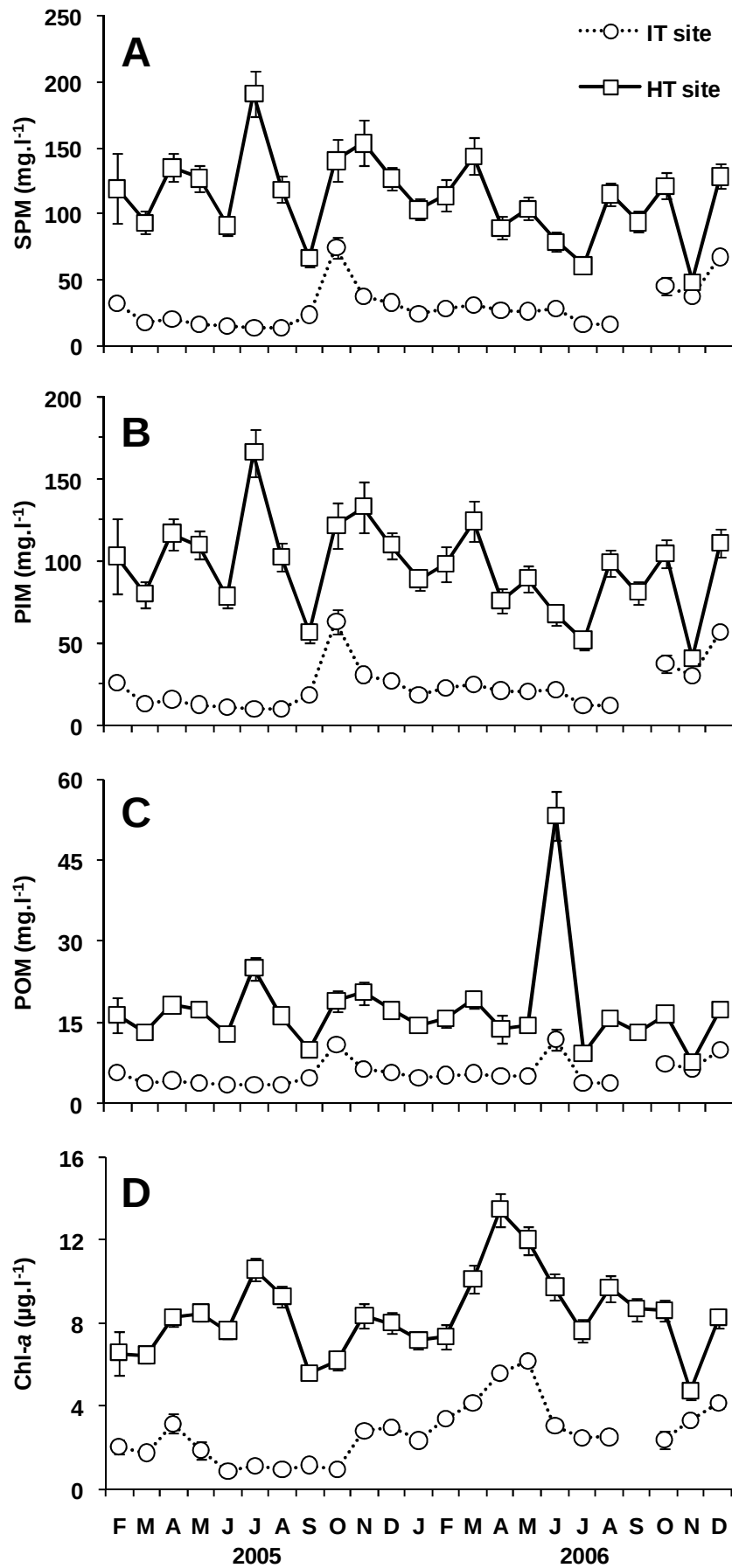
**Tableau 6.** Moyennes annuelles ( $\pm$  écarts-types) de l'amplitude journalière de la température de l'eau dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006.

|      |    | n<br>(days) | Daily water temperature amplitude<br>(°C) |
|------|----|-------------|-------------------------------------------|
| 2005 | HT | 278         | 3.43 $\pm$ 2.01                           |
|      | IT | 251         | 2.39 $\pm$ 1.63                           |
| 2006 | HT | 349         | 2.23 $\pm$ 1.40                           |
|      | IT | 347         | 1.78 $\pm$ 1.29                           |

#### 3.2.5.1.2. Seston quantity and quality

Over the sampling period, SPM, PIM, POM and chl-*a* concentrations were always higher at the HT site compared to the IT site (Figure 32, two-way ANOVA,  $p < 0.01$ ). The annual mean PIM concentrations at the HT site were nearly five times higher in 2005 and three times higher in 2006, compared to the IT site (Table 5, t-test,  $p < 0.01$ ). The chl-*a* concentration showed a positive correlation with SPM concentration at the HT site (Spearman test,  $r = 0.62$ ,  $p < 0.05$ ), with no discernable seasonal pattern. However, at the IT site, chl-*a* concentration was negatively correlated with water temperature (Spearman test,  $r = -0.79$ ,  $p < 0.01$ ), corresponding to spring and autumnal increases in chl-*a* concentration when the water temperature was relatively low.

The POM:SPM ratio was higher at the IT site in 2005 and 2006 (Figure 33A, two-way ANOVA,  $p < 0.01$ ). The chl-*a*:POM ratio was higher at the HT site in 2005, while no significant difference was reported in 2006 (Figure 33B, two-way ANOVA,  $p < 0.01$  and  $p = 0.81$ , respectively).



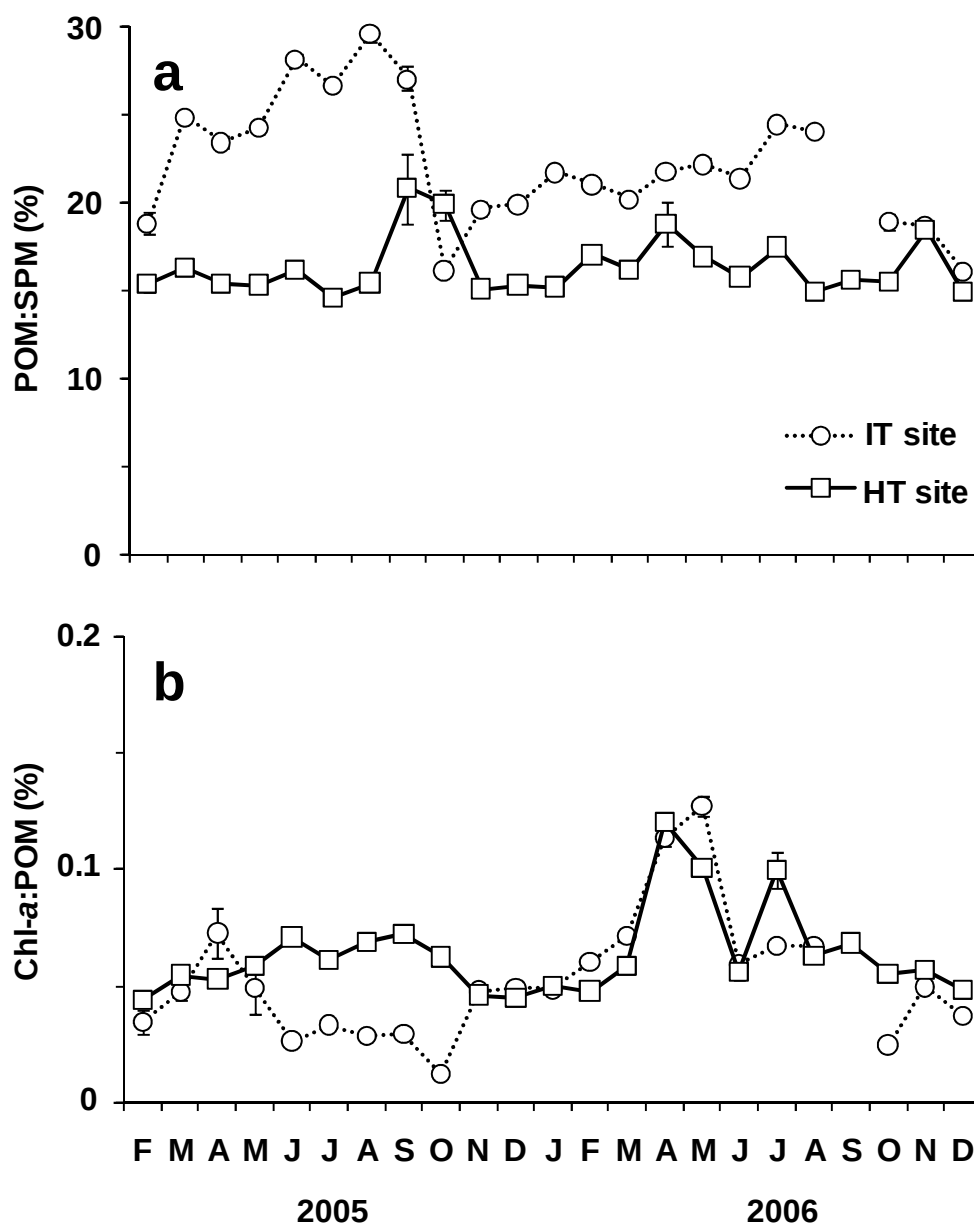
**Figure 32.** Variations of suspended particulate matter (SPM, A), particulate inorganic matter (PIM, B), particulate organic matter (POM, C) and chlorophyll-*a* (chl-*a*, D) concentrations (monthly means  $\pm$  95% CI) at northern high turbidity (HT) and southern intermediate turbidity (IT) sites of Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006. Data for September 2006 are not reported for IT site, due to technical problems with the monitoring probe.

**Figure 32.** Variations (moyennes mensuelles  $\pm$  intervalles de confiance à 95%) des concentrations en matière en suspension (SPM, A), en matière inorganique particulaire (PIM, B), en matière organique particulaire (POM, C) et en chlorophylle-*a* (chl-*a*, D) dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Les données pour septembre 2006 n'ont pas été enregistrées dans le site IT à cause d'un problème technique au niveau des sondes.



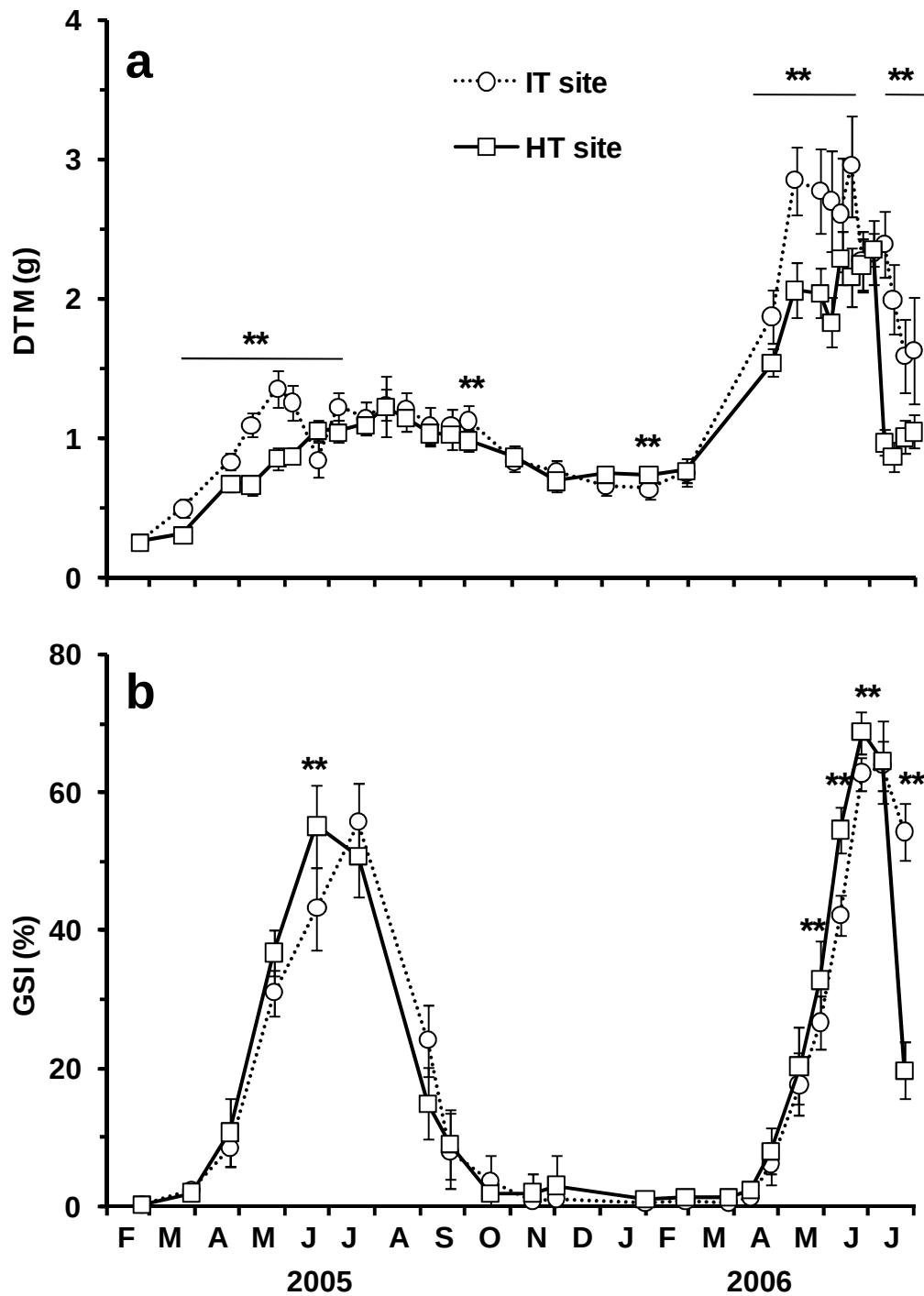
#### 3.2.5.1.3. Dry tissue mass (DTM) and gametosomatic index (GSI)

In 2005 and 2006, oyster DTM and GSI showed significant differences between sites (Figure 34 and Table 7). From March to July 2005, oysters from the IT site showed significant higher monthly DTM than those from the HT site (SNK-tests,  $p < 0.05$ ). Same differences between sites were observed from April to August 2006 (SNK-tests,  $p < 0.05$ ). On the other hand, comparing IT and HT sites, monthly oyster DTM were not statistically different between August 2005 and March 2006 (SNK-tests,  $p > 0.05$ ). As revealed by the GSI (Figure 34B), fine-scale variations of DTM were related to the reproductive cycles of the oysters.



**Figure 33.** Availability (POM:SPM, monthly means  $\pm$  95% CI, a) and quality (chl-*a*:POM, monthly means  $\pm$  95% CI, b) of organic particles at northern high turbidity (HT) and southern intermediate turbidity (IT) sites of Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006. Chl-*a*: chlorophyll-*a*, POM: particulate organic matter, SPM: suspended particulate matter. Data for September 2006 are not reported for IT site, due to technical problems with the monitoring probe.

**Figure 33.** Disponibilité (POM:SPM; moyennes mensuelles  $\pm$  intervalles de confiance à 95%; A) et qualité des particules organiques (chl-*a*:POM; moyennes mensuelles  $\pm$  intervalles de confiance à 95%; B) dans le site nord de forte turbidité (HT) et dans le site sud de turbidité intermédiaire (IT) de la baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Les données pour septembre 2006 n'ont pas été enregistrées dans le site IT à cause d'un problème technique au niveau des sondes.



**Figure 34.** *Crassostrea gigas* reared at the high (HT) and intermediate turbidity (IT) sites in Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006. (a) Dry tissue mass (DTM, monthly means  $\pm$  95% CI), and (b) gametosomatic index (GSI, monthly means  $\pm$  95% CI).

**Figure 34.** Croissance et reproduction de *Crassostrea gigas* cultivée dans un site de forte turbidité (HT) et dans un site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. (A) Masse de tissus secs (DTM, moyennes mensuelles  $\pm$  intervalles de confiance à 95%), et (B) indice gaméto-somatique (GSI, moyennes mensuelles  $\pm$  intervalles de confiance à 95%).

**Tableau 7.** Two-way ANOVA analyses for *Crassostrea gigas* reproduction.

**Tableau 7.** Analyses de variance à 2 facteurs pour la reproduction de *Crassostrea gigas*.

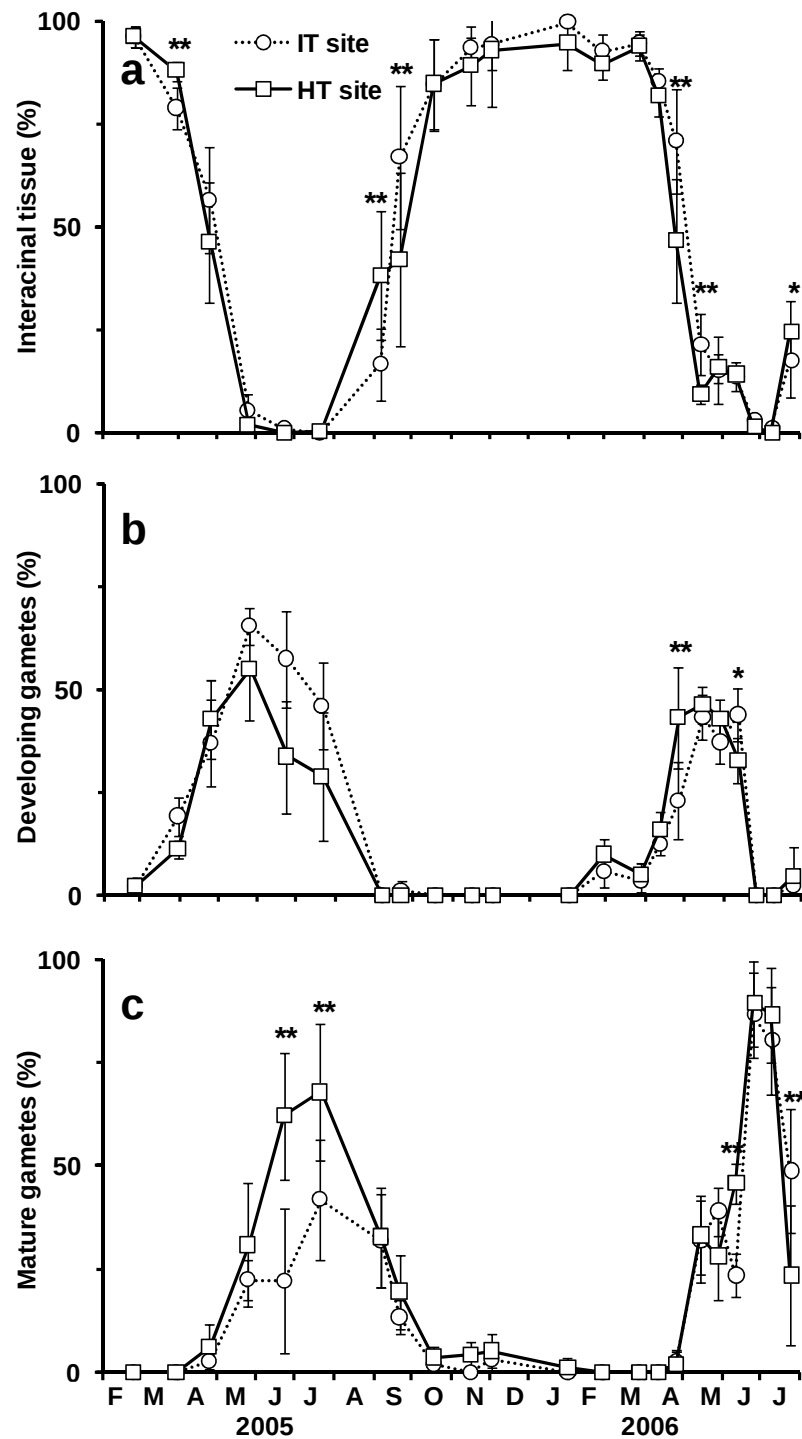
| Year | Data                 | Source of variation | df  | F                  | p      |
|------|----------------------|---------------------|-----|--------------------|--------|
| 2005 | Dry tissue mass      | Months              | 10  | 100.72             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 22.81              | < 0.01 |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 8.47               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 520 |                    |        |
|      | Gametosomatic index  | Months              | 10  | 121.98             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 3.99               | < 0.05 |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 4.86               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 285 |                    |        |
|      | Interacinal tissue   | Months              | 10  | 143.57             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 0.44               | 0.51   |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 3.08               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 301 |                    |        |
|      | Developing gametes   | Months              | 10  | 131.38             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 0.75               | 0.39   |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 1.12               | 0.33   |
|      |                      | Residual error      | 301 |                    |        |
|      | Mature gametes       | Months              | 10  | 18.88              | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 4.10               | < 0.05 |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 0.53               | 0.87   |
|      |                      | Residual error      | 301 |                    |        |
|      | Acinal lumen         | Months              | 10  | 20.50              | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 11.04              | < 0.01 |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 5.86               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 301 |                    |        |
|      | Degenerating gametes | Months              | 10  | 13.39              | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 4.10 <sup>-3</sup> | 0.95   |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 3.21               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 301 |                    |        |
| 2006 | Dry tissue mass      | Months              | 10  | 162.95             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 55.09              | < 0.01 |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 10.72              | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 519 |                    |        |
|      | Gametosomatic index  | Months              | 10  | 270.19             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 4.94               | < 0.05 |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 23.96              | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 292 |                    |        |
|      | Interacinal tissue   | Months              | 10  | 628.38             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 25.17              | < 0.01 |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 4.41               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 292 |                    |        |
|      | Developing gametes   | Months              | 10  | 101.28             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 16.04              | < 0.01 |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 5.41               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 292 |                    |        |
|      | Mature gametes       | Months              | 10  | 93.67              | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 7.10 <sup>-3</sup> | 0.93   |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 3.95               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 292 |                    |        |
|      | Acinal lumen         | Months              | 10  | 101.65             | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 7.10 <sup>-3</sup> | 0.94   |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 2.78               | < 0.01 |
|      |                      | Residual error      | 292 |                    |        |
|      | Degenerating gametes | Months              | 10  | 10.09              | < 0.01 |
|      |                      | Sites               | 1   | 1.83               | 0.18   |
|      |                      | Months × Sites      | 10  | 1.82               | 0.06   |
|      |                      | Residual error      | 292 |                    |        |

#### 3.2.5.1.4. Reproductive cycle and gamete fates

Over the sampling period, variations of the proportions of interacinal connective tissue and developing gametes were negatively correlated (Figure 35A and B, Spearman correlation test,  $r = -0.44$ ,  $p < 0.01$ ). In 2005, variations of the proportions of interacinal connective tissue and developing gametes were not related to sites, while, in 2006, production of developing gametes, derived from interacinal tissue reserves, was faster at the HT site (Table 7). Proportions of mature gametes were significantly higher at the HT site compared to the IT site in 2005, while no significant difference was reported between sites in 2006 (Table 7 and Figure 35C).

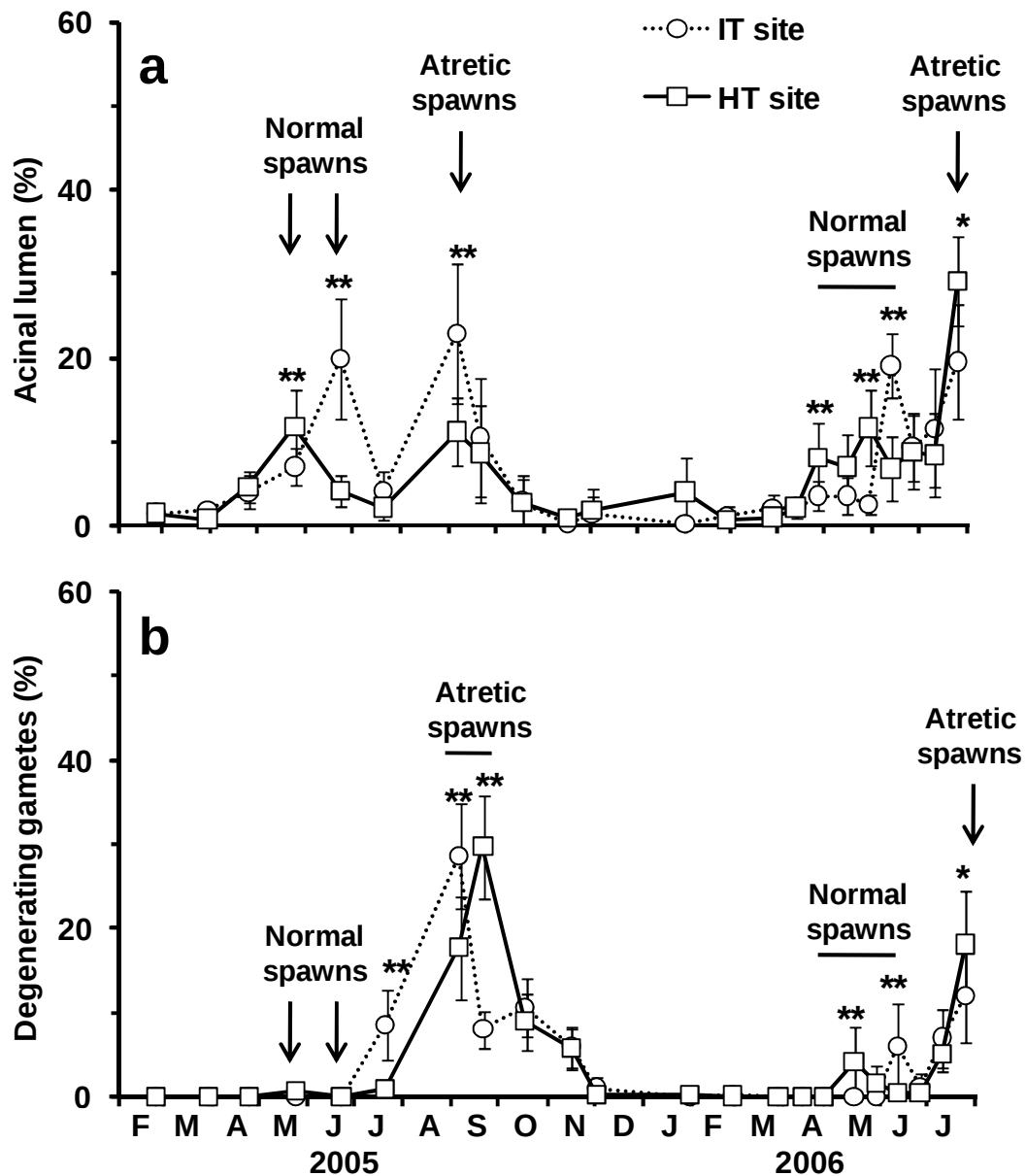
The evolution of the proportions of acinal lumen show the precise incidences of acinal filling (gamete production and maturation), and emptying (spawning), whereas the curves of degenerating gametes show the timing and extent of gamete resorption, either through atresia or resorption of residual gametes after spawning (Figure 36). Together, these indices allow us to interpret the detailed fates of gametes produced. Two major spawning periods (late spring and late summer) were evident in both years. The first spawning period corresponded to a 'normal' spawn, with negligible gamete degeneration in the acini. The second spawning period corresponded to an 'atretic' spawn, in which a substantial proportion of degenerating gametes were observed in the acini. In both years, normal spawns were one-month delayed and more intense at the IT site than at the HT site (greater % acinal lumen and lower GSI, SNK-tests,  $p < 0.01$ ). In spite of the high proportion of degenerating oocytes at both sites at the atretic spawning periods, oysters from the IT site spawned more intensely than those at the HT site (greater % acinal lumen, SNK-test,  $p < 0.01$ , for non-significantly different GSI, SNK-test,  $p = 0.16$ ).

Examination of the hourly temperature values at each site allows us to relate gametogenic events, including atresia, to observed threshold temperatures (Figure 37). Onset of gamete maturation begins at temperatures above 8-10°C, and spawning begins at temperatures above 18°C. The 1-month spawning delay in the IT-site oysters corresponds to a 1-month delay in peak water temperatures greater than 18°C at this site.



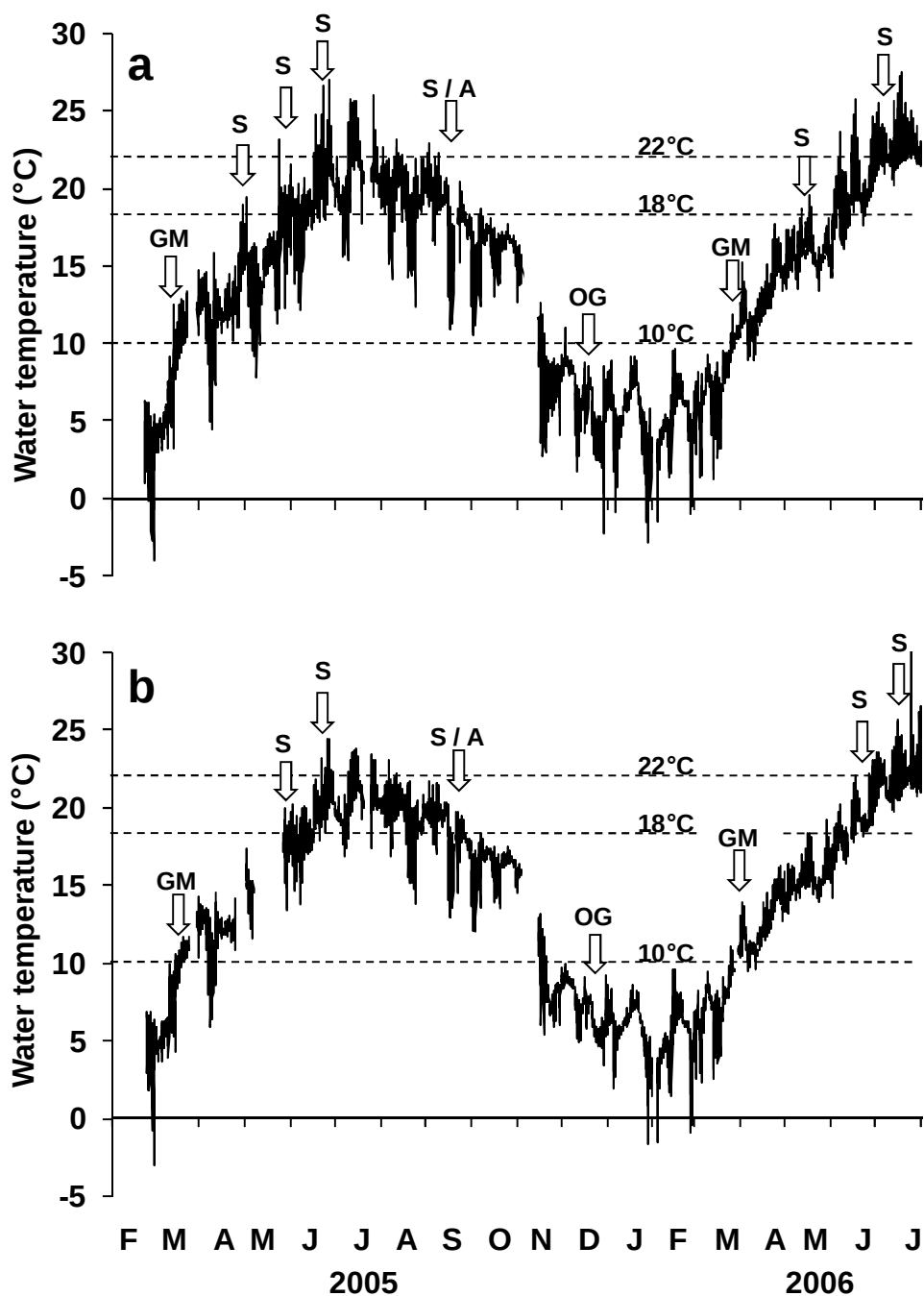
**Figure 35.** *Crassostrea gigas*, reared at the high (HT) and intermediate turbidity (IT) sites in Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006. Proportions (monthly means  $\pm$  95 % CI) of interacinal connective tissue (a), developing gametes (b) and mature gametes (c) compared to total gonadal tissue types.

**Figure 35.** Reproduction de *Crassostrea gigas* cultivée dans un site de forte turbidité (HT) et dans un site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Proportions (moyennes mensuelles  $\pm$  intervalles de confiance à 95%) de tissu interacinal (A), de gamètes en développement (B) et de gamètes matures (C) comparées à la proportion totale des gonades.



**Figure 36.** *Crassostrea gigas*, reared at the high (HT) and intermediate turbidity (IT) sites in Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006. Proportions (monthly means  $\pm$  95 % CI) of acinal lumen (a) and degenerating gametes (b) compared to total gonadal tissue types.

**Figure 36.** Reproduction de *Crassostrea gigas* cultivée dans un site de forte turbidité (HT) et dans un site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Proportions (moyennes mensuelles  $\pm$  intervalles de confiance à 95%) de lumière acinale (A) et de gamètes en dégénérescence (B) comparées à la proportion totale des gonades.



**Figure 37.** Hourly variations of water temperature at the high turbidity (HT – a) and intermediate turbidity (IT – b) sites of Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006. Arrows indicate oyster reproductive events; dotted lines represent main observed physiological thresholds of water temperature. A: atresia; GM: gamete maturation, OG: onset of gametogenesis, S: spawn.

**Figure 37.** Variations horaires de la température de l'eau dans le site de forte turbidité (HT - A) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT - B) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Les flèches indiquent les phases du cycle de reproduction; les lignes pointillées représentent les principaux seuils physiologiques de température de l'eau associés aux phases du cycle de reproduction. A : atrésie; GM : maturation des gonades; OG : initiation de la gamétogenèse; S : émission de gamètes.

### 3.2.6. Discussion

#### 3.2.6.1. Gametogenesis and SPM quality

Prior to spawning, both DTM and POM:SPM were significantly and clearly higher at the IT site compared to the HT site, while, except local peaks, water temperature was equivalent at both sites. This indicates that DTM differences result from site-specific SPM characteristics rather than temperature. At the IT site, the POM quality (chl-*a*:POM) shows spring peaks immediately preceding both spawnings, and coinciding with peaks in DTM. At the HT site, a peak in food quality is not evident in 2005, but is clearly evident in 2006, where once again it corresponds to a peak in DTM. Together with the developing gametes data, these field observations indicate that the increase in POM quality favourably affected gametogenesis, confirming previous laboratory demonstration (Chávez-Villalba *et al.*, 2003a). The increase in POM quality can be presumably related to phytoplankton abundance, which in turn may be quantitatively linked to reproduction (Bourlès *et al.*, in press). The intermediate-turbidity site showed greater POM quality peaks, and a corresponding greater oyster DTM peaks, than the high-turbidity site in both 2005 and 2006. These data, as well as the greater POM availability at the IT site, thus suggest that the IT site SPM quality conditions are more favourable to organic matter assimilation.

#### 3.2.6.2. Reproductive cycle

As demonstrated for other Atlantic French coastal areas, *C. gigas* reared in Bourgneuf Bay showed a seasonal reproductive cycle closely related to water temperature (Lango-Reynoso *et al.*, 2000; Chávez-Villalba *et al.*, 2001). In 2005 and 2006, although gamete maturation began simultaneously at both sites, first spawns occurred one month later at the IT site compared to the HT site. Considering the geographical proximity of the study sites, this highlights the great spatial variability of the environmentally-dependant *C. gigas* reproductive strategy.

The two spawning periods observed in the present study are interesting from the standpoint of the geographical range of reproducing *C. gigas* and its recent extension. The more southern Marennes-Oléron farming site also shows two spawning periods, whereas the

more northern Veys Bay site shows only one (Enríquez-Díaz *et al.*, in press). The two Bourgneuf Bay sites appear to be near the northernmost limit of the two-spawning pattern, since of the two spawnings, one is characterized by a high proportion of atretic gametes.

The data of the present study clearly show that oysters grown under intermediate-turbidity conditions furnish a greater reproductive contribution at the first (normal) spawning than those grown under high-turbidity conditions. The turbidity at the HT site is exceptionally high for Atlantic European coastal ecosystems: to our knowledge, only the Wadden sea presents similar values, and then only during severe storms (Pejrup, 1986; Barillé *et al.*, 1997b; 2000; Anderson and Pejrup, 2001). The turbidities of the IT site are much more representative of most Atlantic European coastal ecosystems, which thus present the most favourable turbidity conditions for the reproduction of *C. gigas*, both in farming operations and in the wild. Favourable turbidity conditions may therefore be a factor in the proliferation of feral oysters, now considered an invasive species (Drinkwaard, 1999; Wehrmann *et al.*, 2000; Diederich *et al.*, 2005; Ruesink *et al.*, 2005; Smaal *et al.*, 2005; Cognie *et al.*, 2006).

### 3.2.6.3. Atresia

Despite the importance of correctly evaluating the extent and prevalence of gamete atresia in bivalve reproductive cycles, only a few studies have done so in the Pectinidae (Lucas, 1982; Lubet *et al.*, 1987; Barber *et al.*, 1988; Morvan and Ansell, 1988; Dorange and Le Pennec, 1989) and Mytilidae (Pipe, 1987), and apart from mentioning the existence of 'degenerating oocytes' (Steele and Mulcahy, 1999; Lango-Reynoso *et al.*, 2000), the phenomenon has not been studied at all in oysters.

Although atretic gametes may be extruded, recycling within the individual should allow partial recovery of the invested energy (Le Pennec *et al.*, 1991). It is thus interesting to note that the proportion of inter-acinal connective tissue rises concomitantly with the proportion of degenerating oocytes, suggesting reverse transfer of scavenged metabolites. A relationship has been hypothesized between the intensity of *C. gigas* oocyte atresia and trophic resource abundance (Chávez-Villalba *et al.*, 2001). However, in the present work, both similar proportions of degenerating gametes and the one-month delay of this process between sites characterized by marked differences in organic matter concentration suggest that oocyte atresia can be related to temperature conditions.

The limited data available indicate that the most favourable temperature for the development of *C. gigas* larvae is 22°C under field conditions (Seno *et al.*, 1926; Arakawa, 1990; Shatkin *et al.*, 1997), and oyster hatcheries in Europe commonly rear larvae at temperatures >19°C (Chávez-Villalba *et al.*, 2002; Rico-Villa *et al.*, 2008). This coincides with major acinal emptying above 22°C. Maximal gamete atresia appears in mature *C. gigas* gonads when water temperatures transiently dip to 15-18°C, accelerating with the frequency of such dips. Such a situation occurs at the second, atretic spawning in both turbidity conditions in both 2005 and 2006. The present data thus suggest that the high rate of atresia at the second spawning may be related to unfavorable temperature conditions for subsequent larval development (Paulet *et al.*, 1988). Although experimental studies of atresia induction would require significant hatchery resources, such data is crucial to the understanding of bivalve reproduction in both natural and farmed populations.

Despite the high proportion of atretic gametes at the second spawning, both IT and HT oysters partially spawned at this time. However, the spawning effort of the IT oysters was double that of the HT oysters, suggesting that under intermediate-turbidity conditions, *C. gigas* contributes more total gametes (normal + atretic) to the ecosystem. The measure of reproductive success is obviously the subsequent densities of larvae and juveniles; determinations of these numbers are currently underway for both sites (Dutertre *et al.*, in press).

### **3.2.7. Conclusion**

The data of the present study highlight the influence of both temperature (fine-scale and seasonal variations) and turbidity on reproduction in farmed *C. gigas*. Similar data should also be obtained for feral populations, which presumably also contribute to their own proliferation. Such information will be important for management of the rapidly-expanding feral population of *C. gigas* in the variously - turbid habitats throughout the world where they have been introduced for culture.

### **3.2.8. Acknowledgements**

The authors wish to thank David Lecossois for the installation of oyster bags in his oyster-farming parks and the Vendée Naissains society for the supply of hatchery-born spats. We thank Odile Aumaille and Joseph Baudet for their technical assistance in histological analyses. Three anonymous referees provided very extensive and constructive comments, for which we are very grateful. This work was funded by the Syndicat Mixte pour le Développement de l'Aquaculture et de la Pêche de la région des Pays de la Loire and M. Dutertre was supported by a PhD scholarship from the Ministère Français de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur.

### 3.3. Caractéristiques de la reproduction des huîtres férales en baie de Bourgneuf et comparaison avec les huîtres cultivées

---

#### 3.3.1. Introduction

L'invasion de *Crassostrea gigas* dans les écosystèmes tempérés de l'hémisphère nord étant un phénomène récent, daté du début des années 1990, il n'existe que très peu de données sur la biologie des huîtres férales (Cardoso *et al.*, 2007; Ruesink, 2007). En effet, la plupart des études menées sur ces huîtres essaient de quantifier leur prolifération ou de déterminer leur influence sur les écosystèmes (Diederich *et al.*, 2005; Smaal *et al.*, 2005; 2008; Cognie *et al.*, 2006; Nehls *et al.*, 2006; Kochmann *et al.*, 2008; Schmidt *et al.*, 2008; Troost *et al.*, 2009). Cependant, bien qu'il soit admis qu'en l'absence de nouvelles introductions, les huîtres férales soient initialement issues de la reproduction des individus d'élevage (Grizel and Héral 1991; Drinkwaard 1999; Wehrmann *et al.* 2000; Diederich *et al.* 2005; Smaal *et al.* 2005; Cognie *et al.* 2006), elles représentent également un stock de géniteurs potentiels (Cardoso *et al.*, 2007). Ainsi, la reproduction des générations successives d'huîtres férales pourrait contribuer de façon significative à la prolifération de *C. gigas* dans les écosystèmes tempérés.

Bien que les huîtres férales et les huîtres cultivées appartiennent à la même espèce et partagent le même habitat, leurs conditions de développement peuvent être différentes au sein des écosystèmes tempérés tels que la baie de Bourgneuf. En effet, les huîtres cultivées proviennent, en général, de naissains exogènes, captés dans des régions plus au sud ou produits en éclosiers (Haure et Baud, 1995; Robert et Gérard, 1999; Goulletquer et Le Moine, 2002). En revanche, les huîtres férales sont issues du développement de naissains recrutés *in situ*. L'acclimatation prolongée des huîtres férales aux conditions environnementales pourrait leur procurer un avantage sélectif vis-à-vis des huîtres cultivées, se traduisant notamment par des réponses différentes vis-à-vis des seuils physiologiques et de meilleures capacités de reproduction. Ce phénomène pourrait être accentué dans les écosystèmes côtiers lorsque les organismes sont soumis à de fortes variations de température et/ou de concentrations en MES (Mann, 1982).

Les résultats obtenus chez des huîtres cultivées, issues d'un même lot produit en éclosier et soumises secondairement à différentes conditions de turbidité, ont montré que le

cycle et l'effort de reproduction de *C. gigas* étaient principalement déterminés par les facteurs environnementaux. Ainsi, en dépit du fait que les huîtres férales puissent avoir des origines génétiques différentes, l'influence des variations environnementales sur les capacités de reproduction de ces huîtres pourrait être un élément déterminant dans la gestion des écosystèmes récemment envahis par *C. gigas*. En effet, alors que la contribution des géniteurs cultivés à la prolifération de *C. gigas* peut être artificiellement contrôlée par l'utilisation d'individus triploïdes stériles (Guo et Allen, 1994; Nell, 2002) ou par la diminution des stocks, ce n'est pas le cas pour les géniteurs féraux.

De même que pour les huîtres cultivées, l'étude du cycle et de l'effort de reproduction des huîtres férales a été réalisée au moyen d'analyses histologiques, dans deux sites de la baie de Bourgneuf, caractérisés respectivement par une forte turbidité et par une turbidité intermédiaire.

### **3.3.2. Matériels et méthodes**

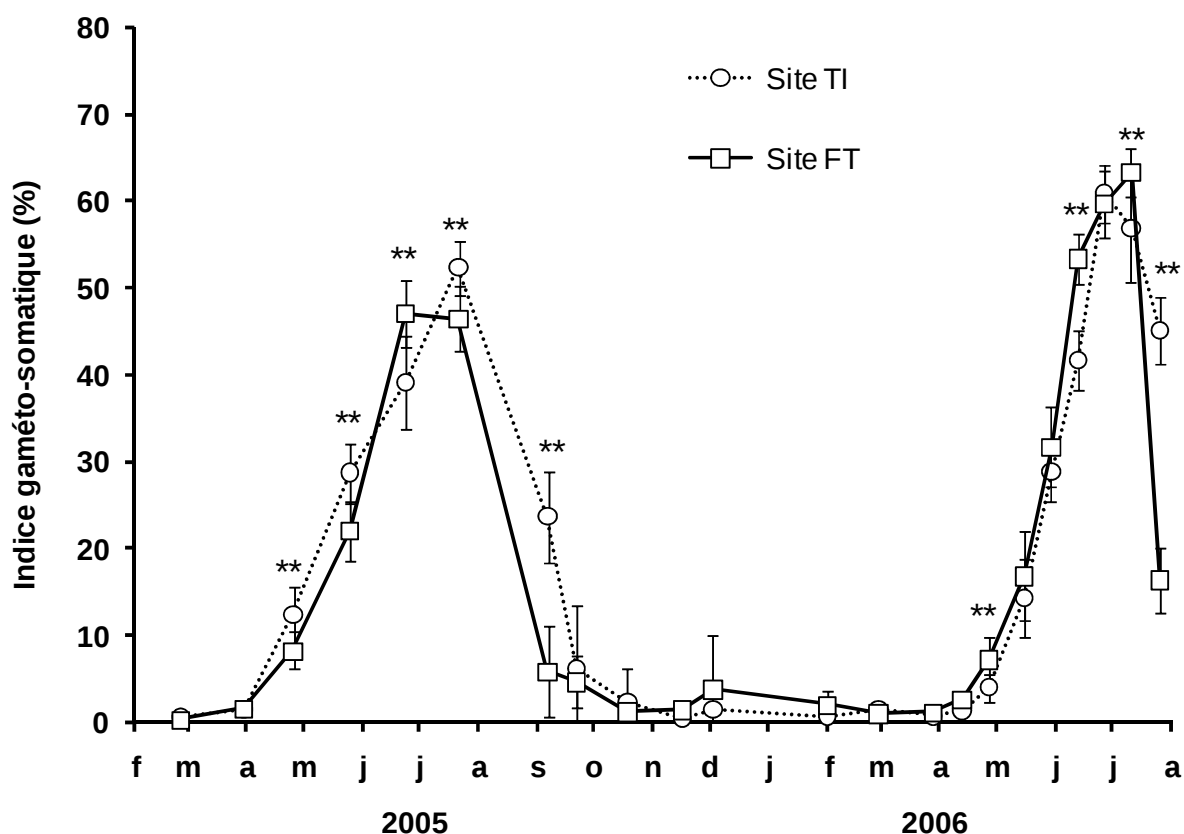
La méthodologie appliquée à l'étude menée sur les huîtres cultivées a également été utilisée pour mettre en évidence les caractéristiques de la reproduction des huîtres férales (cf. 3.2.4). Parallèlement aux prélèvements des huîtres cultivées réalisés entre février 2005 et juillet 2006, 15 huîtres férales, fixées sur des rochers proches des tables ostréicoles où étaient installées les poches d'huîtres cultivées, ont été collectées dans le site de turbidité intermédiaire (TI - Gresseloup) et dans le site de forte turbidité (FT – La Coupelasse). Afin de permettre les comparaisons avec les huîtres cultivées, la détermination des indices gaméto-somatiques et les mesures stéréologiques ont été réalisées en utilisant les méthodes développées précédemment.

### **3.3.3. Résultats**

#### **3.3.3.1. Indice gaméto-somatique (IGaS)**

Au cours du premier cycle de reproduction (mars – novembre 2005), les valeurs des IGaS moyens indiquent que l'effort de reproduction des huîtres férales est significativement

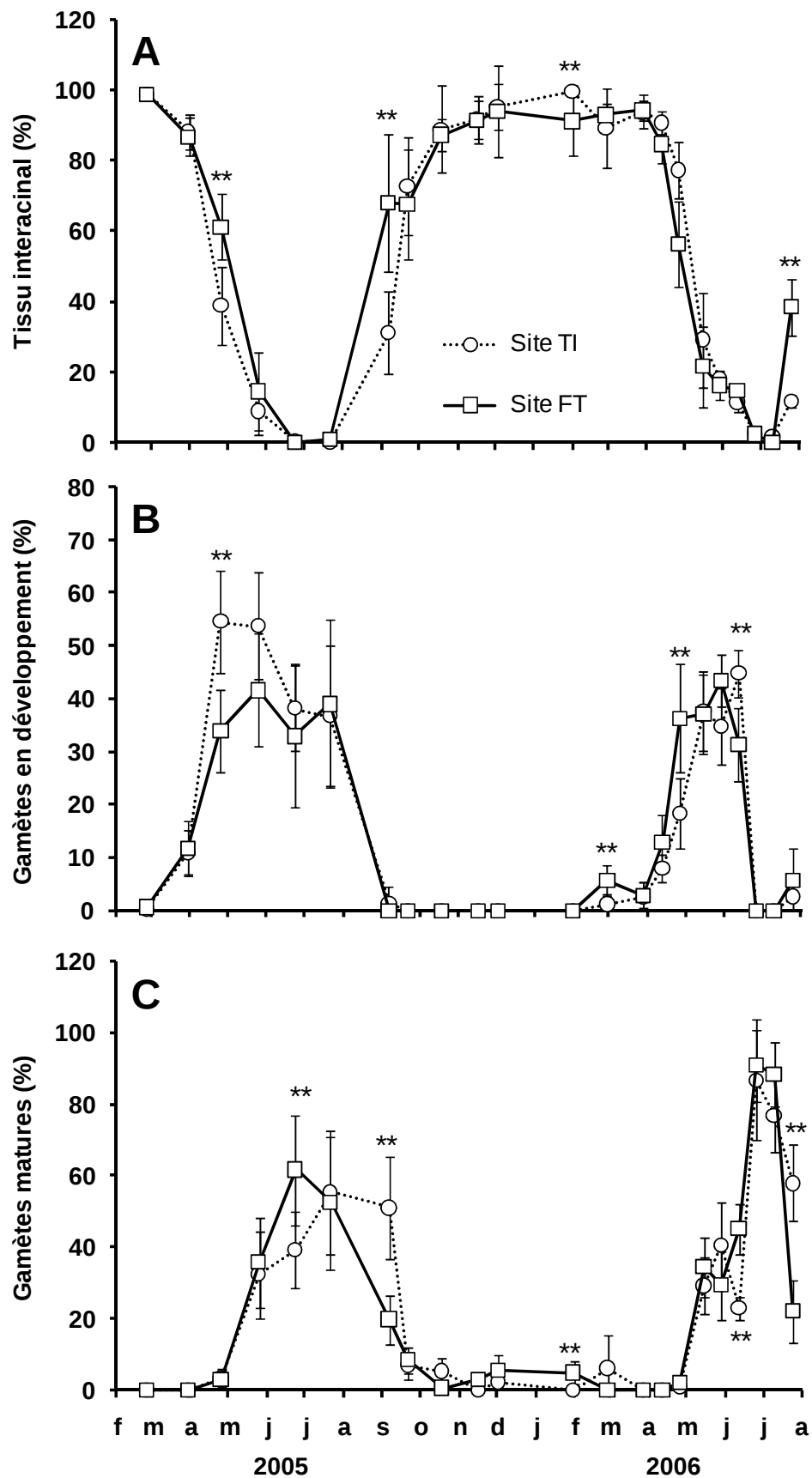
plus important dans le site TI (Figure 38; ANOVA à 2 facteurs;  $p < 0,01$ ). En revanche, en 2006, l'effort de reproduction des huîtres férales est similaire dans les deux sites (ANOVA à 2 facteurs;  $p = 0,29$ ). Pour chacun des deux sites, l'IGS moyen atteint des valeurs estivales significativement plus élevées en 2006 par rapport à 2005 (tests t;  $p < 0,01$ ).



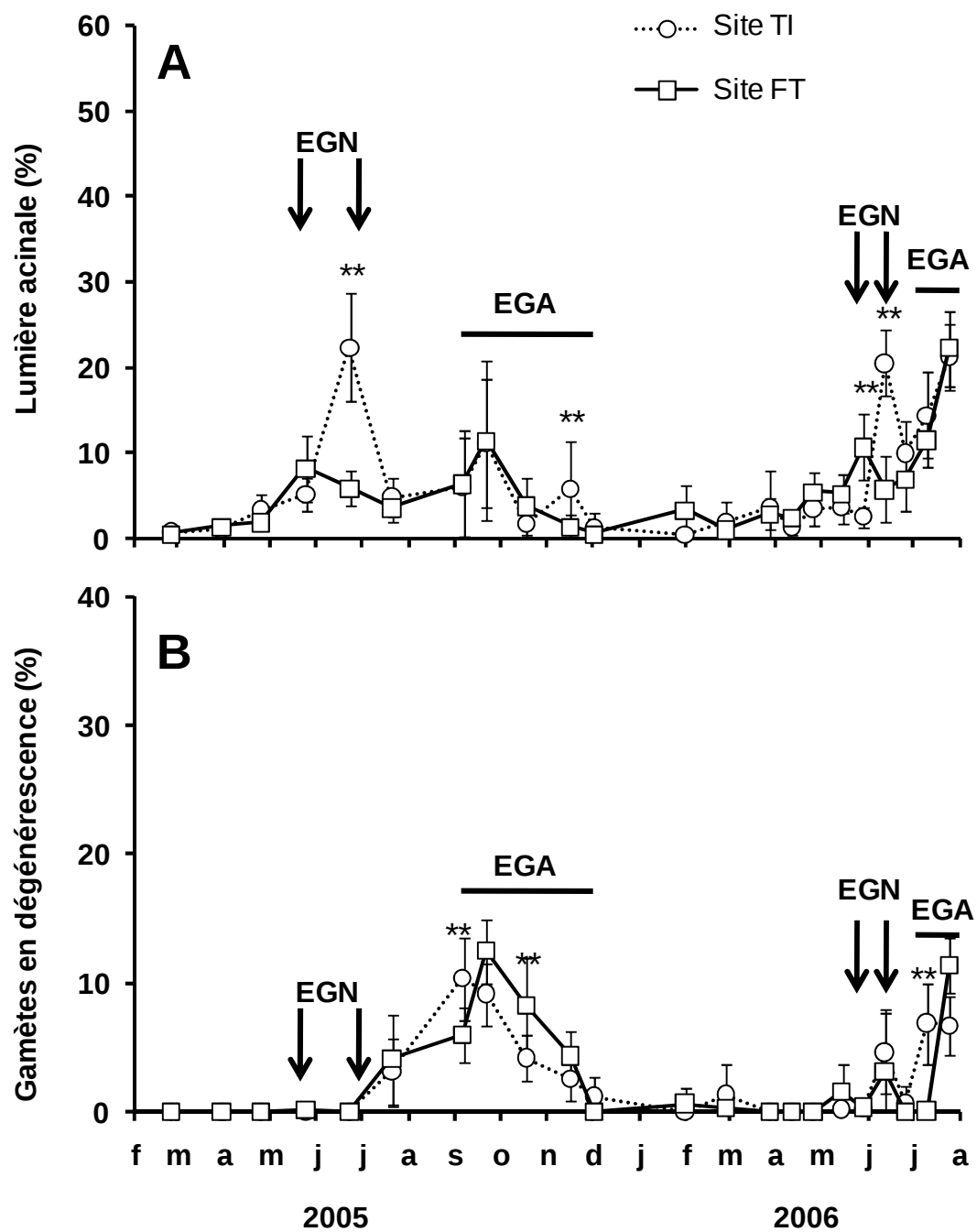
**Figure 38.** Variations de l'indice gaméto-somatique chez les huîtres férales de la Baie de Bourgneuf, prélevées à Gresseloup (turbidité intermédiaire, TI) et à la Coupelasse (forte turbidité, FT).

### 3.3.3.2. Stéréologie

Entre février 2005 et juillet 2006, les variations des proportions des différents tissus gonadiques montrent des différences significatives entre les deux sites (Figures 39 et 40; ANOVA à 2 facteurs;  $p < 0,01$ ). Les variations des proportions de tissu interacinal présentent une corrélation négative avec celles des proportions de gamètes en développement (Figure 39A et B; test de corrélation de Spearman;  $r = -0,69$ ;  $p < 0,01$ ).



**Figure 39.** Variations des proportions du tissu interracinal (A), des gamètes en développement (B) et des gamètes matures (C) dans les gonades chez les individus féraux de *Crassostrea gigas*.



**Figure 40.** Variations des proportions de la lumière acinale (A) et des gamètes en dégénérescence (B) dans les gonades chez les individus féraux de *Crassostrea gigas*. EGA : émissions de gamètes atrésiques; EGN : émissions de gamètes normaux.

### 3.3.4. Discussion

#### 3.3.4.1. Cycle de reproduction des huîtres férales

Le cycle de reproduction des huîtres férales présente de grandes similitudes avec celui des huîtres cultivées. En effet, ces cycles sont rythmés par des seuils physiologiques de température de l'eau similaires (Figure 37). La maturation des gonades, correspondant à la vitellogenèse chez les femelles et à la spermatogénèse chez les mâles, est initiée, lorsqu'après la période hivernale, la température de l'eau atteint des valeurs supérieures à 8-10°C. Ces observations sont en accord avec celles réalisées pour *C. gigas* en France, que ce soit dans les bassins ostréicoles de Marennes-Oléron et d'Arcachon (Goulletquer, 1995) ou en laboratoire (Lubet, 1981; Fabioux *et al.*, 2005). Des pics de température supérieurs à 18°C peuvent induire des émissions précoces de gamètes, se produisant en dehors de la période thermique favorable au développement larvaire, et/ou partielles, lorsque la proportion de gamètes matures dans les gonades est relativement faible. La forte amplitude thermique journalière dans le site de forte turbidité entraîne ainsi le déclenchement d'émissions de gamètes en avance d'environ un mois par rapport au site de turbidité intermédiaire. Les émissions plus importantes de gamètes, liées à une proportion élevée de gamètes matures dans les acini gonadiques, se produisent lorsque la température estivale de l'eau dépasse les 22°C, ce qui correspond au seuil physiologique permettant un développement larvaire optimal en conditions naturelles (Seno *et al.* 1926; Arakawa 1990; Shatkin *et al.* 1997). Les gamètes qui n'ont pas été libérés dans le milieu extérieur, dégénèrent massivement et sont réabsorbés par les géniteurs lorsque la température chute en dessous de 15°C.

Les huîtres férales présentent, à l'instar des individus cultivés, une première période d'émissions de gamètes normaux et une seconde période d'émission de gamètes atrésiques. Alors que les proportions de gamètes matures sont identiques dans les deux sites, les proportions de lumière acinale dans les gonades indiquent que la quantité de gamètes émis durant l'émission de gamètes normaux est supérieure dans le site de turbidité intermédiaire. En revanche, contrairement à ce qui a été observé chez les huîtres cultivées, l'intensité des émissions de gamètes atrésiques est similaire dans les deux sites. De plus, durant cette période, les huîtres férales des deux sites présentent des proportions de gamètes atrésiques deux fois moins importantes que celles des huîtres cultivées. Ceci suggère que, durant la seconde période d'émissions des gamètes, ceux émis par les huîtres férales sont susceptibles

de produire une plus grande quantité de larves, et, par conséquent, de naissains, que ceux émis par les huîtres cultivées. Une proportion plus importante de gamètes atrésiques chez les huîtres cultivées pourrait également indiquer un déficit énergétique chez les géniteurs consécutif à un stress physiologique. Les conditions environnementales subies par les deux types d'huîtres étant similaires dans chacun des deux sites, les variations observées quant à la stratégie de reproduction peuvent être attribuées à des différences intrinsèques entre ces deux types d'huîtres.

#### 3.3.4.2. Effort de reproduction des huîtres férales

De même que pour le cycle de reproduction, l'effort de reproduction des huîtres férales est relativement similaire à celui des huîtres cultivées. En 2005, en dehors de la période d'émissions de gamètes du mois de juin, l'effort de reproduction des huîtres férales est significativement supérieur dans le site de turbidité intermédiaire, alors qu'il était similaire dans les deux sites chez les huîtres cultivées. La quantité de gamètes produits par *C. gigas* étant dépendante des réserves énergétiques accumulées avant le début de la maturation des gonades (Chávez-Villalba *et al.*, 2003a; Cannuel et Beninger, 2005), la différence de qualité de la ressource trophique entre les deux sites pourrait se refléter dans l'effort de reproduction des huîtres férales mais pas dans celui des huîtres cultivées qui, avant leur installation dans chacun des deux sites en février 2005, constituaient un lot unique. Cependant, la similarité des indices gaméto-somatiques des huîtres férales dans les deux sites, observée en 2006, ne permet pas de confirmer l'influence de la turbidité sur l'effort de reproduction de *C. gigas*.

#### 3.3.5. Conclusion

Les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence les capacités de reproduction des huîtres férales et suggèrent que l'accroissement de leur nombre, au fil des générations, est susceptible d'entretenir, voire d'accentuer, l'invasion de *C. gigas* dans la baie de Bourgneuf. Bien que le cycle et l'effort de reproduction des huîtres férales montrent d'importantes similitudes avec ceux des huîtres cultivées, les stratégies de reproduction de ces deux types d'huîtres semblent présenter quelques différences, notamment au niveau des émissions de gamètes. Afin de distinguer plus nettement les différences férales-cultivées, des études de

discrimination génétique devront être menées entre les huîtres férales des sites TI et FT, mais également entre les huîtres férales et les huîtres cultivées.

### **3.4. Évaluation de l'effort de reproduction de *Crassostrea gigas*: comparaison des indices gonado-somatique et gaméto-somatique**

---

#### **3.4.1. Introduction**

L'évaluation de la proportion d'énergie investie dans les processus gamétogénétiques est un des aspects fondamentaux de la gestion des populations de Bivalves, notamment afin d'établir le bilan énergétique des individus ou d'estimer leur fécondité (Todd et Havenhand, 1983; Gosling, 2003). En effet, la proportion d'énergie stockée dans les cellules germinales n'est plus disponible pour assurer d'autres fonctions biologiques telles la croissance des tissus ou le maintien du métabolisme de base, et peut même être définitivement perdue lors des émissions de gamètes dans le milieu extérieur. Par conséquent, la variabilité de l'effort de reproduction des Bivalves, en fonction de l'âge des individus et des conditions environnementales, est devenue l'un des éléments clés entrant dans la conception de modèles déterministes de croissance (Barillé *et al.*, 1997a; Pouvreau *et al.*, 2006). De plus, dans le cas des espèces invasives, la quantité de gamètes est un indicateur de la capacité des géniteurs à produire de nouvelles générations.

Plusieurs méthodes ont été utilisées afin d'estimer la quantité de gamètes produits par les Bivalves. Le dénombrement des gamètes émis dans le milieu extérieur donne une indication sur la quantité d'énergie perdue par l'organisme mais ne rend pas compte de l'énergie stockée au niveau des gamètes résiduels ou en développement, lorsque les émissions de gamètes sont partielles (Lucas, 1980; 1982a; Bayne *et al.*, 1983; Todd et Havenhand, 1983; Massapina *et al.*, 1999). Bien que dans quelques cas, comme chez les Pectinidés, il soit possible de déterminer la proportion de tissus gonadiques par le calcul d'indices gonado-somatiques basés sur des mesures massiques (Thompson, 1977; Beninger, 1987), chez la majorité des Bivalves, la difficulté à séparer les gonades du reste de la masse viscérale rend cette méthode inutilisable (Lucas, 1980; 1982a). La réalisation de coupes histologiques transversales au niveau de la masse viscérale des Bivalves permet de distinguer et d'identifier clairement les différents types de tissus. Cependant, les indices gonado-somatiques basés sur les mesures de l'épaisseur relative des gonades ou de l'aire qu'elles occupent au sein de la

masse viscérale (Heffernan et Walker, 1989; Davenel *et al.*, 2009), n'excluent pas certaines surfaces non gamétiques correspondant au tissu de réserve inter-acinal et à la lumière intra-acinale. Chez *C. gigas*, l'analyse numérique de photographies au microscope de coupes histologiques a récemment permis d'isoler et d'évaluer la surface occupée par les gamètes au sein de la gonade (Enriquez-Diaz, 2004; Fabioux *et al.*, 2005; Royer *et al.*, 2008 ; Dutertre *et al.*, in press b).

L'objectif de ce travail est de comparer les indices gonado- et gaméto-somatiques obtenus à partir de coupes histologiques réalisées chez *Crassostrea gigas*, et de mettre en évidence l'importance de la détermination précise de la proportion de gamètes produits dans le but d'évaluer l'effort de reproduction des Bivalves.

### 3.4.2. Matériels et méthodes

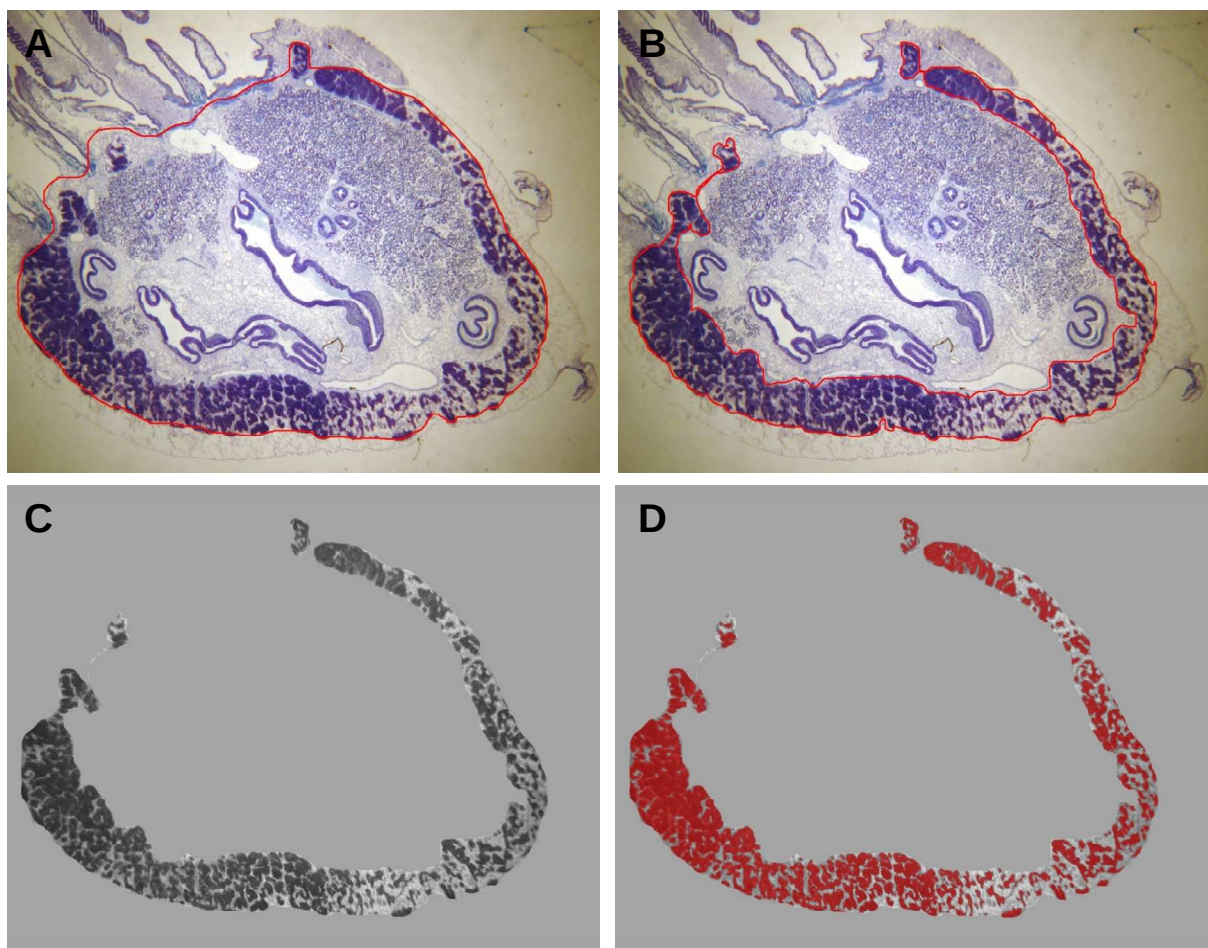
#### 3.4.2.1. Déterminations des indices gonado-somatique (IGoS) et gaméto-somatique (IGaS)

Les mesures ont été réalisées à partir des coupes histologiques obtenues chez les huîtres cultivées prélevées, entre février 2005 et juillet 2006, à Gresseloup et à la Coupelasse (cf. 3.2.4). Pour chaque individu, les dix coupes histologiques colorées ont été numérisées à l'aide d'un appareil photographique (Sony Cyber-Shot 7.2 MégaPixels) monté sur un stéréomicroscope (Leica Zoom 2000) et relié à un ordinateur. Les images numériques ont ensuite été analysées avec le logiciel LUCIA G 4.80. Les surfaces respectives de la masse viscérale (SMV) et des gonades (SGo) ont été obtenues par détourage (Figure 41A et B). Afin de déterminer la surface occupée par les gamètes, la surface gonadique est isolée à l'aide d'un masque puis transformée en niveaux de gris (Figure 41C). Les gamètes apparaissant plus sombres que les autres tissus gonadiques, il est possible de définir un seuil minimum de niveau de gris et de mesurer uniquement l'ensemble des surfaces ayant une valeur supérieure à ce seuil (Figure 41D). Les indices gonado-somatique (IGoS) et gaméto-somatique (IGaS) ont ensuite été calculés de la façon suivante :

$$\text{IGoS (\%)} = (\text{SGo} / \text{SMV}) \times 100$$

$$\text{IGaS (\%)} = (\text{SGa} / \text{SMV}) \times 100$$

Les IGoS et un IGaS individuels ont été moyennés pour chaque date d'échantillonnage et chaque site.



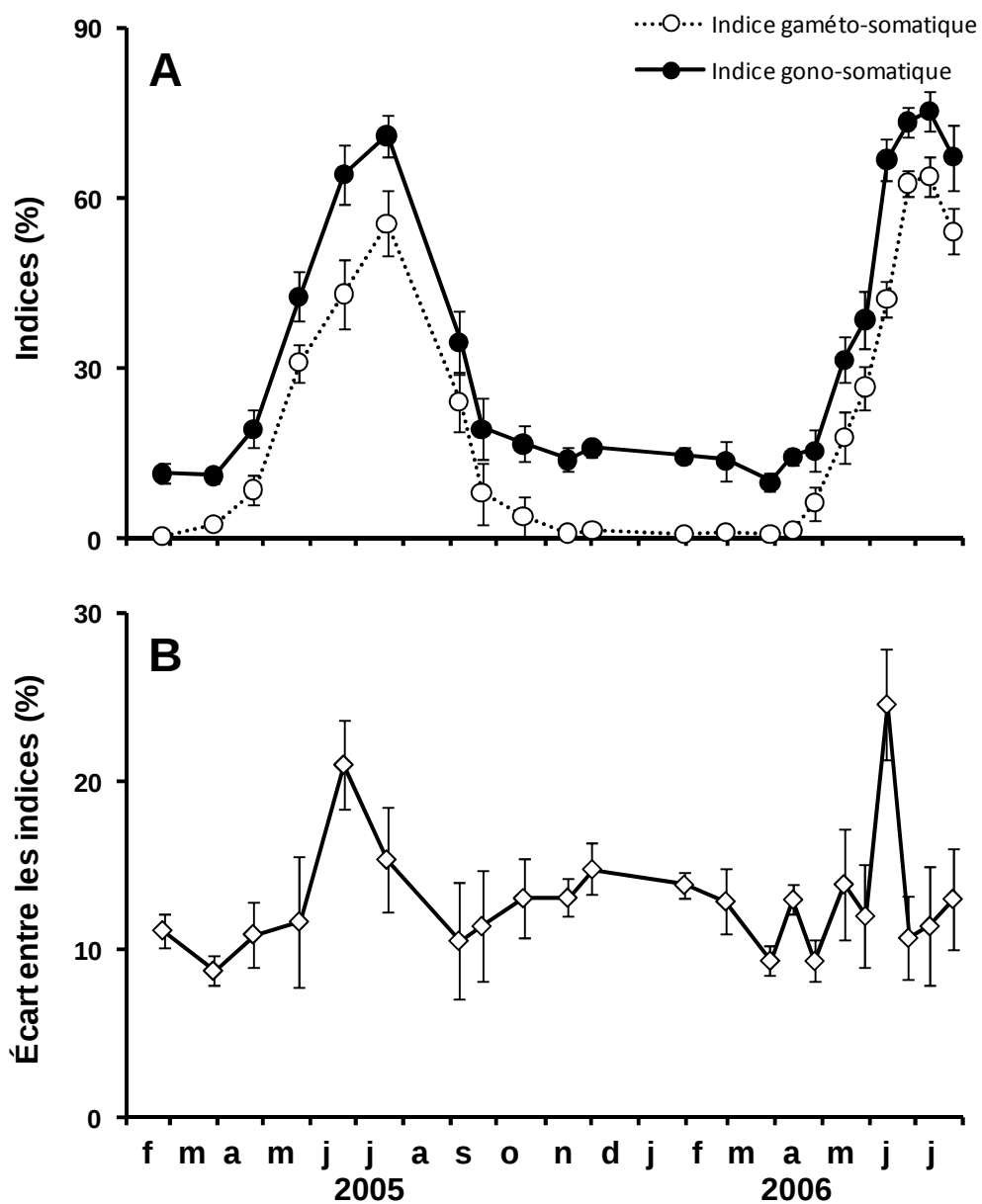
**Figure 41.** Déterminations, à l'aide du logiciel Lucia 4.80, de surfaces tissulaires à partir de coupes histologiques réalisées chez l'huître *Crassostrea gigas*. A : Détourage de la surface occupée par la masse viscérale; B : Détourage de la surface occupée par les gonades; C : Sélection de la surface gonadique avec un masque et passage en niveaux de gris; D : Seuillage de la surface gamétique.

#### 3.4.2.3. Analyse statistique

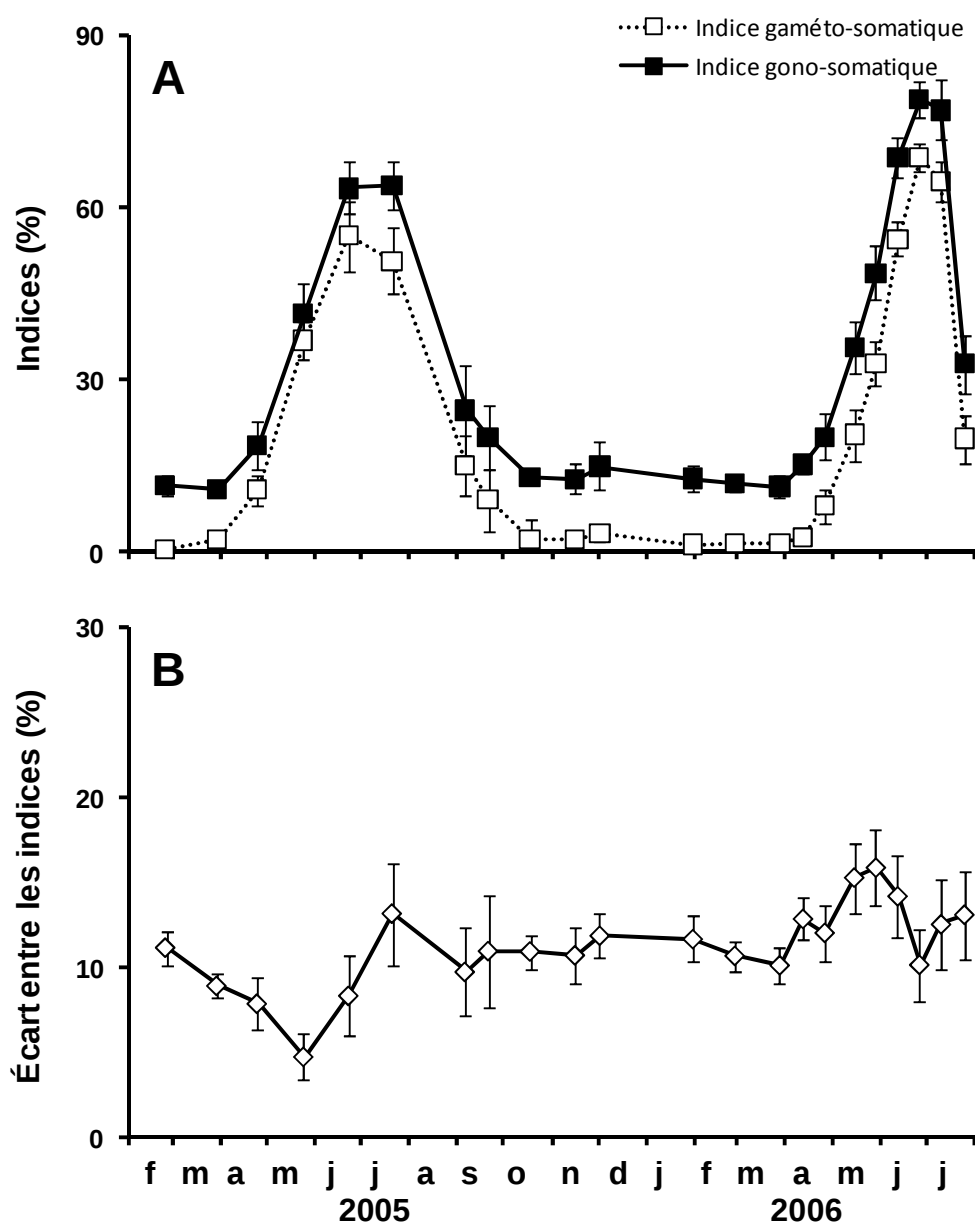
Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Sigmastat 3.0. La relation entre les indices gaméto-somatique et gonado-somatique a été décrite par l'intermédiaire d'une régression linéaire de type  $y = ax + b$ . Après avoir vérifié la normalité et l'égalité des variances des distributions, les variations des indices au cours du cycle de reproduction des huîtres ont été comparées *a priori* par des ANOVA à 2 facteurs. Des tests de Student-Newman-Keuls ont été utilisés pour les analyses *a posteriori*.

#### 3.4.3. Résultats

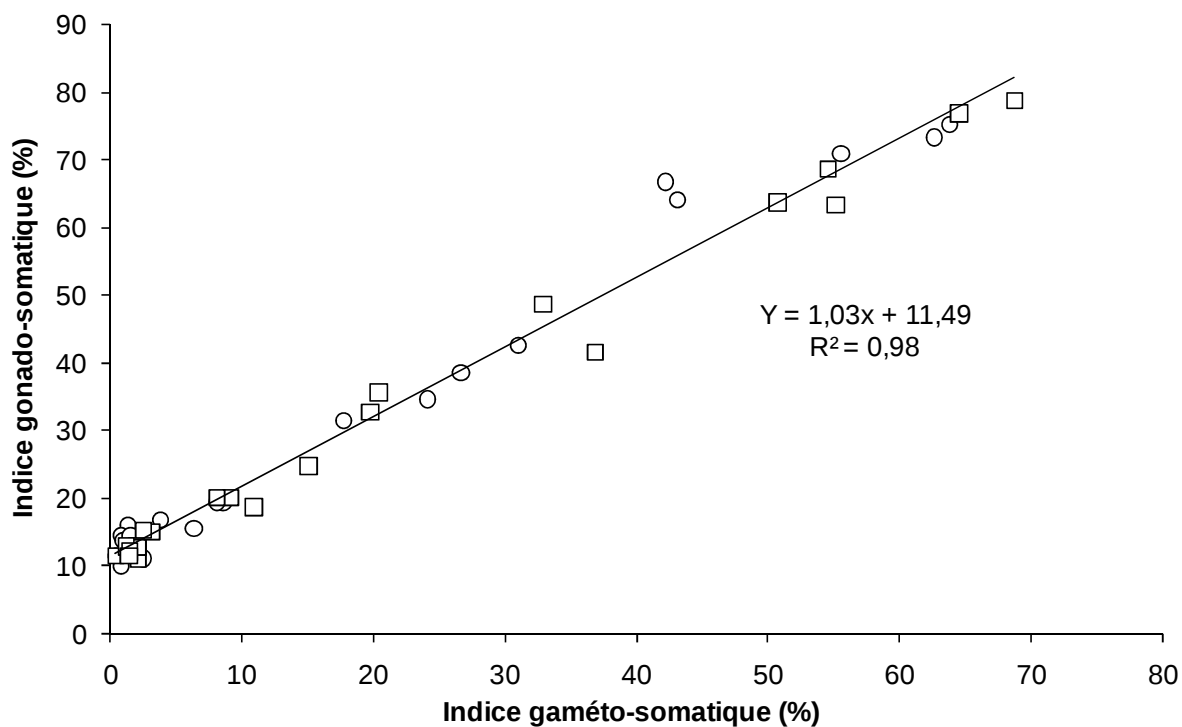
Chez les huîtres cultivées de Gresseloup (Figure 42A) et de la Coupelasse (Figure 43A), l'IGoS est toujours significativement supérieur à l'IGaS (ANOVA à 2 facteurs;  $p < 0,01$ ). La relation entre les variations de l'IGoS et de l'IGaS est décrite par une régression linéaire hautement significative (Figure 44; ANOVA;  $n = 44$ ;  $R^2 = 0,98$ ;  $p < 0,01$ ). La pente de la droite de régression est significative (ANOVA;  $p < 0,01$ ) et indique que les variations de l'IGaS exercent une influence sur celles de l'IGoS. Dans chacun des deux sites, l'écart entre les deux indices montre des différences significatives en fonction des périodes de prélèvements des huîtres (Figures 42B et 43B; ANOVA;  $p < 0,01$ ). Cet écart varie entre 8% et 24% à Gresseloup, et entre 4% et 15% à la Coupelasse.



**Figure 42.** Variations des indices gaméto-somatique et gonado-somatique (A), ainsi que de l'écart entre ces deux indices (B) chez des huîtres cultivées de Gresseloup.



**Figure 43.** Variations des indices gaméto-somatique et gonado-somatique (A), ainsi que de l'écart entre ces deux indices (B) chez des huîtres cultivées de la Coupelasse.



**Figure 44.** Régression linéaire décrivant la relation entre les indices gaméto-somatique (IGaS) et gonado-somatique (IGoS) des huîtres, *Crassostrea gigas*, cultivées en baie de Bourgneuf, à Gresseloup (○) et à la Coupelasse (□).

### 3.4.4. Discussion

L'analyse numérique de photographies au microscope de coupes histologiques, réalisées au niveau de la masse viscérale de l'huître *Crassostrea gigas*, a permis d'établir une relation entre les variations des indices gaméto-somatique (IGaS) et gonado-somatique (IGoS) au cours de deux cycles de reproduction. Cette relation hautement significative montre que la variation de la proportion des gonades dépend majoritairement de celle des gamètes. Cependant, durant toute l'année, des éléments non gamétiques sont également présents au sein des gonades comme en témoignent les valeurs supérieures de l'IGoS par rapport à l'IGaS. L'écart entre les deux indices n'étant pas constant au cours du cycle de reproduction, le passage d'un indice à l'autre n'est pas possible par simple relation mathématique.

En dehors des gamètes, les éléments constitutifs des gonades susceptibles de varier au cours du cycle de reproduction sont le tissu inter-acinal et la lumière intra-acinale (Figures 35A et 36A). Le tissu inter-acinal est majoritairement constitué de cellules de stockage du

glycogène (Berthelin *et al.*, 2000). Au début de la période de maturation des gonades (mars 2005 et avril 2006), la diminution de la proportion du tissu inter-acinal coïncide avec celle des écarts entre les indices. La lumière intra-acinale correspond à la région des acini qui contient les gamètes. Lorsque les gamètes matures sont évacués hors des acini et émis dans le milieu extérieur, la proportion non occupée de lumière intra-acinale augmente et reflète l'intensité de l'émission des gamètes. A Gresseloup, l'écart entre les indices montre des pics au moment des émissions de gamètes normaux en juin 2005 et juin 2006. La contribution de la lumière intra-acinale à l'écart entre les indices est moins nette à la Coupelasse, probablement en relation avec des émissions de gamètes moins intenses. La précision de la méthode utilisée dans cette étude dépend, en effet, de la résolution des images qui n'est peut être pas suffisante pour permettre de détecter une augmentation de la lumière acinale lorsqu'elle est masquée par une quantité importante de gamètes en développement ou résiduels.

Les cellules vésiculaires du tissu conjonctif inter-acinal de *C. gigas* peuvent fournir de l'énergie pour la gamétogenèse mais également pour le fonctionnement du métabolisme général (Pipe, 1987; Heude-Berthelin *et al.*, 2001). De plus, la reconstitution des réserves du tissu inter-acinal, lors de la résorption des gamètes, est considérée comme un mécanisme permettant de fournir de l'énergie au métabolisme des géniteurs (Le Pennec *et al.*, 1991). Ainsi, au cours du cycle de reproduction, une fraction variable de la proportion de tissu inter-acinal est susceptible de ne pas contribuer à l'effort de reproduction des Bivalves. En revanche, la proportion de gamètes en développement, prise en compte dans l'IGaS, reflète l'investissement énergétique lié à la reproduction de l'individu. Par ailleurs, bien qu'elle soit un indicateur de la quantité d'énergie perdue lors des émissions de gamètes, la lumière intra-acinale ne représente pas en elle-même un investissement énergétique. Lorsque les gonades ne peuvent pas être physiquement séparées du reste de la masse viscérale, la proportion de gamètes au sein des coupes histologiques s'impose donc comme le seul estimateur valide de la quantité d'énergie allouée à la reproduction et non disponible pour les autres fonctions biologiques. L'utilisation d'un IGaS basé sur la proportion de gamètes à l'intérieur des gonades permet donc une quantification précise de l'effort de reproduction des Bivalves qui pourrait être intégrée dans des modèles déterministes de croissance des Bivalves (Barillé *et al.*, 1997a; Pouvreau *et al.*, 2006).

### **3.5. Réchauffement de l'eau, reproduction et recrutement de l'huître invasive, *Crassostrea gigas*, sur la côte atlantique française**

---

D'après un article soumis le 24 mars 2009, accepté le 15 juillet 2009

**Marine Environmental Research**

#### **Rising water temperatures, reproduction and recruitment of an invasive oyster, *Crassostrea gigas*, on the French Atlantic coast**

**Mickaël Dutertre, Peter G. Beninger, Laurent Barillé, Mathias Papin, Joël Haure**

##### **3.5.1. Abstract**

The recent appearance and invasion of feral oysters (*Crassostrea gigas*) along the northern European Atlantic coast, underscores the necessity to investigate the relationship between environmental variables, reproductive physiology, larval development and recruitment. We studied these relationships at both high (HT) and intermediate (IT) – turbidity sites, through historical data on water temperatures, multi-parameter environmental probes, histological analyses, and field collections of planktonic larvae and settled post-larvae in 2005 and 2006. A progressive warming trend was observed, especially since 1995, when oyster proliferation first became severe. Threshold temperatures for oocyte growth, larval development and settlement were achieved in both 2005 and 2006. The HT site showed greater numbers of larvae and post-larvae than the IT site for both years, with the highest numbers of post-larvae observed at both sites during the warmer summer of 2006. These results suggest that increased temperatures in northern European waters allow successful reproduction, larval development, and recruitment of *C. gigas*. High turbidity conditions further enhance this success.

### 3.5.2. Résumé

La récente apparition puis l'invasion des huîtres férales, *Crassostrea gigas*, le long de la côte atlantique nord de l'Europe, met en évidence la nécessité d'étudier les relations entre les variables environnementales, sa physiologie de la reproduction, son développement larvaire et son recrutement. En 2005 et 2006, nous avons étudié ces relations dans un site de turbidité intermédiaire (IT) et dans un site de forte turbidité (HT), au travers de données historiques sur la température de l'eau, de mesures effectuées par des sondes environnementales, d'analyses histologiques et de prélèvements *in situ* de larves planctoniques et de post-larves fixées. Un réchauffement progressif a été observé, notamment à partir de 1995, lorsque la prolifération des huîtres férales a commencé à être importante. Des seuils physiologiques de température ont été déterminés pour la croissance des ovocytes, le développement larvaire et le recrutement. Le site HT montre, chaque année, un plus grand nombre de larves et de post-larves que le site IT, avec, pour les deux sites, des quantités maximales durant la période estivale de 2006, plus chaude qu'en 2005. Ces résultats suggèrent que l'augmentation de la température des eaux littorales européennes permet le succès de la reproduction, du développement larvaire et du recrutement de *C. gigas*. Une forte turbidité semble également favoriser ce succès.

### 3.5.3. Introduction

Suspension-feeding bivalves are coastal ecosystem engineers that regulate matter and energy fluxes by coupling pelagic and benthic processes (see Dame and Olenin, 2005 for reviews). In the twentieth century, over-exploitation, pollution, and disease led to a worldwide decline in native oyster populations, accompanied by economic losses and ecological changes (Newell, 1988; Quayle, 1988; Ruesink *et al.*, 2005). The Pacific cupped oyster, *Crassostrea gigas*, was voluntarily introduced in several new coastal areas around the world for aquaculture purposes, because of its rapid growth rate, high tolerance to environmental variations and low susceptibility to oyster diseases (Coleman, 1986; Smith *et al.*, 1986; Grizel and Héral, 1991).

Although successful introductions of *C. gigas* occurred particularly in northern temperate countries of Europe and North America, water temperatures precluded substantial

larval recruitment in the northernmost regions (Le Borgne *et al.*, 1973; Gruet *et al.*, 1976; Goulletquer, 1995; Drinkwaard, 1999). France is a particularly interesting case, since the occurrence of massive and regular feral *C. gigas* recruitments in the southern Atlantic regions, but not in the northern ones, suggested that the limit for the successful larval development was situated south of Bourgneuf Bay (Goulletquer and Héral, 1991; Robert and Gérard, 1999). However, in the past decade, feral oysters have proliferated on northern European Atlantic coasts, unrelated to new introductions, and *C. gigas* is now considered to be an invasive organism from Spain to the North Sea (Reise *et al.*, 1999; Wehrmann *et al.*, 2000; Cognie *et al.*, 2006; Brandt *et al.*, 2008). This phenomenon is particularly visible in northern French turbid bays, where the feral *C. gigas* build long-lasting reefs and colonize racks on which are attached farmed *C. gigas* bags (Martin *et al.*, 2004; 2005). In these areas, trophic competition with feral oysters has been suggested to explain the decline in farmed oyster growth performance in the last ten years (Cognie *et al.*, 2006). Although reproduction performances of farmed adult oysters are being elucidated (Dutertre *et al.*, in press), field studies on natural recruitment are also necessary to understand the recent feral oyster invasion (Underwood and Fairweather, 1989; Grosberg and Levitan, 1992; Smaal *et al.*, 2005).

Optimal larval development of *C. gigas* requires a water temperature higher than 22°C during at least two weeks (Arakawa, 1990; Shatkin *et al.*, 1997; Rico-Villa *et al.*, 2008) and oyster larvae are affected by food quality and quantity (Baldwin and Newell, 1995; Powell *et al.*, 2002; Rico-Villa *et al.*, 2008). As larval survival is the determining element for the settlement of feral oyster populations (Gosling, 2003), environmental influences on larval development need to be clarified by field studies, especially in turbid coastal waters which are characterized by seasonal and short-term variations of the environmental conditions (Mann, 1982).

In an attempt to determine the causes of the recent invasion of feral oysters, in northern cold temperate ecosystems, the present study analyzed the larval development and post-larval recruitment of *C. gigas* at the southern and northern geographic extremes of Bourgneuf Bay in relation to real-time monitored environmental factors.

### 3.5.4. Materials and methods

#### 3.5.4.1. Adult oyster sampling and tissue fixation

Feral and farmed oysters were collected at two oyster-farming sites in Bourgneuf Bay, between February 2005 and July 2006 (Haure and Baud, 1995 - Figure 15). The northern site, La Coupelasse (47° 1' 34.7''N, 2° 1' 55.9''W), is a high - turbidity mudflat compared to the southern sandy-muddy bottom site, Gresseloup (46° 57' 2.6''N, 2° 7' 53.4''W).

At the beginning of the study, in February 2005, adult farmed oysters (shell length =  $69.2 \pm 4.9$  SD mm, originating from 18-month hatchery-born spats,) were installed, at both the northern and southern sites, in  $1.0 \times 0.5$  m plastic, 20 mm mesh bags and tied to oyster racks ( $3.0 \times 1.0$  m) at 0.6 m above the bottom. Each bag contained 280 individuals, corresponding to 5 - 10 kg of oysters. At each site, 15 farmed and 15 feral oysters were then sampled once monthly until March 2006 and then twice monthly until July 2006. Feral oysters, in the same range of shell length as farmed ones, were collected near oyster racks on fixed substrata. For each oyster, shell dimensions (length, width and height) were measured with a caliper and whole mass was determined before shucking. Soft tissues were then immediately fixed in cold aqueous Bouin's solution (approx. 5 x animal volume) for at least two weeks (Beninger *et al.*, 2001).

#### 3.5.4.2. Histological preparation

After fixation, a 0.5 mm-thick slice of the visceral mass was removed from the region along the line connecting the left and right palp-gill junctions (Morales-Alamo and Mann, 1989). The tissue was rinsed under running water overnight to eliminate excess Bouin's solution, dehydrated and prepared for paraffin embedding. Embedded tissues were sliced with a microtome to obtain 10 histological sections per individual, 7  $\mu$ m in thickness. These sections were rehydrated, stained with modified Masson's trichrome and dehydrated before being mounted on glass slides in mounting medium (Beninger *et al.*, 2001). Mounted histological sections were then dried at 60°C for at least one week.

#### 3.5.4.3. Microscopic determinations and oocyte size measurements

Oyster larvae are characterized by an initial endotrophic stage (utilization of stored oocyte reserves), followed by a mixotrophic stage (oocyte reserves + ingested particles) and finally an exotrophic stage (ingested particles only - Lucas *et al.*, 1986; His and Seaman, 1992; Cannuel and Beninger, 2005). Oocytes increase in size during vitellogenesis, so the relative amount of oocyte reserves was therefore estimated by measuring oocyte sizes in histological sections of female oysters, observed on a computer screen connected to a video camera (Nikon DXM 1200F) and optical microscope (Olympus AX70). LUCIA 4.80 software (Image Analysis Systems) was used to measure oocyte area showing sections passing through both the clear nucleus and a least one nucleolus (n = 30 per oyster). Oocyte diameter was then calculated as follows:

$$\text{Oocyte diameter } (\mu\text{m}) = 2 \times \sqrt{(\text{oocyte area } (\mu\text{m}^2) / \pi)}$$

Monthly means ( $\pm$  95 % confidence intervals, CI) of oocyte diameters were calculated and used to determine the gonadal development stage (Lango-Reynoso *et al.*, 2000): early gametogenesis (3.0 to 12.0  $\mu\text{m}$ ), growing (12.1 to 30.0  $\mu\text{m}$ ), mature (30.1 to 41.0  $\mu\text{m}$ ) or atretic (41.1 to 60  $\mu\text{m}$ ).

#### 3.5.4.4. Determinations of D-larva and post-larval densities

Unambiguous identification of *C. gigas* larvae was achieved through a preliminary inventory of larval bivalve species at the two study sites, followed by identification using literature data (Rees, 1950; Le Pennec, 1978; His, 1991) and computer image analysis of key shell characteristics (Lucia G 4.80 software).

During known oyster spawning periods, plankton samples were collected at the northern and southern sites using a boat-mounted pump provided with a flowmeter. Each plankton sample (1.5 m<sup>3</sup>) was fixed in 10% formaldehyde – seawater solution and prepared for analysis as in Auby *et al.* (2002). Each sample was manually homogenized with a loop-ended glass stick to avoid damage to larvae, and two 0.5 ml aliquots were transferred to Sedgewick-Rafter counting cells and observed using a light microscope (Olympus AX70) in order to determine D-larva densities (shell height = 57 to 105  $\mu\text{m}$ ; Rees, 1950; Le Pennec, 1978; His, 1991).

At each site, clusters of 10 striated tubular collectors (commonly used as substrata for oyster spat settlement in the field; length = 120 cm, diameter = 2 cm) were tied side by side to oyster racks (3.0 × 1.0 m) at 0.6 m from the bottom. The clusters were rolled up at the end of each tidal cycle to count the post-larval (i.e. recently-settled spats) density, and replaced with new clusters for the next tidal cycle.

#### 3.5.4.5. Environmental monitoring

Multi-parameter water quality probes (YSI 6600) were fixed to oyster racks installed at each sampling site, to record temperature (°C), salinity (from conductivity), suspended particulate matter (SPM) concentration (nephelometry, NTU) and chlorophyll-*a* (chl-*a*) concentration (fluorometry, %) every hour. The corresponding monthly means were plotted with their 95 % confidence intervals (n = 720).

Food is implicitly defined as ingestible matter. Since we do not know what, precisely, the oysters are ingesting, we can only use indicators of available food. These must take into account:

##### Quantity

Suspended Particulate Matter – the total amount of particles, quality not specified

Particulate Organic Matter (POM) – potentially digestible particles, but quality not specified

Chlorophyll-*a* – amount of available phytoplankton, proportion of the available particulate matter not specified

##### Quality

POM:SPM – an indication of the organic content of the SPM (dilution of POM)

Chl-*a*:POM – an indication of the quality of the organic matter

In order to characterize potential food amount, availability, and quality, field calibrations for suspended matter were performed simultaneously from both probe records and natural seawater samples collected at each oyster sampling site over two tidal cycles. Some seawater samples (n = 17) were dried at 60°C for 48 h and then ashed at 450°C for 4 h (Barillé-Boyer *et al.*, 2003) to obtain SPM and POM concentrations (mg.l<sup>-1</sup>) respectively,

while other samples (n = 16) were analyzed by spectrophotometry after extraction with acetone (Lorenzen, 1967) to determine chl-*a* concentrations ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ ). Linear regressions obtained from field samples were used to transform hourly probe records into concentrations as follows:

$$\text{SPM (mg.l}^{-1}\text{)} = 1.44 \times \text{turbidity (NTU)} + 12.92, n = 17, r^2 = 0.93$$

$$\text{POM (mg.l}^{-1}\text{)} = 0.18 \times \text{turbidity (NTU)} + 3.42, n = 17, r^2 = 0.94$$

$$\text{Chl-}a \text{ (}\mu\text{g.l}^{-1}\text{)} = 4.63 \times \text{fluorometry (\%)} + 1.65, n = 16, r^2 = 0.92$$

Food dilution and quality, herein estimated as percent organic content of SPM (POM:SPM ratio) and percent chl-*a* content of POM (chl-*a*:POM ratio) respectively, were calculated as follows:

$$\text{POM:SPM (\%)} = (\text{POM (mg.l}^{-1}\text{)} / \text{SPM (mg.l}^{-1}\text{)}) \times 100$$

$$\text{Chl-}a\text{:POM (\%)} = (\text{chl-}a \text{ (mg.l}^{-1}\text{)} / \text{POM (mg.l}^{-1}\text{)}) \times 100$$

#### 3.5.4.6. Historical data of water temperature

Daily water temperatures (WT) in Bourgneuf Bay were calculated between January 1970 and December 2006, using the following regression (Haure and Baud, 1995):

$$\text{WT} = 0.8703 \times \text{AT} + 0.036 \times \text{TC} - 0.0969$$

Daily atmospheric temperatures (AT) were obtained from Météo-France's Climathèque database (Noirmoutier station, 2°15'24''W, 47°00'18''N) and tidal coefficients (TC) using the Marées dans le monde 2.02© software.

#### 3.5.4.7. Statistical analysis

Sigmastat 3.1 (Systat software) was used to check the normality and heteroscedasticity of data distributions and then to perform statistical analyses. Temporal and spatial variations of environmental factors were compared by Student t-tests or two-way parametric ANOVA,

while correlation between them was determined by Spearman correlation tests. Analyses of data from histological determinations, as well as larval and post-larval cumulative densities, were first performed with two-way parametric ANOVA within each reproductive cycle, and *a posteriori* by Student-Newman-Keuls (SNK) tests.

### **3.5.5. Results**

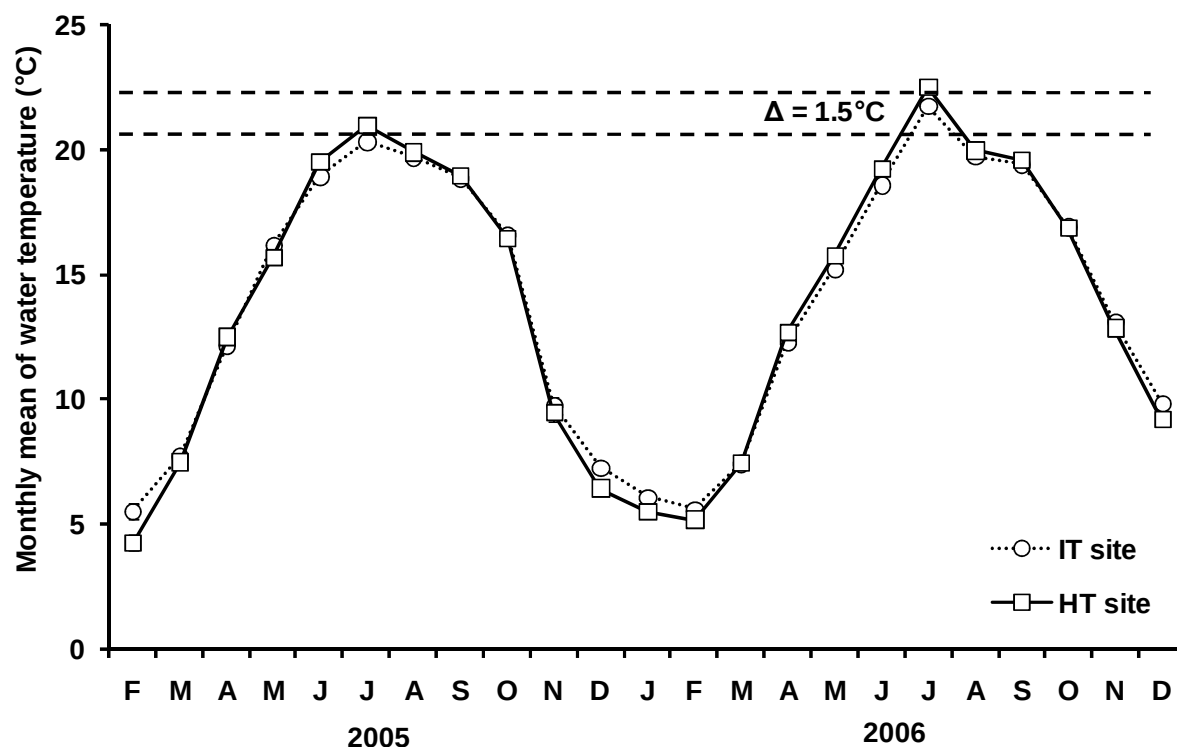
#### **3.5.5.1. Environmental variations**

##### *3.5.5.1.1. Seston quantity and quality*

Over the sampling period, SPM, PIM, POM and chl-*a* concentrations were always higher at the HT site compared to the IT site (cf. 3.2.5.1.2). The monthly mean POM:SPM ratio, used to estimate potential food dilution, was lower at the HT site in 2005 and 2006. On the other hand, the monthly mean chl-*a*:POM ratio, used to estimate food quality, was higher at the HT site in 2005, while no significant difference between sites was reported in 2006.

##### *3.5.5.1.2. Fine-scale variations of water temperature and salinity: 2005 - 2006*

Monthly mean water temperatures, largely typical of a northern temperate nearshore ecosystem, were not significantly different between the sites in 2005 and 2006 (Figure 45, Student t-test,  $p = 0.95$  and  $p = 0.99$ , respectively). However, the summer period was warmer in 2006 vs. 2005, especially in July, where the mean water temperature was 1.5°C higher. The daily amplitude of water temperature was higher at the HT site (cf. 3.2.5.1.1).

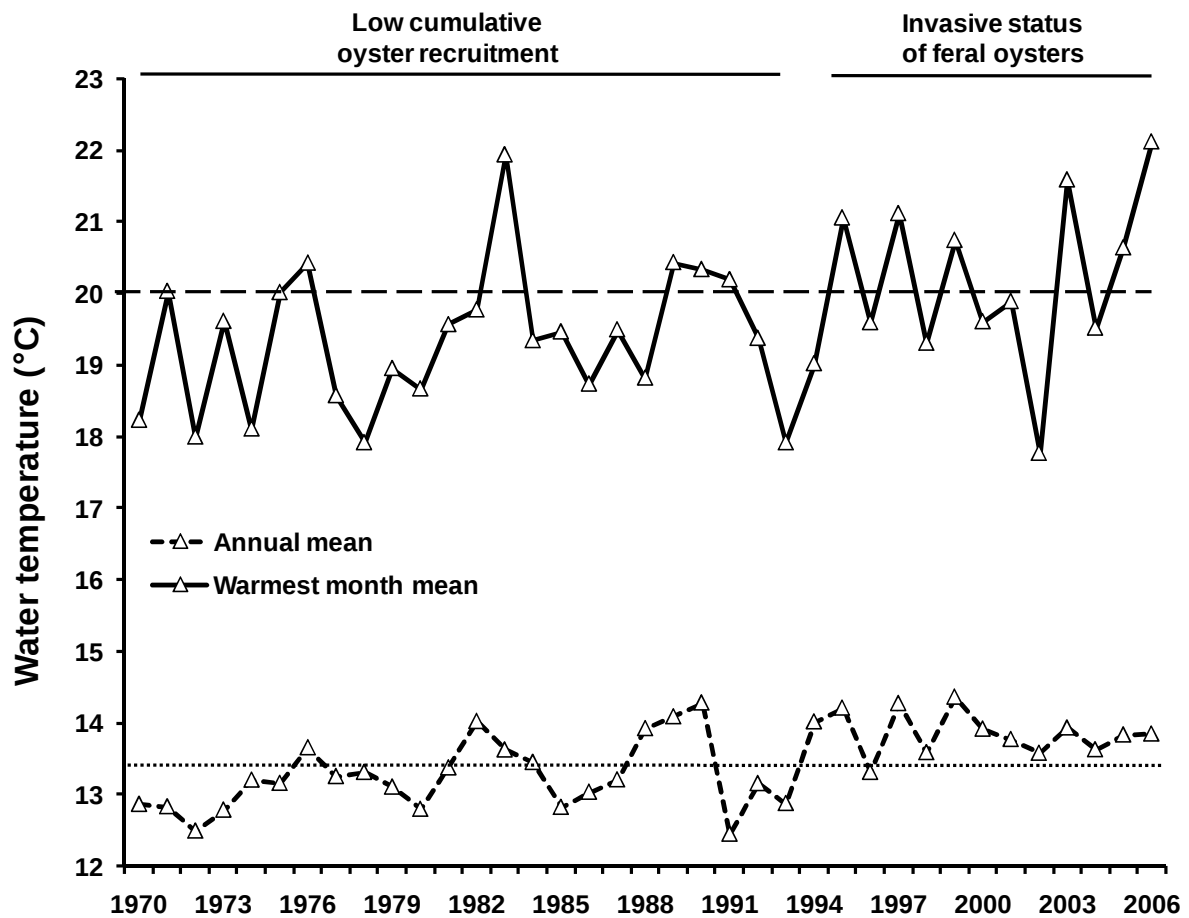


**Figure 45.** Water temperature variations at the northern high turbidity (HT) and southern intermediate turbidity (IT) sites of Bourgneuf Bay, in 2005 and 2006. Means  $\pm$  95 % confidence intervals.

**Figure 45.** Variations de la température de l'eau dans le site de forte turbidité (HT) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006. Valeurs moyennes  $\pm$  intervalles de confiance à 95%.

### 3.5.5.1.3. Historical variations in water temperature

Historical annual mean and warmest-month calculated mean water temperatures are presented for Bourgneuf Bay from 1970 – 2006 (Figure 46). For the 17-year period from 1970 – 1987, annual means were higher than the annual medians for only 2 years (11.8%), versus 15 years (83.3%) for the 18-year period from 1988 – 2006. This situation prevailed in 10 of 11 years (91%) from 1995 – 2006. Similarly, the warmest month means over the 17-year period from 1970 – 1987 were above the threshold temperature for successful reproduction (20°C – Chávez-Villalba *et al.*, 2002; Rico-Villa *et al.*, 2008) only 2 years (11.8%), whereas over the 18-year period from 1988 – 2006, this situation prevailed in 9 years (50%).

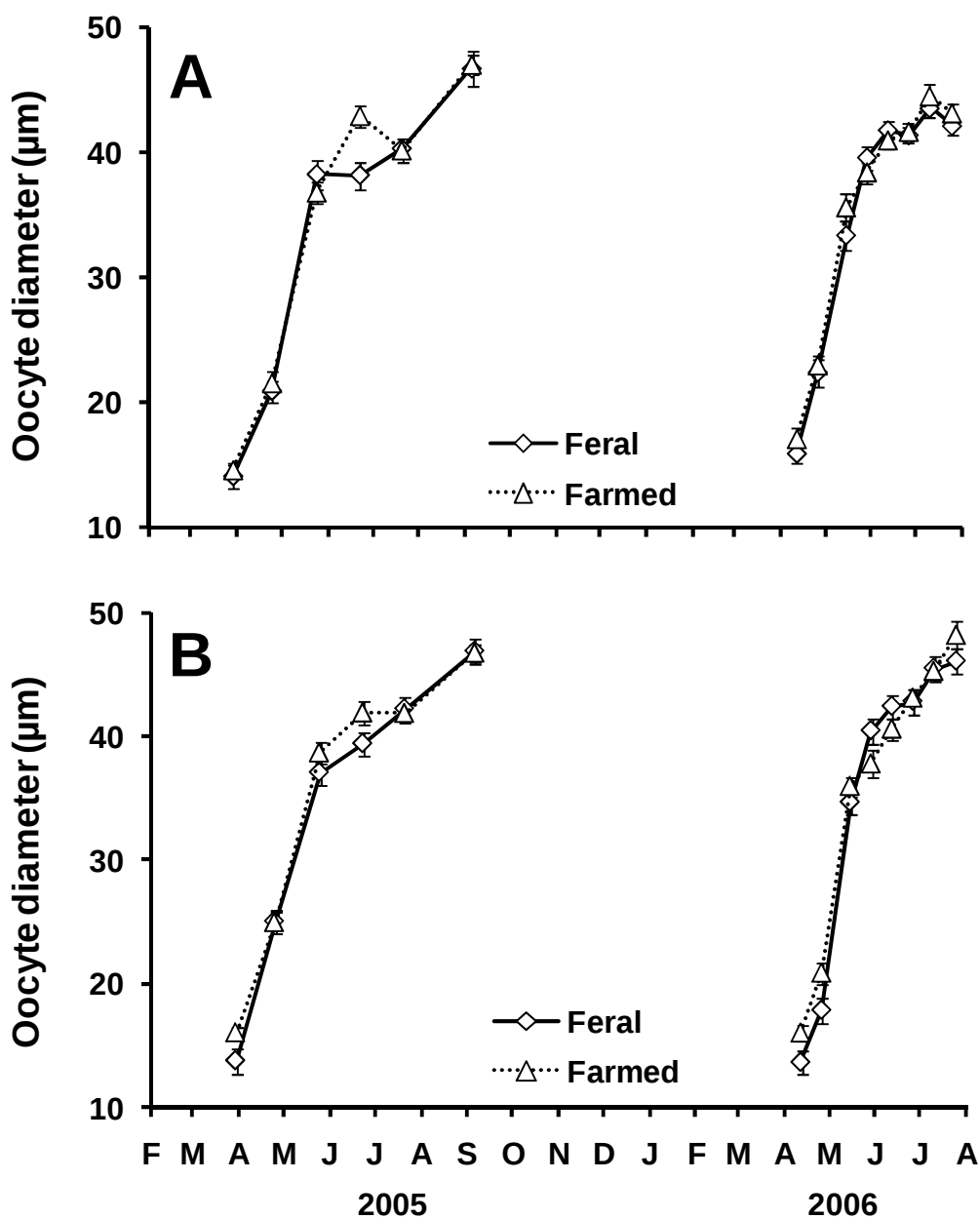


**Figure 46.** Annual mean and warmest month mean of water temperature since the introduction of *Crassostrea gigas* in the 1970's (Météo-France, Climathèque database, Noirmoutier, 2007), and relationship with the natural recruitment of feral oysters in Bourgneuf Bay (Goulletquer, 1995; Cognie *et al.*, 2004; 2006; Martin *et al.*, 2004; 2005). Dotted line corresponds to the median temperature (13.4°C) of annual mean water temperature, dashed line corresponds to the minimal threshold (20°C) for optimal *C. gigas* larval development.

**Figure 46.** Moyennes annuelles et moyennes des mois les plus chauds de la température de l'eau depuis l'introduction de *Crassostrea gigas* dans les années 1970 (Météo-France, Climathèque database, Noirmoutier, 2007), et relation avec le recrutement naturel des huîtres férales dans la baie de Bourgneuf (Goulletquer, 1995; Cognie *et al.*, 2004; 2006; Martin *et al.*, 2004; 2005). La ligne pointillée indique la médiane (13,4°C) des moyennes annuelles de la température de l'eau, et la ligne tiretée correspond au seuil minimal de température de l'eau (20°C) permettant un développement larvaire optimal de *C. gigas*.

#### 3.5.5.2. Microscopic determinations and oocyte size

Variations in oocyte size allowed identification of two distinct seasonal reproductive cycles in 2005 and 2006 (Figure 47). In 2005, no significant difference was observed for mean oocyte diameter in intra-site (two-way ANOVA,  $p = 0.85$ ) and inter-site (two-way ANOVA,  $p = 0.81$ ) comparisons. Similarly, in 2006, no significant difference was observed for mean oocyte diameter in intra-site (two-way ANOVA,  $p = 0.84$ ) and inter-site (two-way ANOVA,  $p = 0.94$ ) comparisons. In both years, the oocyte growth stage began in the same periods (end of March – beginning of April). However, the mature stage, corresponding to the dominance of ready-to-spawn post-vitellogenetic oocytes in the gonads, was reached more quickly in 2006 than in 2005 (two vs. three months). Gonads entered a degenerating stage (evidence of atresia in unspawned oocytes such as cell size increase and clearer cytoplasm – Dutertre *et al.*, in revision), more prematurely in 2006 than in 2005 (July vs. August, respectively).



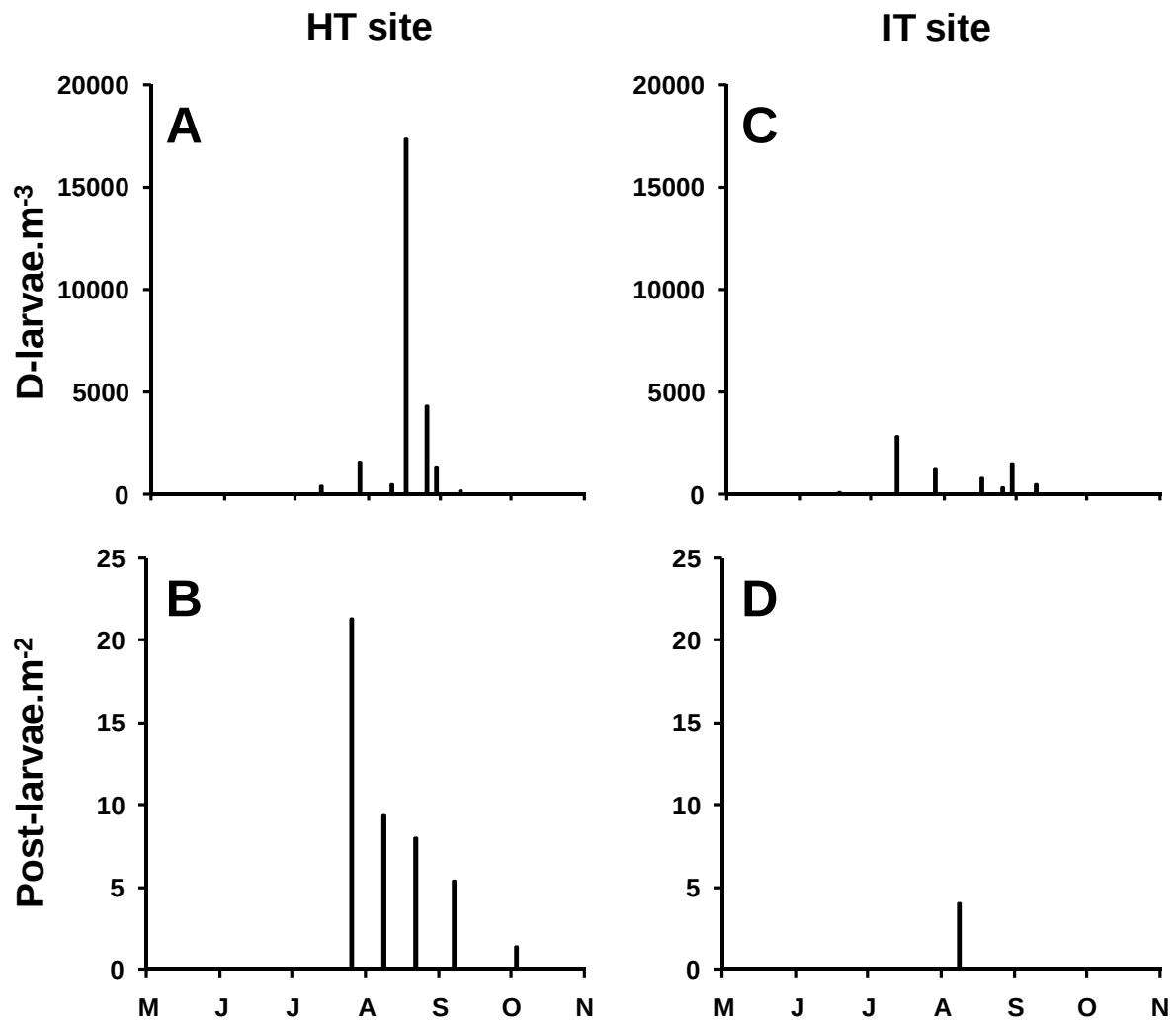
**Figure 47.** Mean oocyte diameters ( $\pm$  95% IC) for feral and farmed oysters, *Crassostrea gigas*, at northern high turbidity (HT, A) and southern intermediate turbidity (IT, B) sites of Bourgneuf Bay in 2005 and 2006.

**Figure 47.** Diamètres moyens ( $\pm$  intervalle de confiance à 95%) des ovocytes des huîtres férales et des huîtres cultivées (*Crassostrea gigas*), dans le site de forte turbidité (HT – A) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT – B) en baie de Bourgneuf, en 2005 et 2006.

#### 3.5.5.3. D-larva and post-larval densities

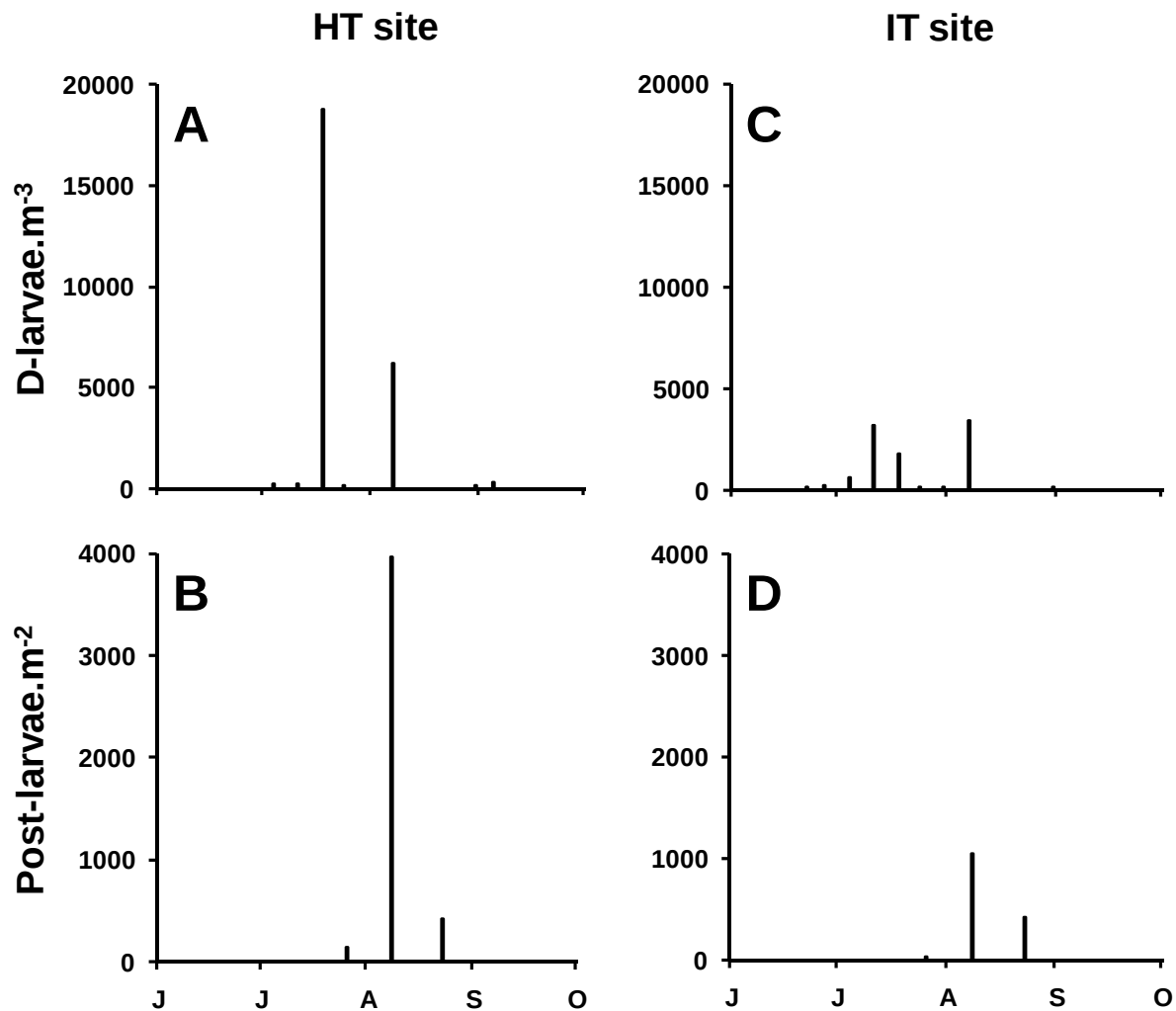
Cumulative D-larva densities showed significant differences related to both year and site (Figures 48 and 49, two-way ANOVA,  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively). Cumulative D-larva densities were higher at the HT site for both years (SNK-tests,  $p < 0.05$  for 2005 and  $p < 0.01$  for 2006). For the IT site, cumulative D-larva densities were higher in 2006 compared to 2005 (SNK-test,  $p < 0.05$ ), while, for the HT site, no significant differences were observed between the two years (SNK-test,  $p = 0.30$ ). At both sites, D-larvae appeared at the same periods: over two months in 2005, from the beginning of July to the beginning of September, with a marked increase of the planktonic larva densities observed at the end of August at the HT site. In 2006, the HT site showed two main peaks of planktonic larva densities, at the end of July and at the beginning of August, while, at the same periods, two smaller peaks of D-larva densities were recorded at the IT site.

Cumulative natural post-larval recruitment also showed significant differences related to both year and site (Figures 48 and 49, two-way ANOVA,  $p < 0.01$ ). Natural recruitment was much higher in 2006 compared to 2005 at both sites (SNK-tests,  $p < 0.001$  for the HT site and  $p < 0.05$  for the IT site). Inter-site differences in the monthly post-larval counts were also evident, with proportionately higher counts at the HT site in both 2005 and 2006.



**Figure 48.** D-larva (A, C) and post-larval (B, D) densities at the northern high turbidity (HT) and southern intermediate turbidity (IT) sites of Bourgneuf Bay for the year 2005.

**Figure 48.** Densités de larves-D (A, C) et de post-larves fixées (B, D) dans le site de forte turbidité (HT) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf pour l'année 2005.



**Figure 49.** D-larva (A, C) and post-larval (B, D) densities at the northern high turbidity (HT) and southern intermediate turbidity (IT) sites of Bourgneuf Bay for the year 2006.

**Figure 49.** Densités de larves-D (A, C) et de post-larves fixées (B, D) dans le site de forte turbidité (HT) et dans le site de turbidité intermédiaire (IT) en baie de Bourgneuf pour l'année 2006.

### 3.5.6. Discussion

#### 3.5.6.1. Water temperature and recent oyster invasion

At approximately 28000 t, the feral oyster stock in Bourgneuf Bay equals 70% of the annual farmed oyster production (Cognie *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2004; 2005). Water temperature variations, since the introduction of *C. gigas* for aquaculture, clearly show that

the onset of the feral oyster invasion coincided with a marked water warming (Fig. 4). Indeed, between 1970 and 1995, when annual mean water temperature was usually lower than the median temperature (13.4°C), cumulative feral oyster recruitment was very low (Le Borgne *et al.*, 1973; Gruet *et al.*, 1976; Goulletquer, 1995). Massive recruitment of feral oysters, observed since 1995 (Cognie *et al.*, 2006) corresponded to the beginning of the period where summer months often showed water temperature higher than 20°C, which is required for successful *C. gigas* larval development in hatcheries (Arakawa, 1990; Shatkin *et al.*, 1997; Chávez-Villalba *et al.*, 2002; Rico-Villa *et al.*, 2008). These quantitative historical data thus support earlier hypotheses of a relationship between *C. gigas* proliferation in cool temperate European ecosystems and global warming (Diederich *et al.*, 2005; Ruesink *et al.*, 2005; Smaal *et al.*, 2005). Among the temperature-related variables which could contribute to this proliferation are those which chiefly affect larval survival and subsequent recruitment of feral oysters: oocyte reserves, spawning period and seston conditions (Baldwin and Newell, 1995; Powell *et al.*, 2002; Chávez-Villalba *et al.*, 2003; Rico-Villa *et al.*, 2008).

#### 3.5.6.2. Oocyte fate timed by water temperature thresholds

During two successive reproductive cycles of *C. gigas*, oocyte diameter variations showed that the field reproductive cycle was timed by discrete water temperature thresholds (Dutertre *et al.*, in press). The oocyte growing stage, characterized by both an increase in size and in vitellin reserves (see Gosling, 2003 for recent review), began when spring water temperature reached 8-10°C. The mature stage was reached more quickly in 2006 than in 2005 (two vs. three months), corresponding to a reduced daily amplitude of water temperatures in 2006, and also to a greater energy level of breeders due to higher spring food quality (chl-a:POM ratio) and/or recovery of energy from the large amount of reabsorbed atretic oocytes at the end of summer 2005 (Dutertre *et al.*, in press). Although early partial spawns could be detected when daily variations in water temperature briefly exceeded 18°C, water temperatures of 15 – 18°C cause mature, unspawned oocytes to enter atresia (Dutertre *et al.* in press). Major spawning activities were recorded when summer water temperature, higher than 20°C, could efficiently sustain *C. gigas* larval development (Chávez-Villalba *et al.*, 2002; Rico-Villa *et al.*, 2008).

Similar oocyte size in farmed and feral oysters at both sites indicated that future fertilized eggs would contain equivalent amounts of vitellus for the endotrophic and

mixotrophic larval stages (Lucas *et al.*, 1986; His and Seaman, 1992; Cannuel and Beninger, 2005). This result is in agreement with the observation that variations in reproductive effort in *C. gigas* reflect variations in gamete quantity rather than quality (Caers *et al.*, 2002; Chávez-Villalba *et al.* 2003; Cannuel and Beninger, 2005).

#### 3.5.6.3. Planktonic larval life

Maximal planktonic larva densities in the water column were observed during defined summer periods in which high oyster fecundity was synchronized with a water temperature higher than 20 - 22°C. D-larva densities corresponded to the patterns of breeder spawning strategy at both sites in 2005 and 2006, but early spawns, which occurred when water temperature was below the threshold allowing an optimal larval development (Dutertre *et al.*, in revision), were not accompanied by larval presence. Moreover, although IT oysters had more pronounced spawns compared to HT oysters in both years (Dutertre *et al.*, in press), D-larva densities were higher at the HT site, which presented slightly, but non-statistically significant, higher summer temperatures. This may also be due to the significantly higher level of chlorophyll-*a* at the HT site; in other words, the poor food quality at the HT site was amply compensated by the sheer amount of food available for the larvae.

#### 3.5.6.4. Feral oyster recruitment

Natural post-larval recruitment at both HT and IT sites was much higher in 2006 (4540 and 1489 annual settled post-larvae. m<sup>-2</sup>, respectively) compared to 2005 (45 and 4 annual settled post-larvae.m<sup>-2</sup>, respectively). Although 2006 could be considered an exceptionally favorable year for oyster reproduction and post-larval recruitment in relation to the warmer summer temperatures, natural recruitment in Bourgneuf Bay remained very low compared to more southern coastal ecosystems. Indeed, the best natural recruitments in Arcachon Bay over the past twenty years were reported in 2003 and 2006 with more than 60 000 settled post-larvae.m<sup>-2</sup> of limed tiles (Auby *et al.*, 2006). Environmental conditions at the HT site, notably the chlorophyll-*a* levels, regardless of the organic matter dilution, appear to promote local feral oyster recruitment. This is confirmed by oyster-farmer practices over the past several years, which preferentially use the HT site to install artificial spat collectors (Marion Petit,

Section Régionale Conchylicole, Bouin, France, pers. com.). Once established, large feral oyster reefs can disrupt flow, limit larval dispersal, and offer substrate for settlement, enhancing local post-larval recruitment at the HT site.

### **3.5.7. Conclusion**

The historical data presented here clearly show that *C. gigas* proliferation in the Bourgneuf Bay ecosystem corresponds to warmer water temperatures, particularly since 1995. A similar evolution in water temperatures has been recorded at more northerly sites (Wadden Sea), also corresponding to increasing *C. gigas* recruitment (Diederich et al, 2005). The underlying processes of reproduction and development are acutely sensitive to such warming through the threshold temperatures of oocyte growth and larval development, and ultimately greater recruitment of post-larval feral oysters, as shown by the recent fine-scale temporal data of the present study. A continuation of the warming trend in water temperatures should thus produce an intensification of this proliferation, and a range extension northward in shallow European bays, including those used for oyster farming. Given the now near-ubiquitous distribution of *C. gigas* in temperate coastal habitats, these observations should serve to alert the marine environment research community to potentially similar situations worldwide.

### **3.5.8. Acknowledgements**

We thank David Lecossois for the installation of the animals used in this study in oyster bags at his farm, and Odile Aumaille for technical assistance in histological analyses. Research funding was provided by the Syndicat Mixte pour le Développement de l'Aquaculture et de la Pêche (SMIDAP) de la Région des Pays de la Loire, and M. Dutertre was supported by a PhD scholarship from the Ministère Français de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur.

**CONCLUSIONS  
ET  
PERSPECTIVES**



Les travaux présentés dans cette thèse mettent en évidence les mécanismes morphologiques et physiologiques qui, depuis deux décennies, permettent à *Crassostrea gigas* d'établir des populations envahissantes d'huîtres férales dans les écosystèmes côtiers turbides des régions tempérées. Les données originales obtenues *in situ* sur les mécanismes d'alimentation, le cycle de reproduction et le développement larvaire peuvent contribuer à une meilleure gestion des populations d'huîtres férales et d'huîtres cultivées au sein des écosystèmes caractérisés par de fortes concentrations en matière en suspension (MES).

Contrairement aux mesures massiques utilisées habituellement pour étudier la morphologie des organes palléaux des Bivalves (Honkoop *et al.*, 2003; Drent *et al.*, 2004) et susceptibles d'être influencées par l'état physiologique des individus, la technique d'analyse d'image développée dans nos travaux permet de prendre uniquement en compte les surfaces de traitement des particules au niveau des branchies et des palpes labiaux. Les augmentations conjointes de la concentration en MES et de la taille des palpes labiaux des huîtres férales mettent en évidence le rôle clé de cet organe dans l'adaptation de *C. gigas* aux fortes charges sestoniques. Il semble, en effet, que contrairement à ce qui a été démontré chez les Bivalves homorhabdites (Theisen, 1982; Essink *et al.*, 1989; Payne *et al.*, 1995a; 1995b; Drent *et al.*, 2004), la morphologie de la branchie hétérorhabdite des huîtres soit plus influencée par la ressource trophique que par la quantité de MES. Le développement d'une association fonctionnelle entre les branchies hétérorhabdites pseudolamellibranches et les palpes labiaux des Ostréidés constitue un élément déterminant de l'histoire évolutive des Bivalves qui doit être pris en compte dans les interactions entre les organismes et leur milieu (Stasek, 1963). D'un point de vue morpho-anatomique, cette association fonctionnelle est traduite par le rapport B/P (surface branchiale/surface des palpes) des huîtres férales qui, en raison de sa relation inverse et hautement significative avec la concentration en MES, pourrait être utilisé dans les études écophysiologiques comme indicateur valide de l'acclimatation des individus aux conditions de turbidité (Payne *et al.*, 1995b; Drent *et al.*, 2004; Compton *et al.*, 2007; 2008).

L'origine phénotypique de la variabilité intraspécifique des tailles des organes palléaux de *C. gigas* a été démontrée au moyen de transplantations réciproques intersites, associées à des enregistrements en continu des paramètres environnementaux. L'exposition prolongée à de nouvelles conditions de turbidité lors de variations saisonnières ou d'un changement de site entraîne des modifications réversibles de la morphologie des branchies et des palpes labiaux, clairement mises en évidence par le rapport B/P. Une question demeure concernant le lien entre la plasticité phénotypique des tailles des organes palléaux et les variations du nombre de

voies de traitement des particules. Nous avons observé, chez les huîtres de la baie de Bourgneuf, que l'accroissement en taille des palpes s'accompagnait d'une augmentation du nombre de plis sur leur surface. Les structures ciliaires des branchies et des palpes sont elles-mêmes susceptibles de subir des modifications liées à la turbidité. En effet, les cirres eulatéro-frontaux de *C. gigas* tendent à être plus longs et moins espacés dans les environnements où la concentration en MES est plus importante (Barillé *et al.*, 2000). De même, des structures ciliaires particulières, appelées « cirres frontaux », semblent être présentes en plus forte densité sur les branchies de certaines espèces de Bivalves habitant des eaux turbides (Atkins, 1937; Way, 1988).

Des mesures *in vivo* des réponses fonctionnelles ont démontré que l'association de grands palpes labiaux et de petites branchies permettait une augmentation du taux de filtration et de l'efficacité de la sélection pré-ingestive des particules lorsque *C. gigas* était soumise à une augmentation de la charge sestonique. Ceci établit clairement que la variabilité morphologique des branchies et des palpes labiaux constitue un mécanisme de tolérance vis-à-vis des conditions de turbidité et pourrait expliquer l'établissement de populations pérennes d'huîtres férales dans les écosystèmes côtiers turbides. L'utilisation de deux espèces de microalgues de nature différente, l'une vivante (*Skeletonema costatum*) et l'autre thermodégradée (*Tetraselmis suecica*), pour alimenter les huîtres, a également permis de mettre en évidence la capacité de *C. gigas* à opérer une sélection fine sur des particules organiques de petite taille. En raison de l'avantage sélectif qu'elle peut représenter dans le cadre de la compétition trophique intraspécifique, la flexibilité des branchies et celle des palpes labiaux devraient également être étudiées chez les huîtres cultivées qui, contrairement aux huîtres férales, sont d'origine exogène et susceptibles de moins bien tolérer les fortes concentrations en MES. La détermination des limites et des coûts énergétiques de la plasticité phénotypique des organes palléaux permettrait probablement d'affiner la modélisation des mécanismes d'alimentation de *C. gigas* et d'adapter les modèles aux environnements côtiers caractérisés par de fortes concentrations en MES. Il serait également intéressant de comparer les performances écophysiologiques de *C. gigas* avec celles des Bivalves homorhabdites, afin de déterminer si la structure hétérorhabdique des branchies d'huîtres représente un élément de tolérance vis-à-vis des fortes turbidités (Beninger *et al.*, 2008b).

Sur le site modèle de la baie de Bourgneuf, un écosystème tempéré turbide récemment envahi par des huîtres férales, la combinaison d'analyses histologiques approfondies des gonades de *C. gigas* et d'enregistrements en continu des paramètres environnementaux a révélé un cycle reproducteur annuel caractérisé par deux périodes principales d'émissions de

gamètes et rythmé par les variations de la température de l'eau. A la fin du printemps, les gamètes émis sont normaux et fertiles, tandis qu'à la fin de l'été, beaucoup de ces gamètes montrent des signes d'atrésie et sont dégénérés. Cette stratégie de reproduction particulière est liée à des seuils physiologiques de température de l'eau, induisant *in situ* la maturation des gonades (8-10°C), l'émission des gamètes (>18°C) et l'atrésie gamétique (< 15°C). La régulation de la reproduction de *C. gigas* par ces seuils est si précise, qu'une plus grande variabilité de la température de l'eau au nord de la baie de Bourgneuf provoque les premières émissions de gamètes un mois avant celles des huîtres vivant à seulement 15 km au sud. Les huîtres férales, qui présentent une atrésie gamétique deux fois moins importante que les huîtres cultivées et qui semblent, par conséquent, être plus fertiles, pourraient, de part leur nombre croissant, être les principaux acteurs de l'invasion de *C. gigas* en baie de Bourgneuf. La stratégie de reproduction originale que nous avons constatée ainsi que les données nouvelles concernant la reproduction des huîtres férales constituent des éléments déterminants pour la compréhension de la dynamique des populations de *C. gigas* dans les écosystèmes tempérés. Les seuils physiologiques de température de l'eau et la stratégie de reproduction, mis en évidence dans des environnements présentant différentes qualités et quantités de MES, ont été intégrés dans la conception d'un modèle écophysiologique déterministe visant à prédire la croissance de *C. gigas* dans les habitats turbides (Barillé *et al.*, 1997a; Haure *et al.*, 2008).

L'indice gaméto-somatique développé dans nos travaux à partir de l'analyse d'images numériques permet d'exclure la proportion représentée par les tissus gonadiques non gamétiques sur les coupes histologiques et, par conséquent, d'évaluer l'effort de reproduction de *C. gigas* uniquement à partir de la proportion de gamètes. Les résultats ainsi obtenus montrent que les variations de la qualité et de la quantité des MES ont peu d'influence sur l'effort de reproduction des huîtres de la baie de Bourgneuf. Sachant que les méthodes de gestion des stocks d'huîtres cultivées ne peuvent pas s'appliquer aux huîtres férales, il semble également pertinent de déterminer le rôle joué par chacun des deux types d'huîtres dans la prolifération de *C. gigas*. La comparaison des indices gaméto-somatiques suggère que la proportion d'énergie investie dans la reproduction par les huîtres férales est similaire à celle des huîtres cultivées, et renforce le caractère discriminant de la fertilité des gamètes dans la contribution de chaque type de géniteurs au recrutement de nouveaux individus. Compte tenu de lacunes concernant les caractéristiques de l'atrésie des gamètes chez *C. gigas*, des études en conditions contrôlées permettraient notamment de déterminer avec précision les facteurs régulant ce mécanisme fondamental, ainsi que son impact sur le bilan énergétique des

géniteurs et sur le développement des larves. L'intégration de l'indice gaméto-somatique et des flux d'énergie liés à l'atrésie dans un modèle de croissance de *C. gigas* est actuellement envisagée (Haure *et al.*, 2008). Les observations histologiques révélant des différences avec ce qui a été constaté chez d'autres Bivalves (Lubet *et al.*, 1987; Pipe, 1987; Barber *et al.*, 1988; Morvan et Ansell, 1988; Dorange et Le Pennec, 1989), des études en microscopie électronique à transmission sont en cours afin de réaliser les premières descriptions ultrastructurales des phénomènes d'atrésie chez *C. gigas*.

La confrontation des variations de la température de l'eau, depuis l'introduction de *C. gigas*, et des observations historiques concernant le recrutement naturel de cette espèce en baie de Bourgneuf corrobore l'hypothèse concernant le lien entre le réchauffement climatique global et l'invasion récente des huîtres férales dans les écosystèmes tempérés de l'hémisphère nord (Drinkwaard, 1999; Diederich *et al.*, 2005; Cognie *et al.*, 2006). En effet, la prolifération massive d'huîtres férales observée depuis le début des années 1990 coïncide avec la période durant laquelle les températures estivales sont le plus souvent au-dessus du seuil minimum de 20°C, favorable au développement larvaire de *C. gigas*. Nous avons démontré l'influence de la température de l'eau sur le recrutement naturel de *C. gigas* au moyen d'expérimentations *in situ* qui ont notamment révélé qu'une augmentation de 1,5°C de la température estivale moyenne de l'eau était associée à un recrutement de naissains nettement plus important en 2006 qu'en 2005. Étant donné le réchauffement global des eaux de surface et l'augmentation des températures estivales dans le nord de l'Europe prédits par les modèles climatiques actuels (Christensen et Christensen, 2003; Schär *et al.*, 2004; Ruosteenoja *et al.*, 2007; Solomon *et al.*, 2007), la relation existant entre l'intensité du recrutement de *C. gigas* et la température de l'eau peut être utilisée pour prévoir l'évolution des populations d'huîtres férales dans les écosystèmes côtiers tempérés. Bien qu'une nourriture plus abondante puisse être à l'origine des recrutements plus importants de naissains de *C. gigas* dans la partie nord de la baie de Bourgneuf, cette hypothèse reste à confirmer notamment par la comparaison des densités d'organismes planctonophages au nord et au sud de la baie de Bourgneuf, ainsi que par la modélisation de la dispersion des larves en fonction de l'hydrodynamisme.

Au même titre que les variations climatiques, les invasions biologiques sont désormais considérées comme étant une composante importante du « Changement Global » des écosystèmes marins et font l'objet, depuis la Convention sur la Diversité Biologique de Rio, en 1992, de débats tant scientifiques que politiques (Occhipinti-Ambrogi et Savini, 2003; Occhipinti-Ambrogi, 2007). A l'heure actuelle, la plupart des études menées sur les conséquences de l'invasion de *C. gigas* dans les écosystèmes tempérés concernent l'impact

des huîtres férales sur la biodiversité régionale et sur les espèces exploitées (Reise, 1998; Smaal *et al.*, 2005; Nehls *et al.*, 2006; Diederich, 2005; 2006; Ruesink, 2007). L'émergence de vastes substrats solides et tridimensionnels, liée au développement de récifs biogéniques d'huîtres, est notamment susceptible de complètement bouleverser l'hydrodynamisme et la biodiversité des vasières intertidales. Cependant, l'intensification du captage naturel de *C. gigas* pourrait également représenter un intérêt économique pour certaines régions ostréicoles en réduisant les coûts liés à l'utilisation de naissains exogènes ou d'écloserie. Dans le nord de la baie de Bourgneuf, là où nous avons observé les meilleurs recrutements de *C. gigas*, les secteurs des Moutiers et de la Bernerie sont d'ores et déjà utilisés comme parcs de captage de naissains par les ostréiculteurs (Section Régionale Conchylicole, 2009). Après les mortalités massives de juvéniles de *C. gigas* survenues sur l'ensemble du littoral français au cours de l'été 2008, il s'est avéré que les huîtres férales semblaient moins touchées par ce phénomène que les huîtres cultivées. Conformément aux suggestions des professionnels et des biologistes concernant l'utilisation possible des huîtres férales pour relancer la production ostréicole, le ramassage de ces dernières par les pêcheurs à pied a été interdit, pendant un an, par arrêtés préfectoraux dans certaines « réserves naturelles » tels la Rade de Brest ou l'estuaire de la Vilaine. Alors que la surmortalité de l'été 2008, qui avait entraîné de 40% à 100% de pertes de naissains d'huîtres, semble se répéter en 2009 (IFREMER, 2009), l'intérêt économique des huîtres férales pourrait se confirmer et s'accompagner d'un changement de perception vis-à-vis de ces envahisseurs venant au secours d'une profession sinistrée. Il est désormais impératif d'orienter la recherche sur les performances biologiques de ces populations concurrentes et complémentaires des huîtres d'élevage.



## **BIBLIOGRAPHIE**



## - A -

- Akberali H.B., Trueman E.R., 1985. Effects of environmental stress on marine bivalve molluscs. *Advances in Marine Biology* 22:102-183.
- Amemiya I., 1929. On the sex change in the Japanese common oyster (*Ostrea gigas*). *Proceedings of the Imperial Academy of Tokyo* 5:284-286.
- Anderson T.J., Pejrup M., 2001. Suspended sediment transport on a temperate, microtidal mudflat, the Danish Wadden Sea. *Marine Geology* 173:69-85.
- Andrews J.D., 1979. Pelecypoda:Ostreidae. In: Giese, A.C. and Pearse, J.S. (eds.). *Reproduction of Marine Invertebrates. Molluscs: Pelecypods and Lesser Classes*. Academic Press, New York, pp. 293-341.
- Andrews J.D., 1980. A review of introductions of exotic oysters and biological planning for new importations. *Marine Fisheries Review* 42:1-11.
- Arakawa K.Y., 1990. Natural spat collecting in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Marine Behavior and Physiology* 17:95-128.
- Asmus H., 1987. Secondary production of an intertidal mussel bed community related to its storage and turnover compartments. *Marine Ecology Progress Series* 39:251-266.
- Asmus H., Asmus R.M., Zubillaga F., 1995. Do mussel beds intensify the phosphorus exchange between sediment and tidal waters? *Ophelia* 41:37-55.
- Atkins D., 1937. On the ciliary mechanisms and interrelationships of lamellibranches. Part II: Sorting devices on the gills. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 79:339-373.
- Auby I., Maurer D., Valvason M.L., Gueguen C., Guillard F., 2002. Mise au point d'une nouvelle méthode de suivi de la reproduction de l'huître creuse: Comparaison avec la méthode traditionnelle. Rapport Direction de l'Environnement et de l'Aménagement du Littoral. IFREMER RST.DEL/02.01/ARCACHON.
- Auby I., Maurer D., Cassam-Chenai Y., Tournaire M.-P., Neaud-Masson N., Rumèbe M., Cantin C., Debort H., Germain J.-M., Navarro R. 2006. Reproduction de l'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon: Année 2006. Rapport Direction de l'Environnement et de l'Aménagement du Littoral. IFREMER RST/LER/AR/06-006.

## - B -

- 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*. *Aquatic Living Resources* 2:199-214.
- Bacher C., Duarte P., Ferreira J.G., Héral M., Raillard O., 1998. Assessment and comparison of the Marennes-Oléron Bay (France) and Carlingford Lough (Ireland) carrying capacity with ecosystem models. *Aquatic Ecology* 31:379-394.

- Bacher C., Raillard O., Ménesguen A., Barillé L., 1994. Modélisation de la production primaire phytobenthique et phytoplanctonique et de la croissance des huîtres cultivées dans la baie de Marennes-Oléron. In: Symposium sur les relations continent-zones côtières, La Rochelle, 13-15 Septembre 1994, CEMAGREF, GIPHYDROSYSTÈMES, IFREMER, 22 pp.
- Bacon G.S., MacDonald B.A., Ward J.E., 1998. Physiological responses of infaunal (*Mya arenaria*) and epifaunal (*Placopecten magellanicus*) bivalves to variations in the concentration and quality of suspended particles I. Feeding activity and selection. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 219:105-125.
- Baker S.M., Levinton J.S., Kurdziel J.P., Shumway S.E., 1998. Selective feeding and biodeposition by zebra mussels and their relation to changes in phytoplankton composition and seston loads. *Journal of Shellfish Research* 17:1207-1213.
- Baldwin B.S., Newell R.I.E., 1995. Feeding rate responses of oyster larvae (*Crassostrea virginica*) to seston quantity and composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 189:77-91.
- Barber B.J., 1996. Gametogenesis of eastern oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), and Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in disease-endemic lower Chesapeake Bay. *Journal of Shellfish Research* 15:285-290.
- Barber B.J., Getchell R., Shumway S., Schick D., 1988. Reduced fecundity in a deep-water population of the giant scallop *Placopecten magellanicus* in the gulf of Maine, U.S.A., *Marine Ecology Progress Series* 42:207-212.
- Barbier E.B., 2001. A note on the economics of biological invasions. *Ecological Economics* 39:197-202.
- Barillé A.-L., 1996. Contribution à l'étude des potentialités conchyliques du pertuis breton. Thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille II, France.
- Barillé L., 1994. Observations des éléments structuraux intervenant dans les mécanismes de nutrition préingestifs chez l'huître japonaise *Crassostrea gigas*. *Haliotis* 23:125-137.
- Barillé L., Haure J., Cognie B., Leroy A., 2000. Variations in pallial organ and eulatero-frontal cirri in response to high particulate matter concentrations in the oyster *Crassostrea gigas*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57:837-843.
- Barillé L., Héral M., Barillé-Boyer A.-L., 1997a. Modélisation de l'écophysiologie de l'huître *Crassostrea gigas* dans un environnement estuarien. *Aquatic Living Resources* 10:31-48.
- 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*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 171:91-106.

- Barillé L., Prou J., Héral M., Razet D., 1997b. Effects of high natural seston concentration on the feeding, selection and absorption of the oyster *Crassostrea gigas*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 212:149-172.
- Barillé-Boyer A.-L., Barillé L., Massé H., Razet D., Héral M., 2003. Correction for particulate organic matter as estimated by loss on ignition in estuarine ecosystems. Estuarine, Coastal and Shelf Science 58:147-153.
- Bartlett B.R., 1979. Biochemical changes in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1795) during larval development and metamorphosis. Proceedings of the National Shellfisheries Association 69:202.
- Batista F.M., Ben-Hamadou R., Fonseca V.G., Taris N., Ruano F., Reis-Henriques M.A., Boudry, P., 2008. Comparative study of shell shape and muscle scar pigmentation in the closely related cupped oysters *Crassostrea angulata*, *C. gigas* and their reciprocal hybrids. Aquatic Living Resources 21:31-38.
- Batista F.M., Leitão A., Fonseca V.G., Ben-Hamadou R., Ruano F., Henriques M.A., Guedes-Pinto H., Boudry P., 2007. Individual relationship between aneuploidy of gill cells and growth rate in the cupped oysters *Crassostrea angulata*, *C. gigas* and their reciprocal hybrids. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 352:226-233.
- Baud J.P., Haure J., 1988. Estimation des stocks de moules de gisements naturels dans la baie de Bourgneuf en 1986. Rapport interne IFREMER DRV 88-012-RA/BOUIN, 32 pp.
- Bayne B.L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). Ophelia 2:1-47.
- Bayne B.L. 2004. Phenotypic flexibility and physiological trade-offs in the feeding and growth of marine bivalve molluscs. Integrative and Comparative Biology 44:425-432.
- 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.. Marine Biology Letters 3:89-105.
- Bayne B.L., Hawkins A.J.S., Navarro E., 1987. Feeding and digestion by the mussel *Mytilus edulis* L. (Bivalvia: Mollusca) in mixtures of silt and algal cells at low concentrations. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 111:1-22.
- Bayne B.L., Honkoop P.J.C., 2003. Phenotypic flexibility. Trends in Ecology and Evolution 18(11):554-555.
- Bayne B.L., Salkeld P.N., Worrall C.M., 1983. Reproductive effort and value in different populations of the marine mussel *Mytilus edulis* L.. Oecologia 59:18-36.
- Beattie J., Chew K., Hershberger W., 1980. Differential survival of selected strains of Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*) during summer mortality. Proceedings of the National Shellfisheries Association 70:184-189.

- Beatty N., Aldrich J.C., 1993. Changes in growth rate, morphology and condition after transplanting *Mytilus edulis* (L.) to Lough Foyle where silt is extremely high. In: Proceedings of the 27<sup>th</sup> European Marine Biology Symposium, JAPAGA, Ashford, pp. 191-198.
- Beninger P.G., 1987. A qualitative and quantitative study of the reproductive cycle of the giant scallop, *Placopecten magellanicus*, in the Bay of Fundy (New Brunswick, Canada). Canadian Journal of Zoology 65(3):495-498.
- Beninger P.G., Cannuel R., 2006. Acquisition of particle processing capability in the oyster *Crassostrea gigas*: ontogeny of the mantle pseudofeces rejection tracts. Marine Ecology Progress Series 325:153-163.
- Beninger P.G., Cannuel R., Blin J.-L., Pien S., Richard O., 2001. Reproductive characteristics of the archaeogastropod *Megathura crenulata*. Journal of Shellfish Research 20:301-307.
- Beninger P.G., Cannuel R., Jaunet S., 2005. Particle processing on the gill plicae of the oyster *Crassostrea gigas*: fine-scale mucocyte distribution and functional correlates. Marine Ecology Progress Series 295:191-199.
- Beninger P.G., Decottignies P., 2008. Worth a second look: gill structure in *Hemipecten forbesianus* (Adams & Reeve, 1849) and taxonomic implications for the Pectinidae. Journal of Molluscan Studies 74:137-142.
- Beninger P.G., Decottignies P., 2004. What makes diatoms attractive for suspensivores? The organic casing and associated organic molecules of *Coscinodiscus perforatus* are quality cues for the bivalve *Pecten maximus*. Journal of Plankton Research 27(1):11-17.
- Beninger P.G., Decottignies P., Rincé Y., 2004. Localization of qualitative particle selection sites in the heterorhabdic filibranch *Pecten maximus* (Bivalvia: Pectinidae). Marine Ecology Progress Series 275:163-173.
- Beninger P.G., Dufour S.C., 1996. Mucocyte distribution and relationship to particle transport on the pseudolamellibranch gill of *Crassostrea virginica* (Bivalvia: Ostreidae). Marine Ecology Progress Series 137:133-138.
- Beninger P.G., Dufour S.C., 2000. Evolutionary trajectories of a redundant feature: lessons from bivalve gill abfrontal cilia and mucocytes distribution. Special Publications of the Geological Society of London 177:273-278.
- Beninger P.G., Dufour S.C., Bourque J., 1997. Particle processing mechanisms of the eulamellibranch bivalves *Spisula solidissima* and *Mya arenaria*. Marine Ecology Progress Series 150:157-169.
- Beninger P.G., Le Pennec M., 1991. Functional anatomy of scallops. In: Shumway S.E. (ed.). Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 133-223.

- Beninger P.G., Lucas A., 1984, Seasonal variations in condition, reproductive activity, and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussates* L. (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams and Reeve). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 79:19-37.
- Beninger P.G., St-Jean S.D., 1997. Particle processing on the labial palps of *Mytilus edulis* and *Placopecten magellanicus* (Mollusca: Bivalvia). *Marine Ecology Progress Series* 147:117-127.
- Beninger P.G., Valdizan A., Cognie B., Guiheneuf F., Decottignies P., 2008a. Wanted: Alive and not dead – Functioning diatom status is a quality cue for the suspension-feeder *Crassostrea gigas*. *Journal of Plankton Research* 30(6):689-697.
- Beninger P.G., Valdizan A., Decottignies P., Cognie B., 2008b. Impact of seston characteristics on qualitative particle selection sites and efficiencies in the pseudolamellibranch bivalve *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 360(1):9-14.
- Beninger P.G., Veniot A., 1999. The oyster proves the rule: mechanisms of pseudofaeces transport and rejection on the mantle of *Crassostrea virginica* and *C. gigas*. *Marine Ecology Progress Series* 190:179-188.
- Beninger P.G., Ward J.E., MacDonald B.A., Thompson R.J., 1992. Gill function and particle transport in *Placopecten magellanicus* (Mollusca: Bivalvia) as revealed using video endoscopy. *Marine Biology* 114:281-288.
- Berg J.A., Newell R.I.E., 1986, Temporal and spatial variations of seston available to the suspension feeder *Crassostrea virginica*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 23:375-386.
- Bernard F.R., 1974. Particle sorting and labial palp function in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Biological Bulletin* 146:1-10.
- Bernay B., Baudy-Floc'h M., Zanuttini B., Zatylny C., Pouvreau S., Henry J., 2006. Ovarian and sperm regulatory peptides regulate ovulation in the oyster *Crassostrea gigas*. *Molecular Reproduction and Development* 73:607-616.
- 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). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 125(3):359-369.
- Bioret F., Estève R., Sturboia A., 2009. Dictionnaire de la protection de la nature. Presses Universitaires de Rennes, France, 537 pp.
- Bodoy A., Garnier J., Razet D., Geairon P., 1990. Mass mortalities of oysters (*Crassostrea gigas*) during spring 1988 in the bay of Marennes-Oléron, related to environmental conditions. *Note ICES CM 1990 / K 11*, pp. 11-23.

- Boudouresque C.F., 2005. Les espèces introduites et invasives en milieu marin, Seconde édition. GIS Posidonie Publisher, Marseille, 152 pp.
- Boudry P., Heurtebise S., Collet B., Cornette F., Gérard A., 1998. Differentiation between populations of the Portuguese oyster, *Crassostrea angulata* (Lamark) and the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) revealed by mtDNA RFLP analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 226:279-291.
- Bougrier S., Geairon P., Deslous-Paoli J.M., Bacher C., Jonquieres G., 1995. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 134:143–154.
- Bougrier S., Hawkins A.J.S., Héral M. 1997. Preingestive selection of different microalgal mixtures in *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis*, analysed by flow cytometry. *Aquaculture*. 150:123-134.
- Bourlès Y., Alunno-Bruscia M., Pouvreau S., Tollu G., Leguay D., Arnaud C., Goulletquer P., Kooijman S.A.L.M., in press, Modelling growth and reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: Advances in the oyster-DEB model through application to a coastal pond. *Journal of Sea Research*.
- Brandt G., Wehrmann A., Wirtz K.W., 2008. Rapid invasion of *Crassostrea gigas* into the German Wadden Sea dominated by larval supply. *Journal of Sea Research* 59:279-296.
- Breitburg D.L., Palmer M.A., Loher T., 1995. Larval distributions and the spatial patterns of settlement of an oyster reef fish - responses to flow and structure. *Marine Ecology Progress Series* 125:45–60.
- Brillant M.G.S., MacDonald B.A., 2003. Postingestive sorting of living and heat-killed *Chlorella* within the sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 290:81-91.
- Browne R.A., Russell-Hunter W.O., 1978. Reproductive effort in molluscs. *Oecologia* 37:23-27.
- Burke R.D., 1983. The induction of metamorphosis of marine invertebrate larvae: stimulus and response. *Canadian Journal of Zoology* 61:1701-1719.
- Buroker N.E., 1983. Sexuality with respect to shell length and group size in the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Malacologia* 23:271-279.

## - C -

- Caers M., Utting S.D., Coutteau P., Millican P.F., Sorgeloos P., 2002. Impact of the supplementation of a docosahexaenoic acid-rich emulsion on the reproductive output of oyster broodstock, *Crassostrea gigas*. *Marine Biology* 140:1157-1166.
- Callard G., Callard I., 1998. Spermatogenesis in Nonmammals. In: Knobil E. & Neill J.D. (eds). *Encyclopedia of Reproduction*, Academic Press, San Diego, USA, pp. 563-570.

- Cannuel R., Beninger P.G., 2005. Is oyster broodstock feeding always necessary? A study using oocyte quality predictors and validators in *Crassostrea gigas*. *Aquatic Living Resources* 18:35-43.
- Cannuel R., Beninger P.G., 2006. Gill development, functional and evolutionary implications in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia: Ostreidae). *Marine Biology* 149(3):547-563.
- Cannuel R., Beninger P.G., 2007. Acquisition of particle processing capability in juvenile oyster *Crassostrea gigas*: ontogeny of gill mucocytes. *Marine Biology* 151(3):897-905.
- Cardoso J.F.M.F., Langlet D., Loff J.F., Martins A.R., Witte J.I.J., Santos P.T., van der Veer H.W., 2007. Spatial variability in growth and reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) along the west European coast. *Journal of Sea. Research* 57 :303-315.
- Carlton J.T., 1985. Transoceanic and interoceanic dispersal of coastal marine organisms: the biology of ballast water. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 23:313-371.
- Carlton J.T., 1989. Man's role in changing the face of the ocean: biological invasions and implications for conservation of near-shore environments. *Conservation Biology* 3:265-273.
- Carlton J.T., 1992. Introduced marine and estuarine mollusks of North-America: an end-of-the-20<sup>th</sup>-century perspective. *Journal of Shellfish Research* 11:489-505.
- Carlton J.T., 1996. Pattern, process, and prediction in marine invasion ecology. *Biological conservation* 78:97-106.
- Carlton J.T., 1999. Molluscan invasions in marine and estuarine communities. *Malacologia* 41(2):439-454.
- Carlton J.T., Geller J.B., 1993. Ecological roulette: the global transport of nonindigenous marine organisms. *Science* 261:78-82.
- Chávez-Villalba J., Barret J., Mingant C., Cochard J.C., Le Pennec M., 2002. Autumn conditioning of the oyster *Crassostrea gigas*: A new approach. *Aquaculture* 210:171-186.
- Chávez -Villalba J.E., Barret J., Mingant C., Cochard J.-C., Le Pennec M., 2003a. Influence of timing of broodstock collection on conditioning, oocyte production, and larval rearing of the oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), at six production sites in France. *Journal of Shellfish Research* 22(2):465-474.
- Chávez-Villalba J., Cochard J.C., Le Pennec M., Barret J., Enríquez-Díaz M., Cáceres-Martínez C., 2003b. Effects of temperature and feeding regimes on gametogenesis and larval production in the oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Shellfish Research* 22(3):721-731.

- Chávez-Villalba J., Mingant C., Cochard J.C., Le Pennec M., 2001, Gamétogenèse chez l'huître *Crassostrea gigas* de l'Aber Benoît (Bretagne, France), à la limite nord de son aire de reproduction. *Haliotis* 30:1-12.
- Cheney D.P., Macdonald B.F., Elston R.A., 2000. Summer mortality of Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg): initial findings on multiple environmental stressors in Puget Sound, Washington. *Journal of Shellfish Research* 19:353-359.
- Christensen J.H., Christensen O.B., 2003. Climate modelling: severe summertime flooding in Europe. *Nature* 421:805-806.
- CNC, 2006. Statistiques du Comité National de la Conchyliculture. <http://www.cnc-france.com/index.php?rub=2&page=11&type=theme&id=22.html>
- 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, France.
- Cognie B., Barillé L., Carrié C., Rosa P., 2004. Estimation des stocks d'huîtres sauvages en baie de Bourgneuf (partie Loire-Atlantique). Rapport de contrat Région des Pays de la Loire, arrêté n°02-5923-0 du 19 mars 2002, 19 pp.
- Cognie B., Barillé L., Massé G., Beninger P.G., 2003. Selection and processing of large suspended algae in the oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Ecology Progress Series* 250:145-152.
- Cognie B., Barillé L., Rincé Y., 2001. Selective feeding of the oyster *Crassostrea gigas* fed on a natural microphytobenthos assemblage. *Estuaries* 24(1):126-131.
- Cognie B., Haure J., Barillé L., 2006. Spatial distribution in a temperate coastal ecosystem of the wild stock of the farmed oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*. 259:249-259.
- Cohen A.N., Carlton J.T., 1996. Nonindigenous species in a United States estuary: A case history of the ecological and economic effects of biological invasions in the San Francisco Bay and Delta region. Report to United States Fish and Wildlife Service, 246 pp.
- Coleman N., 1986. A review of introductions of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) around the world and a discussion of the possible ecological consequences of introducing the species into Victoria, Australia. Marine Resources Man and Wildlife Service, Department of Conservation, Forests and Lands, Queescliff, Victoria, Australia, 39 pp.
- Comps M., 1978. Évolution des recherches et études récentes en pathologie des huîtres. *Oceanologica Acta* 1:522-262.
- Compton T.J., Drent J., Kentie R., Pearson G.B., van der Meer J., Piersma T. 2007. Overlap in the feeding morphology of bivalves from species-rich and species-poor intertidal flats using gill:palp ratios for comparative analyses of mollusk assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 348:213-220.

- Compton T.J., Kentie R., Storey A.W., Veltheim I., Pearson G.B., Piersma T. 2008. Carbon isotope signatures reveal that diet is related to the relative sizes of the gills and palps of bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 361:104-110.
- Conover W.J. 1999, Practical nonparametric statistics - 3<sup>rd</sup> ed. John Wiley & Sons, Inc. (ed.), New York, 584 pp.
- Cranford P., Dowd M., Grant J., Hargrave B., McGladdery S., 2003. Ecosystem level effects of marine bivalve aquaculture. In: A scientific review of the potential environmental effects of aquaculture in aquatic ecosystems. Vol. I. Fisheries and Oceans Canada. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2450(1):12–20.
- Crooks J.A., 2002. Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos* 97:153-166.
- Cucci T.L., Shumway S.E., Newell R.C., Selvin R., Guillard R.L., Yentsch C.M., 1985. Flow cytometry: a new method for characterization of differential ingestion, digestion and egestion by suspension feeders. *Marine Ecology Progress Series* 24:201-204.

## - D -

- Dame R.F., 1996. Ecology of marine bivalves: an ecosystem approach. CRC Press, Boca Raton, Florida. 254 pp.
- Dame R.F., Olenin S., 2005. The comparative roles of suspension-feeders in ecosystems. NATO Science Series. IV. Earth and Environmental Sciences vol. 47, Springer, 359 pp.
- Dame R.F., Patten B.C., 1981. Analysis of energy flows in an intertidal oyster reef. *Marine Ecology Progress Series* 5:115–124.
- Dame R.F., Spurrier J.D., Wolaver T.G., 1989. Carbon, nitrogen and phosphorus processing by an oyster reef. *Marine Ecology Progress Series* 54:249-256.
- Dame R.F., Zingmark R.G., Haskin E., 1984. Oyster reefs as processors of estuarine material. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 83:239-247.
- Dame R., Zingmark R., Nelson D., 1980. Filter feeding coupling between the estuarine water column and benthic subsystems. In: Kennedy V.S. (ed.). *Estuarine Perspectives*, Academic Press, New York, pp. 521-526.
- Dankers N.M.J.A., Meijboom A., De Jong M.L., Dijkman E., Cremer J., Fey F., Smaal A., Craeymeersch J., Brummelhuis E., Steenberger J., Baars D., 2006. De ontwikkeling van de Japanse Oester in Nederland (Waddenzee en Oosterschelde). Wageningen IMARES Rapport C040/06, 57 pp.
- Davenel A., Pouvreau S., Cambert M., Suquet M., Mariette F., 2009. NMR relaxometry as a potential non-invasive routine sensor for characterization of phenotype in *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 291:74-77.

- Davis M.A., Thompson K., 2000. Eight ways to be a colonizer; two ways to be an invader: a proposed nomenclature scheme for invasion ecology. *Bulletin of the Ecological Society of America* 81:226-230.
- Decottignies P., Beninger P.G., Rincé Y., Robins R.J., Riera P., 2007. Exploitation of natural food source by two sympatric, invasive suspension-feeders: *Crassostrea gigas* and *Crepidula fornicata*. *Marine Ecology Progress Series* 334:179-192.
- Defossez J.M., Hawkins A.J.S., 1996. Selective feeding in shellfish: size-dependent rejection of large particles within pseudofaeces from *Mytilus edulis*, *Ruditapes philippinarum*, and *Tapes decussates*. *Marine Biology* 129:139-147.
- Dégremont L., Ernande B., Bédier E., Boudry P., 2007. Summer mortality of hatchery-produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*). I. Estimation of genetic parameters for survival and growth. *Aquaculture* 262:41-53.
- Dekshenieks M.M., Hofmann E.E., Powell E.N., 1993. Environmental effects on the growth and development of eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), larvae: a modelling study. *Journal of Shellfish Research* 12(2):241-254.
- Delaporte M., Soudant P., Lambert C., Jegaden M., Moal J., Pouvreau S., Dégremont L., Boudry P., Samain J.-F., 2007. Characterisation of physiological and immunological differences between Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) genetically selected for high or low survival to summer mortalities and fed different rations under controlled conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 353(1):45-57.
- Delaunay F., Marty Y., Moal J., Samain J.-F., 1992. Growth and lipid class composition of *Pecten maximus* (L.) larvae grown under hatchery conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 163:209-219.
- de Montaudouin X., Audemard C., Labourg P.-J., 1999. Does the slipper limpet (*Crepidula fornicata*, L.) impair oyster growth and zoobenthos biodiversity? A revisited hypothesis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 235:105-124.
- Deslous-Paoli J.-M., Héral M., Berthomé J.-P., Razet D., Garnier J., 1982. Reproduction naturelle de *Crassostrea gigas* Thunberg dans le Bassin de Marennes-Oléron en 1979 et 1981: aspects biochimiques et énergétiques. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes* 45:319-327.
- Deslous-Paoli J.M., Héral M., Goulletquer P., Boromthanarat S., Razet D., Garnier J., Prou J., Barillé L., 1987. Évolution saisonnière de la filtration de bivalves intertidaux dans des conditions naturelles. *Océanis* 13:575-579.
- Deslous-Paoli J.M., Lannou A.M., Geairon P., Bougrier S., Raillard O., Héral M., 1992. Effects of the feeding behavior of *Crassostrea gigas* (Bivalve Molluscs) on biosedimentation of natural particulate matter. *Hydrobiologia* 231:85-91.
- DeVlaming V., Grossman G., Chapman F., 1982, On the use of the gonosomatic index. *Comp. Biochem. Physiol. A* 73A:31-39.

- DeWitt T.J., Sih A., Wilson D.S., 1998. Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* 13(2):77-81.
- Diaz-Almela E., Boudry P., Launey S., Bonhomme F., Lapègue S., 2004. Reduced female gene flow in the European flat oyster *Ostrea edulis*. *Journal of Heredity* 95(6):510-516.
- Diederich S., 2005. Differential recruitment of introduced Pacific oysters and native mussels at the North Sea coast: coexistence possible? *Journal of Sea Research* 53:269-281.
- Diederich S., 2006. High survival and growth rates of introduced Pacific oysters may cause restrictions on habitat use by native mussels in the Wadden Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 328:211-227.
- Diederich S., Nehls G., van Beusekom J.E.E., Reise K., 2005. Introduced Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in the northern Wadden Sea: invasion accelerated by warm summers? *Helgoland Marine Research* 59:97-106.
- Dinamani P., 1987. Gametogenic patterns in populations of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Northland, New Zealand, *Aquaculture* 64:65–76.
- Dorange G., Le Pennec M., 1989. Ultrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the Bay of St Brieuc. *Marine Biology* 103:339-348.
- Drent J., Luttikhuisen P.C., Piersma T., 2004. Morphological dynamics in the foraging apparatus of a deposit feeding marine bivalve: phenotypic plasticity and heritable effects. *Functional Ecology* 18:349-356.
- Drinkwaard A.C., 1999. Introductions and developments of oysters in the North Sea area: a review. *Helgoland Meeresunters* 52:301-308.
- Dupont C., Gruet Y., 2005. Malacofaune et crustacés marins des amas coquilliers mésolithiques de Beg-an-Dorchenn (Plomeur, Finistère) et de Beg-er-Vil (Quiberon, Morbihan). In : Marchand G. et Tresset A., Unité et diversité des processus de néolithisation sur la façade atlantique de l'Europe (6<sup>e</sup>-4<sup>e</sup> millénaires avant J.-C.). *Mémoire de la Société Préhistorique Française* 36:139-161.
- Dutertre M., 2008. Conséquences fonctionnelles des modifications des organes palléaux chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). Résumé de mémoire de Master 2 Recherche. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France* 30(2):115-119.
- Dutertre M., Barillé L., Haure J., Cognie B., 2007. Functional responses associated with pallial organ variations in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 352:139-151.
- Dutertre M., Beninger P.G., Barillé L., Papin M., Haure J., in press a. Rising water temperatures, reproduction and recruitment of an invasive oyster, *Crassostrea gigas*, on the French Atlantic coast. *Marine Environmental Research*.

Dutertre M., Beninger P.G., Barillé L., Papin M., Rosa P., Barillé A.-L., Haure J., in press b. Temperature and seston quantity and quality effects on field reproduction of farmed oysters, *Crassostrea gigas*, in Bourgneuf Bay, France. Aquatic Living Resources.

## - E -

Eble A.F., Scro R., 1996. General Anatomy. In: Kennedy V.S., Newell R.I.E., Eble A.F. (eds.). The Eastern Oyster: *Crassostrea virginica*, Maryland Sea Grant College, University of Maryland, pp. 19-74.

Eckelbarger K.J., Davis C.V., 1996a. Ultrastructure of the gonad and gametogenesis in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. I. Ovary and oogenesis. Marine Biology 127:79-87.

Eckelbarger K.J., Davis C.V., 1996b. Ultrastructure of the gonad and gametogenesis in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. II. Testis and spermatogenesis. Marine Biology 127:89-96.

Egami N., 1953. Studies on sexuality in the Japanese oyster, *Ostrea gigas*. VII. Effects of gill removal on growth and sexuality. Annotationes Zoologicae Japonenses 26:145-150.

Eldredge L.G., 1994. Introductions of commercially significant aquatic organisms to the Pacific islands. South Pacific Commission (Noumea, New Caledonia), 127 pp.

Eno N.C., Clark R.A., Sanderson W.G., 1997. Non-native marine species in British waters: a review and directory. Joint Nature Conservation Committee, Petersborough, Great Britain, pp. 1-52.

Enríquez-Díaz M., 2004. Variabilité et bioénergétique de la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, France.

Enríquez-Díaz M., Pouvreau S., Chávez-Villalba J., Le Pennec M., in press. Gametogenesis, reproductive investment, and spawning behavior of the Pacific giant oyster *Crassostrea gigas*: evidence of an environment-dependant strategy. Aquaculture International.

Ernande B., Boudry P., Clobert J., Haure J., 2004. Plasticity in resource allocation based life history traits in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. I. Spatial variation in fund abundance. Journal of Evolutionary Biology 17:342-356.

Essink K., Tydeman P., de Koning F., Kleef H.L., 1989. On the adaptation of the mussel *Mytilus edulis* L. to different environmental suspended matter concentrations. In: Klewowski, R.Z. et al. (ed.). Proceedings of the 21<sup>st</sup> European Marine Biology Symposium, Ossolineum, Warsaw, pp. 41-51.

Everett R.A., Ruiz G.M., Carlton J.T., 1995. Effect of oyster mariculture on submerged aquatic vegetation: an experimental test in a Pacific Northwest estuary. Marine Ecology Progress Series 125:205-217.

## - F -

- Fabioux C., Huvet A., Le Souchu P., Le Pennec M., Pouvreau S., 2005, Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock. *Aquaculture* 250:458-470.
- FAO, 2007. FISHSTAT Plus: Universal software for fishery time series. *Aquaculture Production 1950-2007*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit.
- Farley C.G., 1992. Mass mortalities and infectious lethal diseases in bivalve molluscs and association with geographic transfers of populations. In: Rosenfield A. and Mann R. (eds.). *Dispersal of living organisms into aquatic ecosystems*, Maryland Sea Grant Publishers, College Park, Maryland, pp. 139-155.
- Fegley S.R., MacDonald B.A., Jacobsen T.R., 1992. Short-term variation in the quantity and quality of seston available to benthic suspension feeders. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 34:393-412.
- Flassch J.P., Leborgne Y., 1992. Introduction in Europe, from 1972 to 1980, of the Japanese Manila clam (*Tapes philippinarum*) and effects on aquaculture production and natural settlement. *ICES J. Mar. Sci.* 194:92-96.
- Fleury P.G., Goyard E., Mazurie J., Claude S., Bouget J.F., Langlade A., Le Cogui Y., 2001. The assessing of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) rearing performances by the IFREMER/ REMORA network: method and first results (1993-98) in Brittany (France). *Hydrobiologia* 465:195-208.
- Fleury P.-G., Simonne C., Claude S., Palvadeau H., Guilpain P., D'Amico F., Le Gall P., Vercelli C., Pien S., 2003. Réseau Mollusques des Rendements Aquacoles (REMORA - huître creuse) - résultats des stations nationales 2002, Rapport IFREMER, 49 pp.
- Foster-Smith R.L., 1975a. The effect of concentration of suspension on the filtration rates and pseudofaecal production for *Mytilus edulis* L., *Cerastoderma edule* (L.) and *Venerupis pullastra* (Montagu). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 17:1-22.
- Forster-Smith R.L., 1975b. The role of mucus in the mechanism of feeding in three filter-feeding bivalves. *Proceedings of the Malacological Society of London* 41:571-588.
- Foster-Smith R.L., 1978. The function of the pallial organs of bivalves in controlling ingestion. *Journal of Molluscan Studies* 44:83-99.
- Franz D.R., 1993. Allometry of shell and body weight in relation to shore level in the intertidal bivalve *Geukensia demissa* (Bivalvia: Mytilidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 174:193-207.
- Froidefond J.-M., Doxaran D., Miller P., 2003. Opération 2: Acquisition et traitement d'images satellites. Rapport final. Programme Interrégional Loire Grandeur Nature. Loire Estuaire, Cellule de Mesures et Bilans, DGO(UMR-EPOC), Talence, 173 pp.

Fujisawa K., Kobashi K., Sato J., 1987. Relationship between growth of oyster *Crassostrea gigas* and environmental factors in Mushiage Bay. Bulletin of Okayama Prefecture Institute for Fisheries 2:44-51.

## - G -

Gabbott P.A., 1975. Storage cycles in marine bivalve molluscs: a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In: Barnes H. (ed.). Proceedings of the 9<sup>th</sup> European Marine Biology Symposium, Aberdeen University Press, Aberdeen, Scotland, pp. 191-211.

Galtsoff P.S., 1964. The American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). Fishery bulletin of the Fish and Wildlife Service 64:1-480.

Gangnery A., 2003. Étude et modélisation de la dynamique des populations de bivalves en élevage (*Crassostrea gigas* et *Mytilus galloprovincialis*) dans le bassin de Thau (Méditerranée, France) et des ascidies solitaires associées. Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, 175 pp.

Gangnery A., Chariband J., Lagarde F., Le Gall P., Oheix J., Bacher C., Buestel D., 2003. Growth model of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*, cultured in Thau Lagoon (Méditerranée, France). Aquaculture 215:267-290.

García-Esquivel Z., Bricelj V.M., González-Gómez M.A., 2001. Physiological basis for energy demands and early postlarval mortality in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 263:77-103.

Gérard A., 1998. Avancées récentes sur la reproduction des huîtres. European Aquaculture Society Special Publications 26:115-119.

Gérard A., Naciri-Graven Y., Boudry P., Launay S., Heurtebise C., Ledu C., Phelipot P., 1995. Controlling gametogenesis in flat and japanese oysters. Relationship between reproduction and genetics. La Reproduction Naturelle et Contrôlée des Bivalves Cultivés en France, IFREMER, Plouzané, France, pp. 99-112.

Gerdes D., 1983. The Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part I: Feeding behaviour of larvae and adults. Aquaculture 31:195-219.

Glude J.B., 1975. A summary report of Pacific coast oyster mortality investigations 1965-1972. Proceedings of the 3<sup>th</sup> U.S.-Japan Meeting on Aquaculture, Tokyo, Japan, pp. 1-28.

Glude J.B., 1984. The applicability of recent innovations to mollusc culture in the western Pacific islands. Aquaculture 39:29-43.

Gosling E., 2003a, Bivalve molluscs: biology, ecology and culture. Gosling E. (ed.), Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford.

- Gosling, E., 2003b. Reproduction, Settlement and Recruitment. In: Gosling E. (ed.). Bivalve molluscs: biology, ecology and culture. Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford, 131-168.
- Gosselin L.A., Qian P.Y., 1997. Juvenile mortality in benthic marine invertebrates. Marine Ecology Progress Series 146:265-282.
- Goulletquer P., 1995. Cycle de reproduction naturelle de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Groupe de travail sur la Reproduction des Mollusques Bivalves d'Aquaculture Marine, IFREMER, Nantes, France.
- Goulletquer P., Héral M., 1991. Aquaculture of *Crassostrea gigas* in France. The ecology of *C. gigas* in Australia, New Zealand, France and Washington State. Oyster Ecology Workshop, Annapolis, USA, pp. 12-19.
- Goulletquer P., Héral M., Prou J., 1994. Combined effects of temperature-salinity on larval survival of the Eastern oyster *C. virginica* in the Maryland portion of the Chesapeake Bay (USA). Haliotis 23:71-86.
- Goulletquer P., Héral M., 1997. Marine molluscan production trends in France: from fisheries to aquaculture. NOAA Technical Report NMFS 129:137-164.
- Goulletquer 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. Aquaculture International 10:507-525.
- Goulletquer P., Soletchnik P., Le Moine O., Razet D., Geairon P., Faury N., Taillade S., 1998. Summer Mortality of the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* in the Bay of Marennes-Oléron (France), ICES Mariculture Committee CM, Copenhagen, pp. 14-21.
- Grant J., Dowd M., Thompson K., Emerson C., Hatcher A., 1993. Perspectives on field studies and related biological growth and carrying capacity. In: Dame R.F. (ed.). Bivalve filter-feeders in estuarine and coastal ecosystem processes, NATO ASI Series, Vol. G 33., Springer-Verlag, Berlin, pp. 371-420.
- Grizel H., 1996. Quelques exemples d'introductions et de transferts de mollusques. Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties 15:401-408.
- Grizel H., Héral M., 1991. Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer 47:399-403.
- Grosberg R.K., Levitan D.R., 1992. For adults only? Supply-side ecology and the history of larval biology. Trends in Ecology and Evolution 7(4):130-133.
- Grosholz E., 2002. Ecological and evolutionary consequences of coastal invasions. Trends in Ecology and Evolution 17:22-27.
- Gruet Y., Héral M., Robert J.M., 1976. Premières observations sur l'introduction de la faune associée au naissain d'huîtres japonaises *Crassostrea gigas* (Thunberg), importé sur la côte atlantique française. Cahiers de Biologie Marine 17:173-184.

Guillard R.R.L., 1982. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith W.L., Chanley M.H. (eds.). Culture of marine invertebrate animals. Plenum Press, New York, pp. 108-132.

Gunter G., 1938. Comments on the shape, growth and quality of the American oyster. *Science* 88:546-547.

Guo X., Allen Jr. S.K., 1994. Reproductive potential and genetics of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Biological Bulletin* 187:309-318.

Guo X., Hedgecock D., Hershberger W.K., Cooper K., Allen Jr. S.K., 1998. Genetic determinants of protandric sex in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Evolution* 52:394-402.

## - H -

Hamilton W.D., May R.M., 1977. Dispersal in stable habitats. *Nature* 269:578-581.

Hancock D.A., 1965. Adductor muscle size in Danish and British mussels and its relation to starfish predation. *Ophelia* 2(2):253-267.

Haney J., Jackson G.A., 1996. Modeling phytoplankton growth rates. *Journal of Plankton Research* 18:63-85.

Harry H.W., 1985. Synopsis of the supraspecific classification of living oysters (Bivalvia: Gryphaeidae and Ostreidae). *Veliger* 28(2):121-158.

Haure J., Baud J.P., 1995. Approche de la capacité trophique dans un bassin ostréicole (baie de Bourgneuf). Rapport Direction Ressources Vivantes IFREMER RIDVR-95-96/RA-BOUIN, 103 pp.

Haure J., Huvet A., Palvadeau H., Nourry M., Penisson C., Martin J. L.Y., Boudry P., 2003. Feeding and respiratory time activities in the cupped oysters *Crassostrea gigas*, *Crassostrea angulata* and their hybrids. *Aquaculture* 218:539-551.

Haure, J., Papin, M., Dupuy, B., Nourry, M., Penisson, C., Martin, J.-L., Barillé, L., Dutertre, M., Rosa, P., Beninger, P., Barillé, A.-L., 2008. Étude de la croissance et de la reproduction de l'huître *Crassostrea gigas* en baie de Bourgneuf. Rapport SMIDAP, 114 pp.

Haven D.S., Morales-Alamo R., 1970. Filtration of particles from suspension by the American Oyster *Crassostrea virginica*. *Biological Bulletin of the Marine Biology Laboratory, Woods Hole* 139:248-264.

Havenhand J.N., 1995. Evolutionary ecology of larval types. In: Ecology of Marine Invertebrate Larvae, McEdward L.R. (ed.), CRC Press, New York, pp. 79-122.

- Hawkins A.J.S., Bayne B.L., Bougrier S., Héral M., Iglesias J.I.P., Navarro E., Smith R.F.M., Urrutia M.B., 1998. Some general relationships in comparing the feeding physiology of suspension-feeding bivalve molluscs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 219:87-103.
- Hawkins A.J.S., Fang J.G., Pascoe P.L., Zhang J.H., Zhang X.L., Zhu M.Y., 2001. Modelling short-term responsive adjustments in particle clearance rate among bivalve suspension-feeders: separate unimodal effects of seston volume and composition in the scallop *Chlamys farreri*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 262:61-73.
- Hawkins A.J.S., Navarro E., Iglesias J.I.P., 1990. Comparative allometries of gut-passage time, gut content and metabolic faecal loss in *Mytilus edulis* and *Cerastoderma edule*. *Marine Biology* 105:197-204.
- Hawkins A.J.S., Smith R.F.M., Bayne B.L., Héral M., 1996. Novel observations underlying the fast growth of suspending shellfish in turbid environment: *Mytilus edulis* L.. *Marine Ecology Progress Series* 131:179-190.
- Heffernan P.B., Walker R.L., 1989. Quantitative image analysis methods for use in histological studies of bivalve reproduction. *Journal of Molluscan Studies* 55:135-137.
- Heinonen J., Kukkonen J., Penttinen O.-P., Holopainen I.J., 1997. Effects of hypoxia on valve-closure time and bioaccumulation of 2,4,5-trichlorophenol by the freshwater clam *Sphaerium corneum* [L.]. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 36:49-56.
- Héral M., 1989. L'ostréiculture française traditionnelle. In: Barnabé G. (éd.). *Aquaculture, Tec. & Doc.*, Lavoisier, Paris, pp. 347-399.
- Héral M., Deslous-Paoli J.M., 1991. Oyster culture in European countries. In: Menzel W. (ed.). *Estuarine and marine bivalve mollusk culture*, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 153-190.
- Herman P.M.J., 1993. A set of models to investigate the role of benthic suspension feeders in estuarine ecosystems. In: Dame R.F. (ed.). *Bivalve filter-feeders in estuarine and coastal ecosystem processes*, NATO ASI Series, Vol. G 33, Springer-Verlag, Berlin, pp. 421-454.
- Heude Berthelin C., Fievet B., Leclerc G., Germain P., Kellner K., Mathieu M., 2003. *In vivo* and *in vitro* approaches to the analysis of glycogen metabolism in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of Shellfish Research* 22:715-720.
- Heude Berthelin C., Laisney J., Espinosa J., Martin O., Hernandez G., Mathieu M., Kellner K., 2001. Storage and reproductive strategy in *Crassostrea gigas* from two different growing areas (Normandy and the Atlantic coast, France). *Invertebrate Reproduction and Development* 40(1):79-86.
- Hilbish T.J., 1986. Growth trajectories of shell and soft tissue in bivalves: seasonal variation in *Mytilus edulis* L.. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 96(2):103-113.

- Hily C., 1989. La mégafaune benthique des fonds meubles de la rade de Brest : pré-échantillonnage par vidéo sous-marine. *Cahiers de Biologie Marine* 30:433-454.
- His E., 1991. Biologie et écotoxicologie des véligères de *Crassostrea gigas* (Thunberg) dans le Bassin d'Arcachon. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux I, France.
- His E., Seaman M.N.L., 1992. Effects of temporary starvation on the survival, and on subsequent feeding and growth, of oyster (*Crassostrea gigas*) larvae. *Marine Biology* 114:277-279.
- Hofmann E.E., Powell E.N., Bochenek E.A., Klinck J.M., 2004. A modelling study of the influence of environment and food supply on survival of *Crassostrea gigas* larvae. *ICES Journal of Marine Science* 61:596-616.
- Holt R.D., 1990. The micro-evolutionary consequences of climate change. *Trends in Ecology and Evolution* 5:311-315.
- Honkoop P.J.C., Bayne B.L., Drent J., 2003. Flexibility of size of gills and palps in the Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850) and the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 282:113-133.
- Hughes R.N., 1991. Reefs. In: Barnes R.S.K., Mann K.H. (eds). *Fundamentals of Aquatic Ecology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 213-229.
- Hughes T.G., 1975. The sorting of food particles by *Abra* sp. (Bivalvia: Tellinacea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 20:137-156.
- Hunt H.L., Scheibling R.E., 1997. Role of early post-settlement mortality in recruitment of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series* 155:269-301.
- Huvet A., Fabioux C., McCombie H., Lapègue S., Boudry P., 2004. Natural hybridization between genetically differential populations of *Crassostrea gigas* and *C. angulata* highlighted by sequence variation in flanking regions of a microsatellite locus. *Marine Ecology Progress Series* 272:141-152.
- Huvet A., Lapègue S., Magoulas A., Boudry, P., 2000. Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of *Crassostrea angulata*, the Portuguese oyster endangered in Europe. *Conservation Genetics* 1:251-262.

## - I -

- IFREMER, 2009. Actualités de l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer. [http://wwwz.ifremer.fr/institut/actualites/mortalites\\_d\\_huitres\\_creuses](http://wwwz.ifremer.fr/institut/actualites/mortalites_d_huitres_creuses)
- Iglesias J.I.P., Navarro E., Alvarez Jorna P., Armentia I., 1992. Feeding, particle selection and absorption in cockles *Cerastoderma edule* (L.) exposed to variable conditions of food concentration and quality. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 162:177-198.

Iglesias J.I.P., Urrutia M.B., Navarro E., Alvarez-Jorna P., Larretxea X., Bougrier S., Héral M., 1996. Variability of feeding processes in the cockle *Cerastoderma edule* (L.) in response to changes in seston concentration and composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 197:121-143.

Imai T., Numachi K.-i., Oizumi J., Sato S., 1965. Studies on the mass mortality of the oyster in Matsushima Bay: II. Search for the cause of mass mortality and the possibility to prevent it by transplantation experiment. *Bulletin of the Tohoku National Fisheries Research Institute* 25:27-38.

## - J -

Jablonski D., Lutz R.A., 1983. Larval ecology of marine benthic invertebrates: paleobiological implications. *Biological Reviews* 58:21-89.

Jackson J.B.C., 1986. Modes of dispersal of clonal benthic invertebrates: consequences for species' distributions and genetic structure of local populations. *Bulletin of Marine Science* 39(2):588-606.

Jones H.D., Richards O.G., Southern T.A., 1992. Gill dimensions, water pumping rate and body size in the mussel *Mytilus edulis* L.. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 155:213-237.

Jonsson P.R., Berntsson K.M., André C., Wängberg S.-Å., 1999. Larval growth and settlement of the European oyster (*Ostrea edulis*) as a function of food quality measured as fatty acid composition. *Marine Biology* 134:559-570.

Joose J., Geraerts W.P.M., 1983. Endocrinology. In: Saleuddin M. & Wilbur K.W. (eds). *The Mollusca*, Academic Press, New York, pp. 318-406.

Jørgensen C.B., 1966. *Biology of suspension feeding*. Pergamon Press (Ed.), Oxford.

Jørgensen, C.B., 1990. Bivalve filter-feeding: Hydrodynamics, bioenergetics, physiology and ecology. Olsen and Olsen (eds.), Fredensborg, Denmark, pp. 140.

## - K -

Kautsky N., Evans S., 1987. Role of biodeposition by *Mytilus edulis* in the circulation of matter and nutrients in a Baltic coastal ecosystem. *Marine Ecology Progress Series* 38:201-212.

Kennedy A.V., Battle H.I., 1964. Cyclic changes in the gonad of the American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Canadian Journal of Zoology* 42:305-321.

Keough M.J., Downes B.J., 1982. Recruitment of invertebrates: the role of active larval choice and early mortality. *Oecologia* 54:348-352.

Kjørboe T., Møhlenberg F., 1981. Particle selection in suspension-feeding bivalves. *Marine Ecology Progress Series* 5:291-296.

Kobayashi M., Hofmann E.E., Powell E.N., Klinck J.M., Kusaka K., 1997. A population dynamics model for the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 149:285-321.

Kochmann J., Bushbaum C., Volkenborn N., Reise K., 2008, Shift from native mussels to alien oysters: Differential effects of ecosystem engineers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 364:1-10.

Korringa P., 1976. Farming the cupped oysters of the genus *Crassostrea*. In: Elsevier Scientific Company (ed.). *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* 2, pp. 3-32.

## - L -

Labarta U., Fernandez-Reiriz M.J., Pérez-Camacho A., 1999. Energy, biochemical substrates and growth in the larval development, metamorphosis and postlarvae of *Ostrea edulis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 238:225-242.

Lango-Reynoso F., Chávez-Villalba J., Cochard J.-C., Le Pennec M., 2000. Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 190:183-199.

Lango-Reynoso F., Devauchelle N., Le Pennec M., Hatt P. J., 1999. Elements of reproductive strategy in oysters, *Crassostrea gigas*, from the "Rade de Brest", France. *Invertebrate Reproduction and Development* 36(1-3):141-144.

Lassus P., Bardouil M., Beliaeff B., Masselin P., Naviner M., Truquet P., 1999. Effect of a continuous supply of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* Halim on the feeding behavior of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Journal of Shellfish Research* 18:211-216.

Le Borgne M., Gras M.P., Comps M., Carruesco G., Razet D., 1973. Observations sur la reproduction des huîtres dans la Seudre (Bassin de Marennes-Oléron) en 1972. 5 pp.

Leclerc C., Guerrier P., Moreau M., 2000. Role of dihydropyridine-sensitive calcium channels in meiosis and fertilization in the bivalve molluscs *Ruditapes philippinarum* and *Crassostrea gigas*, *Biology of the Cell* 92:285-299.

Lee R.F., Heffernan P.B., 1991. Lipids and proteins in eggs of Eastern oysters (*Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791)) and Northern quahogs (*Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758)). *Journal of Shellfish Research* 10:203-206.

Lehane C., Davenport J., 2004. Ingestion of bivalve larvae by *Mytilus edulis*: experimental and field demonstrations of larviphagy in farmed blue mussels. *Marine Biology* 145:101-107.

Leitão A., Chaves R., Santos S., Guedes-Pinto H., Boudry, P., 2007. Interspecific hybridization in oysters: Restriction enzyme digestion chromosome banding confirms *Crassostrea angulata* x *Crassostrea gigas* F1 hybrids. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 343:253-260.

- Lenihan H.S., 1999. Physical-biological coupling on oyster reefs: how habitat form influences individual performance. *Ecological Monographs* 69:251-275.
- Lenoir F., Robbins I., Mathieu M., Lubet P., Gabbott P.A., 1989. Isolation, characterization and glucose-metabolism of glycogen cells (=vesicular connective-tissue cells) from the labial palps of the marine mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 101:495-501.
- Le Pennec M., 1978. Genèse de la coquille larvaire et postlarvaire chez divers bivalves marins. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, France.
- Le Pennec M., Barillé L., Grizel, H., 2003a. Les branchies. In: Grizel H. (éd.). Atlas d'histologie et de cytologie des mollusques bivalves marins, IFREMER, pp. 35-52.
- Le Pennec M., Grizel H., Barillé L., 2003b. Les palpes labiaux. In: Grizel H. (éd.). Atlas d'histologie et de cytologie des mollusques bivalves marins, IFREMER, pp. 53-64.
- Le Pennec M., Beninger P.G., Dorange G., Paulet Y.M., 1991, Trophic sources and pathways to the developing gametes of *Pecten maximus* (Bivalvia: Pectinidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 71:451-463.
- Leroux S., 1956. Phytoplancton et contenus stomacaux d'huîtres portugaises (*Gryphea angulata* Lmk) dans le bassin d'Arcachon. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes* 20(2):163-170.
- Levinton J.S., 1995. *Marine Biology – Function, biodiversity, ecology*. Oxford University Press, New-York, 420 pp.
- Levinton J.S., Ward J.E., Shumway S.E., 2002. Feeding responses of the bivalves *Crassostrea gigas* and *Mytilus trossulus* to chemical composition of fresh and aged kelp detritus. *Marine Biology* 141:367-376.
- Li H.W., Moyle P.B., 1981. Ecological analysis of species introductions into aquatic systems. *Transactions of the American Fisheries Society* 110:772-782.
- Li K., Osada M., Mori K., 2000. Seasonal biochemical variations in Pacific oyster gonadal tissue during sexual maturation. *Fisheries Science* 66:502-508.
- Lodge D.M., 1993. Biological invasions: lessons for ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 8:133-137.
- Loosanoff V.L., 1962. Gametogenesis and spawning of the European oyster, *Ostrea edulis* in water of Maine. *Biological Bulletin* 122:86-95.
- Loosanoff V.L., Engle J.B., 1947. Effect of different concentrations of micro-organisms on the feeding of oysters (*O. virginica*). *Fishery bulletin of the Fish and Wildlife Service* 51:31-57.
- Lorenzen C.J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: Spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12:343-346.

- Lubet P., 1976. Écophysiologie de la reproduction chez les mollusques lamellibranches. *Haliotis* 7:49-55.
- Lubet P., 1981. Action de la température sur le cycle de reproduction des Lamellibranches. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 106:288-292.
- Lubet P., 1991. Bases biologiques de la culture des mollusques. In: Barnabé G. (éd.). *Bases Biologiques et Écologiques de l'Aquaculture*, Lavoisier, pp. 99-210.
- Lubet P., Besnard J.Y., Faveris R., 1987, Compétition énergétique entre tissu musculaire et gonadique chez la coquille St-Jacques (*Pecten maximus* L.). *Haliotis* 16:173-180.
- Lubet P., Mann R., 1987. Les différentes modalités de la reproduction chez les mollusques bivalves. *Haliotis* 16:181-195.
- Lubet P., Mathieu M., 1982. The action of internal factors on gametogenesis in Pelecypods molluscs. *Malacologia* 22:131-136.
- Lubet P., Mathieu M., 1999. Applications à la conchyliculture des récentes acquisitions sur la biologie des mollusques bivalves. *Année Biologique* 38:27-50.
- Lucas A., 1980. Méthodes d'évaluation de l'effort de reproduction chez les mollusques bivalves. *Haliotis* 10(2):90.
- Lucas A. 1982a. Evaluation of reproductive effort in bivalve molluscs. *Malacologia* 22(1-2):183-187.
- Lucas A., 1982b. La nutrition des larves de bivalves. *Océanis* 8(5):363-388.
- Lucas A., Beninger P.G., 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture* 44:187-200.
- Lucas A., Chebab-Chalabi L., Aldana Aranda D., 1986. Passage de l'endotrophie à l'exotrophie chez les larves de *Mytilus edulis*. *Oceanologica Acta* 9(1):97-103.

## - M -

- MacDonald B.A., Ward J.E., 1994. Variation in food quality and particle selectivity in the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Mollusca: Bivalvia). *Marine Ecology Progress Series* 108:251-264.
- Mackin J.G., 1961. Mortalities of oysters. *Proceedings of the National Shellfisheries Association* 50:21-40.
- Mann K.H., 1982. *Ecology of coastal waters: a systems approach*. Studies in ecology, Vol. 8, University of California Press, Berkeley, 322 pp.

- Mann R., 1979, Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 59:95-110.
- Mann R., Burreson E., Baker P., 1991. The decline of the Virginia oyster fishery in Chesapeake Bay: considerations for introduction of a non-endemic species, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). Journal of Shellfish Research 10:379-88.
- Martin J.L., Haure J., Dupuy B., Papin M., Palvadeau H., Nourry M., Penisson C., Thouard E. 2004. Estimation des stocks d'huîtres sauvages sur les zones concédées de la partie vendéenne de la baie de Bourgneuf en 2003. Rapport IFREMER, DRV/RA/LCPL/2004-05, 21 pp.
- Martin J.L., Haure J., Dupuy B., Papin M., Palvadeau H., Nourry M., Penisson C., Thouard E., 2005. Estimation des stocks d'huîtres sauvages sur les zones non concédées de la partie vendéenne de la baie de Bourgneuf. Rapport IFREMER, AGS/LGP/Bouin/2005-01, 17 pp.
- Martoja R., Martoja-Pierson M., 1967, Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson & Cie (éds.), Paris, France.
- Massapina C., Joaquim S., Domitilia M., Devauchelle N., 1999. Oocyte and embryo quality in *Crassostrea gigas* (Portugese strain) during a spawning period in Algrave, South Portugal. Aquatic Living Resources 12:327-333.
- Mathers N.F., 1974. Some comparative aspects of filter feeding in *Ostrea edulis* L. and *Crassostrea angulata* (Lam.), (Mollusca: Bivalvia). Proceedings of the Malacological Society of London 41:89-97.
- Mathieu M., Lubet P., 1993. Storage tissue metabolism and reproduction in marine bivalves - a brief review. Invertebrate Reproduction and Development 23(2-3):123-129.
- Mathieu M., Robbins I., Lubet P., 1991. The neuroendocrinology of *Mytilus edulis*. Aquaculture 94:213-223.
- Maurer D., Borel M., 1986. Croissance, engraissement et cycle sexuel de *Crassostrea gigas* dans le bassin d'Arcachon: comparaison des huîtres âgées de 1 et 2 ans. Haliotis 15:125-134.
- Maurer D., Comps M., 1986. Mortalités estivales de l'huître *Crassostrea gigas* dans le bassin d'Arcachon: facteurs du milieu, aspects biochimiques et histologiques. In: Vivarès C.P., Bonami J.R., Jaspers E. (eds.). Pathology in Marine Aquaculture, European Aquaculture Society, Special Publication N° 9, Bredene, Belgium, pp. 29-41.
- McKindsey C.W., Thetmeyer H., Landry T., Silvert W., 2006. Review of recent carrying capacity models for bivalve culture and recommendations for research and management. Aquaculture 261:451-462.

- Méléder V., Barillé-Boyer A.-L., Baud J.-P., Barillé L., Cognie B., Rosa P., 2001. Modélisation de l'affinage de l'huître *Crassostrea gigas* alimentée avec la diatomée *Skeletonema costatum*. *Aquatic Living Resources* 14(1):49-64.
- Menzel R.W., 1974. Portuguese and Japanese oysters are the same species. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 31:453-455.
- Mettam C., 1993. Changing palp morphology of *Mytilus edulis* along a gradient of turbidity. In: Aldrich, J.C. (ed.). *Proceedings of the 27<sup>th</sup> European Marine Biology Symposium, JAPAGA, Ashford*, pp. 229-237.
- Milke L.M., Ward J.E. 2003. Influence of diet on pre-ingestive particle processing in bivalves II: Residence time in the pallial cavity and handling time on the labial palps. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 293:151-172.
- Møhlenberg F., Riisgård H., 1978. Efficiency of particle retention in 13 species of suspension feeding bivalves. *Ophelia* 17(2):239-246.
- Mollison D., 1986. Modelling biological invasions: chance, explanation, prediction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* 314:675-696.
- Morales-Alamo R., Mann R., 1989. Anatomical features in histological sections of *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) as an aid in measurements of gonad area for reproductive assessment. *Journal of Shellfish Research* 8:71-82.
- Morrison C.M., 1996. Adductor and mantle musculature. In: Kennedy V.S., Newell R.I.E., & Eble A.E. (eds.). *The Eastern Oyster Crassostrea virginica*, Maryland Sea Grant College, USA (1996), pp. 169-183.
- Morton J.E., Yonge C.M., 1964. Classification and structure of the Molluscs. In: *Physiology of Mollusca*, Vol.1, Wilbur K.M. and Yonge C.M. (eds.), Academic Press, New York, pp. 1-58.
- Morvan C., Ansell A.D. 1988, Stereological methods applied to reproductive cycle of *Tapes rhomboides*. *Marine Biology* 97:355-364.
- Muranaka M.S., Lannan J.E., 1984. Broodstock management of *Crassostrea gigas*: Environmental influences on broodstock conditioning. *Aquaculture* 39:217-228.

## - N -

- Navarro E., Iglesias J.I.P., Ortega M., 1992. Natural sediment as a food source for the cockle *Cerastoderma edule* (L.): effect of variable particle concentration on feeding, digestion and the scope for growth. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 156:69-87.
- Navarro E., Widdows J., 1997. Feeding physiology of *Cerastoderma edule* in response to a wide range of seston concentrations. *Marine Ecology Progress Series* 152:175-186.

- Naylor R.L., Williams S.L., Strong D.R., 2001. Aquaculture – A gateway for exotic species. *Science* 294:1655-1656.
- Nehls G., Diederich S., Thieltges D.W., Strasser M., 2006. Wadden Sea mussel beds invaded by oysters and slipper limpets: competition or climate control? *Helgoland Marine Research* 60:135-143.
- Nell J.A., 2002. Farming triploid oysters. *Aquaculture* 210:29-88.
- Nelson T.C., 1960. The feeding mechanism of the oyster. II. On the gills and palps of *Ostrea edulis*, *Crassostrea virginica* and *Crassostrea angulata*. *Journal of Morphology* 107:163-191.
- Neufeld D.S., Wright S.H., 1996. Response of cell volume in *Mytilus* gill to acute salinity change. *The Journal of Experimental Biology* 199:473-484.
- Neveu D., Bretaudeau J., 2001. Les huîtres. Libris (éd.), Seyssinet, 103 pp.
- Newell R.I.E., 1988. Ecological changes in Chesapeake Bay: are they the results of overharvesting the American oyster, *Crassostrea virginica*? Chesapeake Research Consortium Publications 129:536-546.
- Newell R.I.E., Jordan S.J., 1983. Preferential ingestion of organic material by the American oyster *Crassostrea virginica*. *Marine Ecology Progress Series* 13:47-53.
- Newell C.R., Shurnway S.E., Cucci T.L., Selvin R., 1989. The effects of natural seston particle size and type on feeding rates, feeding selectivity and food resource availability for the mussel *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758 at bottom culture sites in Maine. *Journal of Shellfish Research* 8:187-196.

## - O -

- Occhipinti-Ambrogi A., 2007. Global change and marine communities: Alien species and climate change. *Marine Pollution Bulletin* 55:342-352.
- Occhipinti-Ambrogi A., Savini D., 2003. Biological invasions as a component of global change in stressed marine ecosystems. *Marine Pollution Bulletin* 46:542-551.
- O'Foighil D., Gaffney P.M., Wilbur A.E., Hilbish T.J., 1998. Mitochondrial cytochrome oxidase I gene sequences support an Asian origin for the Portuguese oyster *Crassostrea angulata*. *Marine Biology* 131:497-503.
- Orton J.H., 1936. Habit and shell-shape in the Portuguese oyster, *Ostrea angulata*. *Nature*, 138:466-467.
- Owen G., McCrae J.M., 1976. Further studies on the laterofrontal tracts of bivalves. *Proceedings of the Royal Society of London Series B* 194:527-544.

## - P -

- Pales Espinosa E., Barillé L., Allam B., 2007. Use of encapsulated live microalgae to investigate pre-ingestive selection in *Crassostrea gigas*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 343(1):118-126.
- Palmer M.A., Allan J.D., Butman C.A., 1996. Dispersal as a regional process affecting the local dynamics of marine and stream benthic invertebrates. *Trends in ecology and Evolution* 11:322-326.
- Palmer R.E., Williams L.G., 1980. Effect of particle concentration on filtration efficiency of the bay scallop *Argopecten irradians* and the oyster *Crassostrea virginica*. *Ophelia* 19:163-174.
- Pastoureaud A., Héral M., Prou J., Razet D., Russu P., 1996. Particle selection in the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) studied by pigment HPLC analysis under natural food conditions. *Oceanologica Acta*. 19:79-88.
- Paulet Y.M., Lucas A., Gerard A., 1988. Reproduction and larval development in two *Pecten maximus* (L.) populations from Brittany. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 119:145-156.
- Paulmier G., 1972. Seston, phytoplankton et microphytobenthos en rivière d'Auray. Leur rôle dans le cycle biologique des huîtres (*Ostrea edulis* L.). *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes* 36:373-506.
- Payne B.S., Lei J., Miller A.C., Hubertz E.D., 1995a. Adaptive variation in palp and gill size of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and Asian clam (*Corbicula fluminea*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52:1130-1134.
- Payne B.S., Miller A.C., Lei J., 1995b. Palp to gill area ratio of bivalves: a sensitive indicator of elevated suspended solids. *Regulated Rivers: Research and Management* 11:193-200.
- Paz M., Mikhailov A., Torrado M., 2001. Sexual differentiation of the somatic gonad tissue in marine bivalve mollusks: esterase- and fibronectin-like recognition signals. *The International Journal of Developmental Biology* 45(S1):119-120.
- Pazos A.J., Mathieu M., 1999. Effects of five natural gonadotropin-releasing hormones on cell suspensions of marine bivalve gonad: stimulation of gonial DNA synthesis. *General and Comparative Endocrinology* 113:112-120.
- Pazos A.J., Román G., Acosta C.P., Abad M., Sánchez J.L., 1996. Stereological studies on the gametogenic cycle of the scallop, *Pecten maximus*, in suspended culture in Ria de Arousa (Galicia, NW Spain). *Aquaculture* 142:119-135.
- Pearse J.S., 1999. Seasonal reproduction, marine invertebrates. In: Knobil E. & Neill J.D (eds). *Encyclopedia of Reproduction*, Vol. 4, Academic Press, San Diego, pp. 352-355.
- Pechenik J.A., 1999. On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Marine Ecology Progress Series* 177:269-297.

- Pejrup M., 1986. Parameters affecting fine-grained suspended sediment concentrations in a shallow micro-tidal estuary, Ho Bugt. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 22:241-254.
- Perdue J.A., 1982. Gametogenesis and growth of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thurnberg). *Journal of Shellfish Research* 2:105-106.
- Perdue J.A., Beattie J.H., Chew K.K., 1981. Some relationships between gametogenic cycle and summer mortality phenomenon in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in Washington State. *Journal of Shellfish Research* 1:9-16.
- Piersma T., Drent J., 2003. Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends in Ecology and Evolution* 18(5):228-233.
- Piersma T., Lindström Å., 1997. Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptive behaviour. *Trends in Ecology and Evolution* 12(4):134-138.
- Pimentel D., McNair S., Janecka J., Wightman J., Simmonds C., O'Connell C., Wong E., Russel L., Zern J., Aquino T., Tsomondo T., 2001. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 84:1-20.
- Pipe R.K., 1987, Oogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis*: an ultrastructural study. *Marine Biology* 95:405-414.
- Pouvreau S., Bourlès Y., Lefebvre S., Gangnery A., Alunno-Bruscia M., 2006. Application of a dynamic energy budget model to the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, reared under various environmental conditions, *Journal of Sea Research* 56:156-167.
- Pouvreau S., Jonquières G., Buestel D., 1999. Filtration by the pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, under conditions of low seston load and small particle size in a tropical lagoon. *Aquaculture*. 176:295-314.
- Powell E.N., Bochenek E.A., Klinck J.M., Hofmann E.E., 2002. Influence of food quality and quantity on the growth and development of *Crassostrea gigas* larvae: a modelling approach. *Aquaculture* 210:89-117.
- Powell E.N., Hofmann E.E., Klinck J.M., Ray S.M., 1992. Modeling oyster populations I. A commentary on filtration rate. Is faster always better?. *Journal of Shellfish Research* 11:387-398.
- Prieur D., 1971. Recherches bibliographiques sur le développement embryonnaire des mollusques bivalves. Mémoire de DEA d'Océanographie Biologique, Faculté des Sciences de Paris, 33 pp.
- Prins T.C., Escavara V., Smaal A.C., Peters J.C.H., 1995. Nutrient cycling and phytoplankton dynamics in relation to mussel grazing in a mesocosm experiment. *Ophelia* 41:289-315.

- Prins T.C., Smaal A.C., 1994. The role of the blue mussel *Mytilus edulis* in the cycling of nutrients in the Oosterschelde estuary (The Netherlands). *Hydrobiologia* 282/283:413-429.
- Prins T.C., Smaal A.C., Dame R.F., 1998. A review of the feedbacks between bivalve grazing and ecosystem processes. *Aquatic Ecology* 31:349-359.
- Prins T.C., Smaal A.C., Pouwer A.J., 1991. Selective ingestion of phytoplankton by the bivalves *Mytilus edulis* L. and *Cerastoderma edule* L.. *Hydrobiological Bulletin* 25:93-100.
- Pusey A., Wolf M., 1996. Inbreeding avoidance in animals. *Trends in Ecology and Evolution* 11:201-206.

## - Q R -

- Quayle D.B., 1988. Pacific oyster culture in British Columbia. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences* 218:1-24.
- Raillard O., Ménesguen A., 1994. An ecosystem box model for estimating the carrying capacity of a macrotidal shellfish system. *Marine Ecology Progress Series* 115:117-130.
- Reise K., 1998. Pacific oysters invade mussel beds in the European Wadden Sea. *Senckenbergiana Maritima* 28:167-175.
- Reise K., Gollasch S., Wolff W., 1999. Introduced marine species of the North Sea coasts. *Helgoland Marine Research* 52:219-234.
- Rees C.B., 1950. The identification and classification of lamellibranch larvae. *Hull Bulletins of Marine Ecology* 3(19):73-104.
- Ren J.S., Marsden I.D., Ross A.H., Schiel D.R., 2003. Seasonal variation in the reproductive activity and biochemical composition of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) from the Marlborough Sounds, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 37:171-182.
- Renault T., Le Deuff R.M., Cochennec N., Maffrat P., 1994. Herpesviruses associated with mortalities among Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in France-comparative study. *Revue de Médecine Vétérinaire* 145:735-742.
- Richoux N.B., Thompson R.J., 2001. Regulation of particle transport within the ventral groove of the mussel (*Mytilus edulis*) gill in response to environmental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 260:199-215.
- Rico-Villa B., Le Coz J.R., Mingant C., Robert R., 2006. Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 256:377-388.

- Rico-Villa, B., Pouvreau, S., Robert, R., 2009. Influence of food density and temperature on ingestion, growth and settlement of Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 287:395-401.
- Riera P., Stal L.J., 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). *Marine Ecology Progress Series* 240:291-295.
- Riisgård H.U., 1977. On measurements of the filtration rates of suspension feeding bivalves in a flow system. *Ophelia*. 16:167-173.
- Riisgård H.U., 1988. Efficiency of particle retention and filtration rate in 6 species of Northeast American bivalves. *Marine Ecology Progress Series* 45:217-223.
- Riisgård H.U., Larsen P.S., 2000. A comment on experimental techniques for studying particle capture in filter-feeding bivalves. *Limnology and Oceanography* 45:1192-1195.
- Riisgård H.U., Larsen P.S., Nielsen P.S., 1996. Particle capture in the mussel *Mytilus edulis*: the role of latero-frontal cirri. *Marine Biology* 127:259-266.
- Robert R., Gérard A., 1999. Bivalve hatchery technology: the current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France. *Aquatic Living Resources* 12:121-130.
- Robinson W.E., Wehling W.E., Morse M.P., McLeod G.C., 1981. Seasonal changes in soft-body component indices and energy reserves in the Atlantic deep-sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *Fishery Bulletin* 79:449-458.
- Roport M., Goulletquer P.T., Joly J.P., 1996. Trophic competition between the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the polychaete *Lanice conchilega* in the Bay of Veys (France). *Journal of Shellfish Research* 15:491.
- Royer J., Segueineau C., Park K.-I., Pouvreau S., Choi K.-S., Costil K., 2008. Gametogenetic cycle and reproductive effort assessed by two methods in 3 age classes of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, reared in Normandy. *Aquaculture* 277:313-320.
- Ruesink J.L., 2007. Biotic resistance and facilitation of a non-native oyster on rocky shores. *Marine Ecology Progress Series* 331:1-9.
- Ruesink J.L., Feist B.E., Harvey C.J., Hong J.S., Trimble A.C., Wisehart L.M., 2006. Changes in productivity associated with four introduced species: Ecosystem transformation of a “pristine” estuary. *Marine Ecology Progress Series* 311:203-215.
- Ruesink J.L., Lenihan H.S., Trimble A.C., Heiman K.W., Micheli F., Byers J.E., Kay M.C., 2005. Introduction of non-native oysters: ecosystem effects and restoration implications. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 36:643-689.

- Ruiz C., Abad M., Sedano F., Garcia-Martin L.O., Sánchez-López J.L., 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. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 155:249-262.
- Ruiz G.M., Carlton J.T., Grosholz E.D., Hines A.H., 1997. Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: mechanisms, extent, and consequences. *American Zoologist* 37:621-632.
- Ruosteenoja K., Tuomenvirta H., Jylha K., 2007. GCM-based regional temperature and precipitation change estimates for Europe under four SRES scenarios applying a super-ensemble patternscaling method. *Climatic Change* 81:193-208.
- Rumrill S.S., 1990. Natural mortality of marine invertebrate larvae. *Ophelia* 32:163-198.

## - S -

- Sarà G., Mazzola A., 2004. The carrying capacity for Mediterranean bivalves suspension feeders: evidence from analysis of food availability and hydrodynamics and their integration into a local model. *Ecological Modelling* 179:281-296.
- Sastry A.N., 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). In: Giese, A.C. & Pearse, J.S. (eds.). *Reproduction of Marine Invertebrates, Molluscs: Pelecypods and Lesser Classes*, Academic Press, New York, pp. 113-292.
- Schär C., Vidale P.L., Lüthi D., Frei C., Häberli C., Liniger M.A., Appenzeller C., 2004. The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature* 427:332-336.
- Scheiner S.M., 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24:35-68.
- Schmidt A., Wehrmann A., Dittman S., 2007. Population dynamics of the invasive Pacific oyster *Crassostrea gigas* during the early stages of an outbreak in the Wadden Sea (Germany). *Helgoland Marine Research* 62(4):367-376.
- Seed R., 1983. Structural organization, adaptive radiation, and classification of molluscs. In: Hochachka P.W. (ed.). *The Mollusca*, Vol. 1., Academic Press, New York, pp. 1-54.
- Senjyu T., Yasuda H., Sugihara S., Kamizono M., 2001. Current and turbidity variations in the Western Part of Suo-Nada, the Seto Inland Sea, Japan: a hypothesis on the oxygen-deficient water mass formation. *Journal of Oceanography* 57:15-27.
- Seno H., Hori J., Kusakabe D., 1926, Effects of temperature and salinity on the development of the eggs of the common Japanese oyster, *Ostrea gigas* Thunberg. *Journal of the Imperial Fisheries Institute* 22:41-47.

- Shanks A.L., 1995. Mechanisms of cross-shelf dispersal of larval invertebrates and fish. In: L.R. McEdward (ed.). *Ecology of Marine Invertebrate Larvae*, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 323-368.
- Shatkin G., Shumway S.E., Hawes R., 1997. Considerations regarding the possible introduction of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to the Gulf of Maine: a review of global experience. *Journal of Shellfish Research* 16:463-477.
- Shpigel M., Barber B.J., Mann R., 1992. Effects of elevated temperature on growth, gametogenesis, physiology and biochemical composition in diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* Thunberg. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 161(1):15-25.
- Shumway S.E., 1996. Natural environmental factors. In: Kennedy V.S., Newell R.I.E., & Eble A.E. (eds.). *The Eastern Oyster Crassostrea virginica*, Maryland Sea Grant College, USA (1996), pp. 467-513.
- Shumway S.E., Cucci T.L., Newell R.C., Yentsch C.M., 1985. Particle selection, ingestion, and absorption in filter-feeding bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 91:77-92.
- Smaal A., van Stralen M., Craeymeersch J., 2005. Does the introduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* lead to species shifts in the wadden sea? In: *The Comparative Roles of Suspension-Feeders in Ecosystems* / Dame, R.F., Olenin, S., - Dordrecht, Kluwer (NATO Science Series IV. Earth & Environmental Sciences Vol. 47), pp. 277-289.
- Smith P.J., Ozaki H., Fujio Y., 1986. No evidence for reduced genetic variation in the accidentally introduced oyster *Crassostrea gigas* in New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 20:569-574.
- Soletchnik P., 2008. Saisonnalité de ponte de *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* dans le bassin de Marennes-Oléron. Un demi-siècle de résultats: 1950-2000. La différence dans la saison de ponte reflète-t-elle une différence entre taxons ou l'évolution climatique ?. Rapport IFREMER, La Tremblade, 37 pp.
- Soletchnik P., Le Moine O., Faury N., Razet D., Geairon P., Goulletquer P., 1999. Summer mortality of the oyster *Crassostrea gigas* in the Bay Marennes-Oleron: spatial variability of environment and biology using a geographical information system (GIS). *Aquatic Living Resources* 12:131-143.
- Soletchnik P., Faury N., Goulletquer P., 2006. Seasonal changes in carbohydrate metabolism and its relationship with summer mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Marennes-Oléron bay (France). *Aquaculture* 252(2-4):328-338.
- Solomon S., Qin D., Manning M., Chen Z., Marquis M., Averyt K.B., Tignor M., Miller H.L., 2007. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)*, Cambridge University Press, Cambridge, 996 pp.

- Stafford M.A., 1909. On the recognition of bivalve larvae in plankton collections. Contributions to Canadian Biology, 1906-1910, pp. 221-242.
- Stasek C.R., 1963. Synopsis and discussion of the association of ctenidia and labial palps in bivalved Mollusca. Veliger. 6(2):91-97.
- Stearns S.C., 1976. Life-history tactics: a review of the ideas. The Quarterly Review of Biology 51:3-47
- Steele S., Mulcahy M.F., 1999, Gametogenesis of the oyster *Crassostrea gigas* in southern Ireland. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 79:673-686.
- Stenzel H.B., 1971. Oysters. In: Treatise in Invertebrate Paleontology, Mollusca 6, Bivalvia, Moore R.C. (ed.), Geological Society of America, University of Kansas, Boulder, pp. 953-1224.
- Strathmann R.R., 1974. The spread of sibling larvae of sedentary marine invertebrates. American Naturalist 108:29-44.
- Strathmann R.R., 1986. What controls the type of larval development? Summary statement for the evolutionary session. Bulletin of Marine Science 39:616-622.
- Strathmann R.R., Fenaux L., Sewell A.T., Strathmann M.F., 1993. Abundance of food affects relative size of larval and post-larval structures of a molluscan veliger. Biological Bulletin 185:232-239.
- Strayer D.L., Caraco N.F., Cole J.J., Findlay S., Pace M.L., 1999. Transformation of freshwater ecosystems by bivalves. A case study of zebra mussels in the Hudson River. BioScience. 49(1):19-27.

## - T -

- Takada T., Nakajima H., 1992. An analysis of life history evolution in terms of the density-dependent Lefkovich Matrix model. Mathematical Biosciences 112:155-176.
- Theisen B.F., 1977. Feeding rate of *Mytilus edulis* L. (Bivalvia) from different parts of Danish waters in water of different turbidity. Ophelia 21:49-63.
- Theisen B.F., 1982. Variation in size of gills, labial palps, and adductor muscle in *Mytilus edulis* L. (Bivalvia) from Danish waters. Ophelia 21:49-63.
- Thompson R.J., 1977. Blood chemistry, biochemical composition, and the annual reproductive cycle in the giant scallop, *Placopecten magellanicus*, from southeast Newfoundland. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 34:2104-2116.
- Thompson R.J., 1984. Production, reproductive effort, reproductive value and reproductive cost in a population of the blue mussel *Mytilus edulis* from a subarctic environment. Marine Ecology Progress Series 16:249-257.

- Thompson R.J., Newell R.I.E., Kennedy V.S., Mann R., 1996. Reproductive processes and early development. In: Kennedy V.S., Newell R.I.E. & Eble A.F. (eds). The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*, Maryland Sea Grant Book, Maryland, pp. 335-370.
- Thresher R., Grewe P., Patil J.G., Whyard S., Templeton C.M., Chaimongol A., Hardy C.M., Hinds L.A., Dunham R., 2009. Development of repressible sterility to prevent the establishment of feral populations of exotic and genetically modified animals. *Aquaculture* 290:104-109.
- Todd C.D., Havenhand J.N., 1983. Reproductive effort: its definition, measurement and interpretation in relation to molluscan life-history strategies. *Journal of Molluscan Studies* suppl. 12A:203-208.
- Toulhoat L., 2008. Éléments de compréhension des stratégies de captage naturel de l'huître creuse (*Crassostrea gigas*) des ostréiculteurs de Charente-Maritime. Mémoire de fin d'études, Laboratoire Environnement Ressources - Pertuis Charentais, IFREMER, 113 pp.
- Troost K., Kamermans P., Wolff W.J., 2008a. Larviphagy in native bivalves and an introduced oyster. *Journal of Sea Research* 60(3):157-163.
- Troost K., Veldhuizen R., Stamhuis E.J., Wolff W.J., 2008b. Can bivalve veligers escape feeding currents of adult bivalves?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 358:185-196.
- Troost K., Gelderman E., Kamermans P., Smaal A.C., Wolff W.J., 2009. Effects of an increasing filter feeder stock on larval abundance in the Oosterschelde estuary (SW Netherlands). *J. Sea Res.* 61, 153-164.

## - U -

- Underwood A.J., Fairweather P.G., 1989. Supply-side ecology and benthic marine assemblages. *Trends in Ecology and Evolution* 4(1):16-20.
- Urban E.R., Kirchman D.L., 1992. Effect of kaolin clay on the feeding activity of the eastern oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin), *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 160(1):47-60.
- Urrutia M.B., Iglesias J.I.P., Navarro E., 1997. Feeding behaviour of *Cerastoderma edule* in a turbid environment: Physiological adaptations and derived benefit. *Hydrobiologia* 355:173-180.
- Urrutia M.B., Iglesias J.I.P., Navarro E., Prou J., 1996. Feeding and absorption in *Cerastoderma edule* under environmental conditions in the bay of Marennes-Oléron (Western France). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 76:431-450.

Urrutia M.B., Nararro E., Ibarrol, I., Iglesias J.I.P., 2001. Preingestive selection processes in the cockle *Cerastoderma edule*: mucus production related to rejection of pseudofaeces. Marine Ecology Progress Series 209:177–187.

## - V -

Valéry L., Fritz H., Lefeuvre J.-C. & Simberloff D. (2008) In search of a real definition of the biological invasion phenomenon itself. Biological Invasions 10:1345-1351.

van der Meer J., 2006. An introduction to Dynamic Energy Budget (DEB) models with special emphasis on parameter estimation. Journal of Sea Research 56:85-102.

van der Veer, H.W., Cardoso, J.F.M.F., and van der Meer, J. 2006. The estimation of DEB parameters for various Northeast Atlantic bivalve species. Journal of Sea Research 56:107-124.

Valiela I., 1995. Marine ecological processes, Second edition. Springer, New York, 686 pp.

Velasco L.A., Navarro J.M., 2002. Feeding physiology of infaunal (*Mulinia edulis*) and epifaunal (*Mytilus chilensis*) bivalves under a wide range of concentrations and qualities of seston. Marine Ecology Progress Series 240:143-155.

Ventilla R.F., 1984, Recent developments in the Japanese oyster culture industry. Advances in Marine Biology 21:1-57.

Vermeij G.J., 1978. Biogeography and adaptation: Patterns of marine life. Harvard University Press, Cambridge.

Vermeij G.J., 1991. When biotas meet: understanding biotic interchange. Science 253:1099-1104.

Videla J.A., Chaparro O.R., Thompson R.J., Concha I.I., 1998. Role of biochemical energy reserves in the metamorphosis and early development of the oyster *Ostrea chilensis*. Marine Biology 132: 635-640.

## - W -

Waller T.R., 1981. Functional morphology and development of veliger larvae of the European oyster *Ostrea edulis* Linné. In: Smithsonian Contributions to Zoology, n° 328, 70 pp.

Ward J.E., 1996. Biodynamics of suspension-feeding in adult bivalve molluscs: particle capture, processing, and fate. Invertebrate Zoology 115:218-231.

Ward J.E., Beninger P.G., MacDonald B.A., Thompson R.J., 1991. Direct observations of feeding structures and mechanisms in bivalve mollusks using endoscopic examination and video image analysis. Marine Biology 111:287-291.

- Ward J.E., Cassell H.K., MacDonald B.A., 1992. Chemoreception in the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin). I. Stimulatory effects of phytoplankton metabolites on clearance and ingestion rates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 163:235-250.
- Ward J.E., Levinton J.S., Shumway S.E., 2003. Influence of diet on pre-ingestive particle processing in bivalves I: Transport velocities on the ctenidium. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 293:129-149.
- Ward J.E., Levinton J.S., Shumway S.E., Cucci T., 1998. Particle sorting in bivalves: *in vivo* determination of the pallial organs of selection. *Marine Biology* 131:283-292.
- Ward J.E., MacDonald B.A., Thompson R.J., Beninger P.G., 1993. Mechanisms of suspension feeding in bivalves: resolution of current controversies by means of endoscopy. *Limnology and Oceanography* 38(2):265-272.
- Ward J.E., Newell R.I.E., Thompson R.J., MacDonald B.A., 1994. *In vivo* studies of suspension-feeding processes in the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Biological Bulletin* 186:221-240.
- Ward J.E., Shumway S.E., 2004. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 300:83-130.
- Walne P.R., 1974. Culture of Bivalve Molluscs. 50 years of experience at Conway. In: Fishing News (Books), Surrey, United Kingdom, 191 pp.
- Way C.M., 1988. A description of the ultrastructure of the gills of freshwater bivalves, including a new structure, the frontal cirrus. *Canadian Journal of Zoology* 67(2):357-362.
- Wehrmann A., Herlyn M., Bungenstock F., Hertweck G., Millat G., 2000. The distribution gap is closed-first record of naturally settled Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in the East Frisian Wadden Sea, North Sea. *Senckenbergiana Maritima* 30:153-160.
- Whyte J.N.C., Bourne N., Hodgson C.A., 1987. Assessment of biochemical composition and energy reserves in larvae of the scallop *Patinopecten yessoensis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 113:113-124.
- Widdows J., Fieth P., Worrall C.M. 1979. Relationship between seston, available food and feeding activity in the common mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 50:195-207.
- Williams R.J., Griffiths F.B., van der Wal E.J., Kelly J., 1988. Cargo vessel ballast water as a vector for the transport of non-indigenous marine species. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 26:409-420.
- Williamson M. 1996. Biological invasions. Chapman & Hall, London, 244 pp.
- Willows R.I. 1992. Optimal digestive investment: A model for filter feeders experiencing variable diets. *Limnology and Oceanography* 37(4):829-847.

Wilson J.H., 1983. Retention efficiency and pumping rate of *Ostrea edulis* in suspensions of *Isochrysis galbana*. Marine Ecology Progress Series 12:51-58.

Worrall C.M., Widdows J., Lowe D.M., 1983. Physiological ecology of three populations of the bivalve *Scrobicularia plana*. Marine Ecology Progress Series 12:267-279.

## - Y -

Yonge C.M., 1926. Structure and physiology of the organs of feeding and digestion in *Ostrea edulis*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 14:295-387.

Yonge C.M. 1936. The evolution of the swimming habit in the Lamellibranchia. Mémoire du Muséum Royal d'Histoire Naturelle de Belgique 3:77-100.

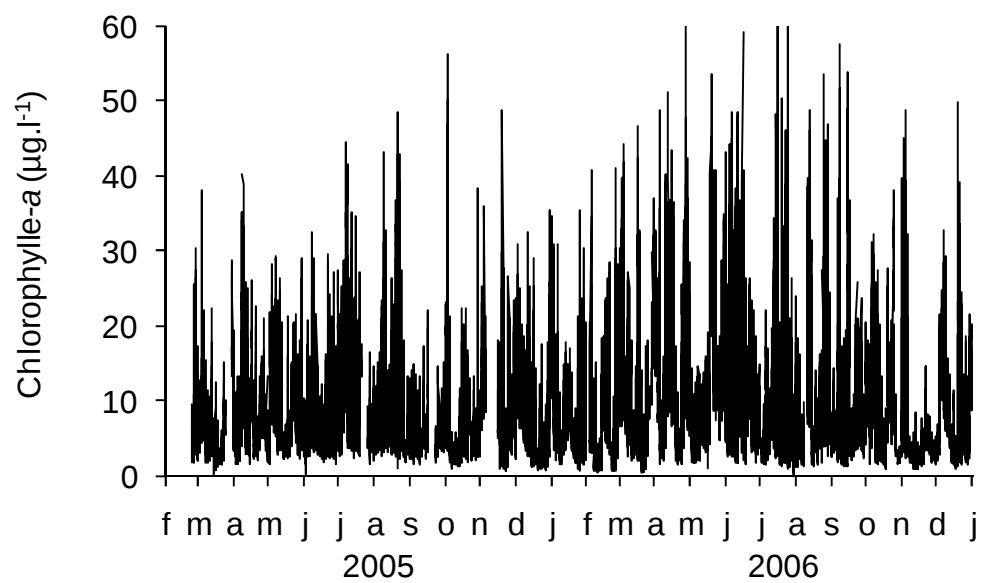
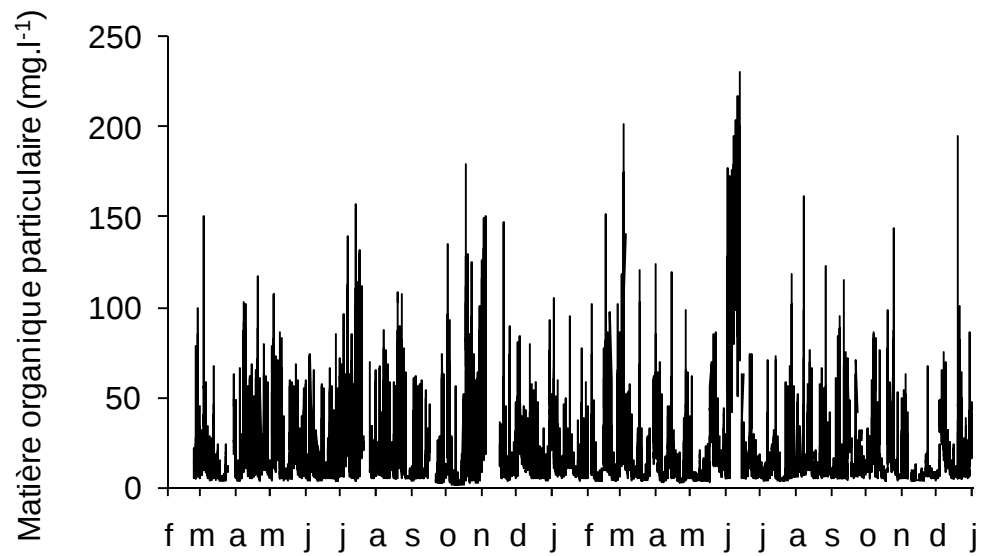
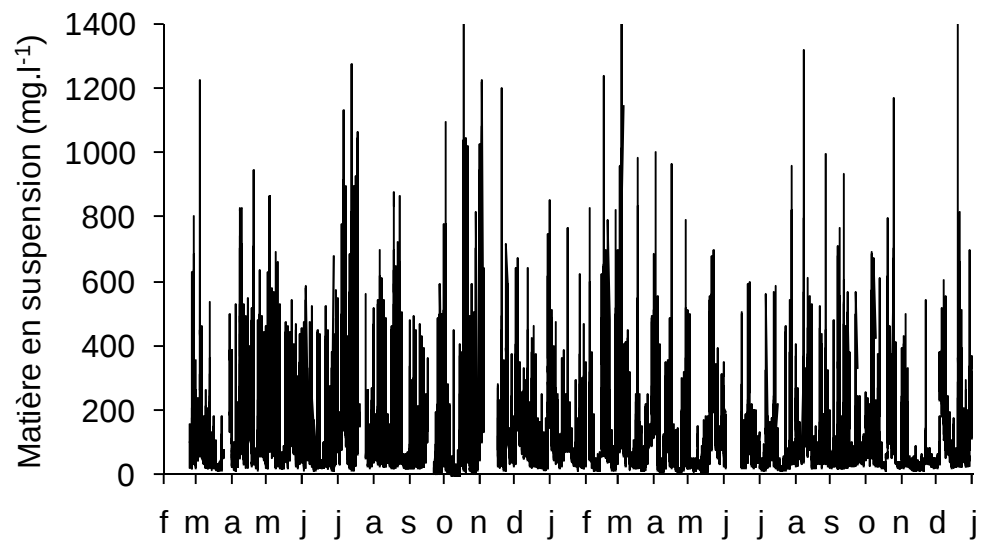
Yonge C.M., 1949. On the structure and adaptations of the Tellinacea, deposit-feeding Eulamellibranchia. Philosophical Transactions of the Royal Society B 234 :29-76.

## **ANNEXES**

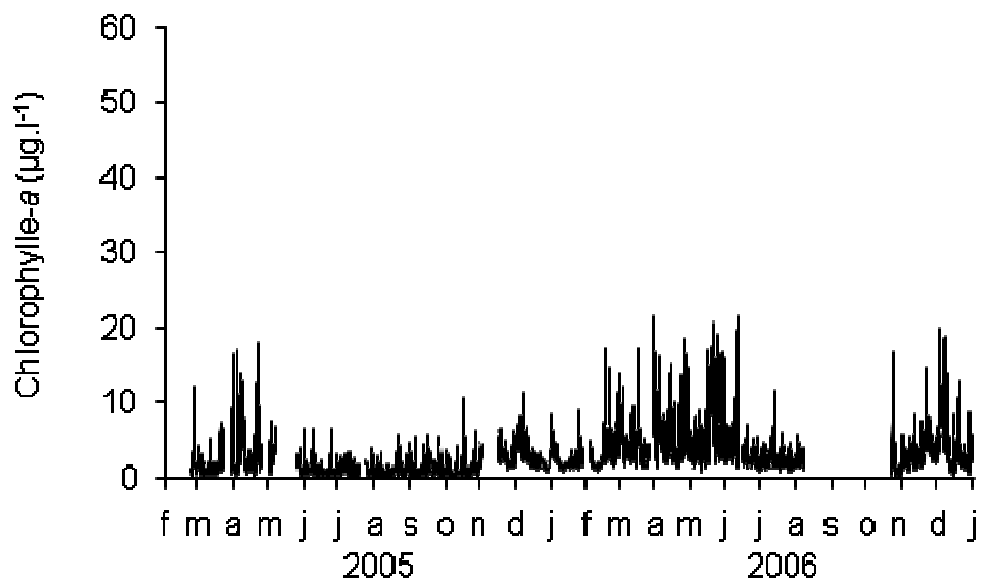
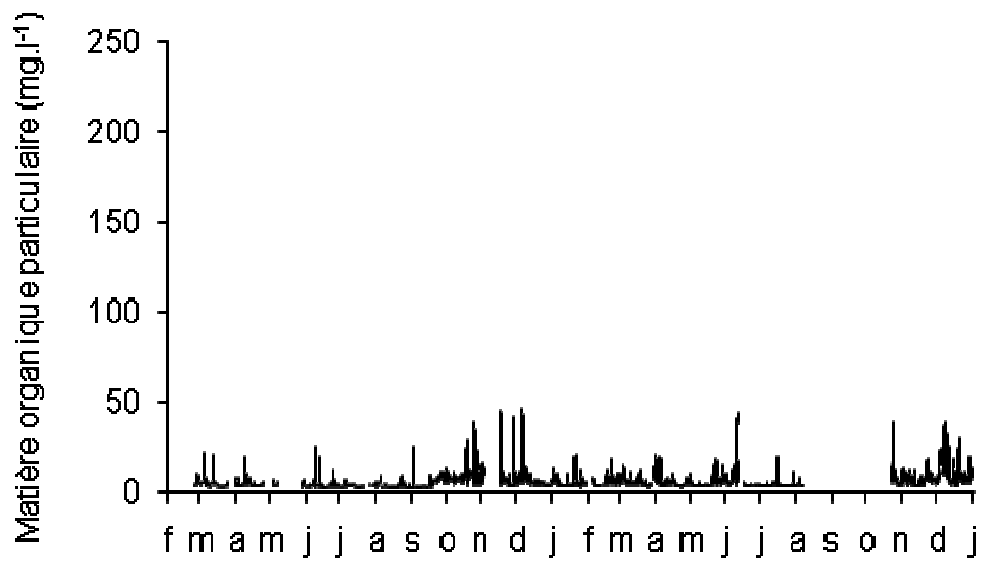
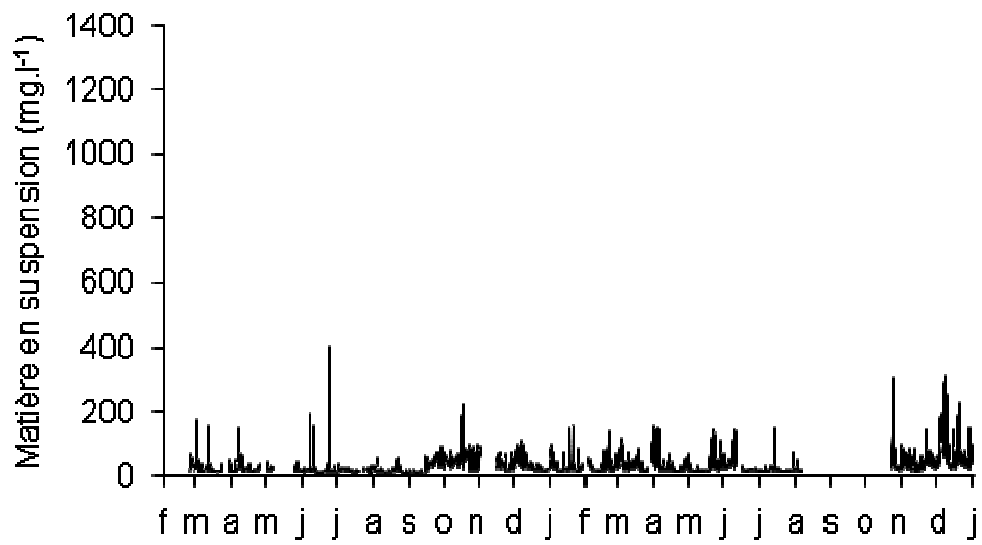


**VARIATIONS HORAIRES DES CONCENTRATIONS  
EN MATIÈRE EN SUSPENSION,  
EN MATIÈRE ORGANIQUE PARTICULAIRE  
ET EN CHLOROPHYLLE-A,  
À LA COUPELASSE ET À GRESSELOUP**

# La Coupelasse



# Gresseloup











## **Invasion des populations férales de l'huître creuse *Crassostrea gigas* : stratégies d'alimentation et de reproduction dans les habitats turbides**

L'huître creuse *Crassostrea gigas* présente des variations phénotypiques de taille de ses branchies et de ses palpes labiaux en relation avec la quantité et la qualité des matières en suspension. Lorsque la turbidité augmente, l'accroissement de la taille des palpes et la réduction de la surface branchiale permettent une augmentation du taux de filtration et de l'efficacité de la sélection pré-ingestive des particules.

Dans des conditions naturelles, les stratégies de reproduction des huîtres cultivées et des huîtres férales sont principalement dépendantes de la température de l'eau, de la quantité et de la qualité du seston. La maturation des gonades, l'émission des gamètes et l'atrésie gamétique ont été associées à des seuils physiologiques de température de l'eau. Les efforts de reproduction relativement similaires suggèrent que non seulement les huîtres cultivées, mais également les huîtres férales, contribuent à la prolifération de *Crassostrea gigas*.

Un accroissement significatif du recrutement naturel des huîtres férales a été mis en relation avec une augmentation des températures estivales de l'eau. Cette relation corrobore les observations historiques montrant la concomitance du réchauffement des eaux littorales et de l'invasion de *Crassostrea gigas* dans les écosystèmes tempérés de l'hémisphère nord.

En 2008 et 2009, des mortalités estivales ont décimé les juvéniles de *Crassostrea gigas* cultivés dans les écosystèmes côtiers français mais ont peu affecté les huîtres férales invasives, qui pourraient, de ce fait, être utilisées pour relancer l'ostréiculture.

**Mots-clés:** huître creuse, invasion, plasticité phénotypique, réchauffement climatique, turbidité, filtration, sélection, branchie, palpe, reproduction, recrutement

## **Invasion of feral populations of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: feeding and reproductive strategies in turbid habitats**

The Pacific oyster *Crassostrea gigas* showed phenotypic variations of its gill and labial palp size in relation to the quantity and quality of the suspended particulate matter. When turbidity increased, the increase of the palp size and the reduction of the gill size allowed higher clearance rate and pre-ingestive selection efficiency of the particles.

In natural conditions, reproductive strategies of farmed and feral oysters were chiefly dependant from water temperature, and seston quantity and quality. Gonad maturation, spawn and gamete atresia were associated with physiological thresholds of water temperature. Relatively similar reproductive efforts suggest that not only farmed oysters, but also feral oysters, contribute to the *Crassostrea gigas* proliferation.

A significant increase of the feral oyster natural recruitment was related to the rise of summer water temperatures. This relationship supports the historical observations showing simultaneous coastal water warming and *Crassostrea gigas* invasion in northern temperate ecosystems.

In 2008 and 2009, summer mortalities have decimated the *Crassostrea gigas* juveniles reared in the French coastal ecosystems but have not much affected the invasive feral oysters, which could therefore be used to boost oyster farming.

**Key words:** Pacific oyster, invasion, phenotypic plasticity, climate warming, turbidity, clearance rate, selection, gill, palp, reproduction, recruitment