



Etude du processus invasif de *Crassostrea gigas* en Bretagne: Etat des lieux, dynamique et conséquences écologiques

Morgane Lejart

► To cite this version:

Morgane Lejart. Etude du processus invasif de *Crassostrea gigas* en Bretagne: Etat des lieux, dynamique et conséquences écologiques. Ecologie, Environnement. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2009. Français. NNT: . tel-00444262

HAL Id: tel-00444262

<https://theses.hal.science/tel-00444262>

Submitted on 6 Jan 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE / UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE

sous le sceau de l'Université européenne de Bretagne

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE

Mention : Biologie Marine

Ecole Doctorale des Sciences de la Mer

présentée par

Morgane Lejart

Préparée à l'Unité Mixte de recherche LEMAR

UMR 6539 CNRS/IRD/UBO

Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin

Etude du processus invasif de *Crassostrea gigas* en Bretagne : Etat des lieux, dynamique et conséquences écologiques

Thèse soutenue le 6 juillet 2009

devant le jury composé de :

Philippe Archambault

Professeur, Université de Rimouski : *rapporteur*

Guy Bachelet

Directeur de recherche, Université Bordeaux 1 :
rapporteur

Jacques Clavier

Professeur, Université de Bretagne Occidentale :
examineur

Stéphane Pouvreau

Cadre de recherche, Ifremer Argenton : *examineur*

Christian Hily

Chargé de recherche, Université de Bretagne
Occidentale : *Directeur de thèse*

Clare Eno

Senior maritime policy officer, Countryside Council for
Wales : *Invitée*



Etude du processus invasif de *Crassostrea gigas* en Bretagne : Etat des lieux, dynamique et conséquences écologiques



A mon grand père, Serge ...

Remerciements

Lorsque les étudiants commencent une thèse, on leur dépeint souvent cette période comme éprouvante, semée d'embûches, avec des phases de panique ou de dépression. Presque 4 ans après ce tableau idyllique du doctorat, je tiens donc à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont aidée à construire ce projet et à le mener à terme sans finalement que le cauchemar prophétisé ne se réalise, bien au contraire ! Je réalise aujourd'hui à quel point ce travail est le résultat de la collaboration de nombreuses personnes que je tiens à remercier chaleureusement.

Je tenais tout d'abord à remercier les membres du jury d'avoir fait le déplacement jusqu'à Brest, de très loin parfois. Un grand merci à Philippe Archambault et Guy Bachelet d'avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse. Je remercie également chaleureusement Jacques Clavier d'avoir présidé le jury ainsi que Stéphane Pouvreau et Clare Eno d'y avoir participé. Merci encore pour tous ces conseils et remarques avisés qui m'ont apporté de nouvelles perspectives de réflexion sur un sujet que j'étudiais depuis quatre ans.

Merci également à Eric Thiébaud, Stéphane Pouvreau, Philippe Clergeau et Yves-Marie Paulet de m'avoir permis, lors de mon comité de thèse, de lever un peu la tête du guidon pour me poser les bonnes questions à mi-parcours de ce travail.

Merci à Christian Hily, qui depuis mon arrivée à l'IUEM m'a permis de découvrir le monde de la recherche puis de m'y intégrer. Merci de m'avoir proposé ce sujet de thèse puis de l'avoir encadré avec tout l'enthousiasme et la disponibilité dont tu sais faire preuve et ce jusqu'au bout !!

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR). Merci au directeur Laurent Mémery de donner aux thésards de son laboratoire les moyens humains, techniques et financiers pour qu'ils puissent réaliser leurs

travaux dans les meilleures conditions possibles. Merci à Anne Donval de nous trouver un bureau malgré la crise du logement !

Merci à Gene, Annick et Anne-So pour votre bonne humeur, merci Alain M de nous aider à trouver les objets les plus improbables dont on peut avoir besoin pendant ces années, merci Alain L pour les coups de main informatiques qui nous sauvent la vie ! Un grand merci à Christian Tartu qui, malgré les conditions météo parfois exécrables de ces derniers étés, allait deux fois par mois dans la vase chercher les huîtres puis réalisait les indices de condition nécessaires au suivi de la reproduction.

Un grand merci à l'équipe « benthos » pour m'avoir aidée dans la détermination des nombreuses espèces qui colonisent les récifs d'huîtres. Merci donc à Jacques Grall, Benjamin Guyonnet et Michel le Duff pour vos lumières. Un grand merci à Marion qui m'accompagnait dans mon scepticisme sur la différence entre une soie en pioche ou en pelle ! et qui m'a accueillie chez elle un été où j'étais SDF !

Merci à Yves-Marie Paulet, Laurent Chauvaud et Jacques Clavier de garder votre porte ouverte à tous ceux qui se posent des questions sur leur travail et leur permettre d'avancer.

Merci également Jacques et Laurent pour votre enthousiasme lorsque nous avons fait respirer des huîtres et des cailloux sous des enceintes (même lors de tempêtes !), et pour votre disponibilité et votre rapidité dans la correction des articles. Un grand merci à Erwan Amice pour tous ces moments où tu n'as pas hésité à te jeter à l'eau, quelque soit la température, ou à t'échouer dans l'Aulne pour que je puisse étudier les récifs d'huîtres sauvages.

Merci à tous les anciens de l'aile B : Jona, Pierro, Julien, Sorcha, Sophie, Joëlle, Briva, Matthieu, pour m'avoir accueillie au tout début de ma thèse et m'avoir fait découvrir ce que voulait dire être thésard au LEMAR !

Un grand merci aux C pas Nous pour, dans le désordre : leur aide sur le terrain (même sous la pluie !), au labo, avoir accepté de relire quelques chapitres de mon manuscrit, leur bonne humeur (ou pas !!), les

cours de yoga, les heures passées au café... Merci Agnès, Marie, Nelly, Leïla, Caro, Philippe, Christophe, Hansy, Marcel, Martial, Fanny, Auré, Aurélie, Adeline ... Merci vraiment Leïla pour toutes ces fins de journées passées au labo à disséquer les huîtres par centaines, et m'avoir fait découvrir l'analyse ELISA ou la PCR Quantí, un monde obscur pour moi mais avec toi c'était bien ! Merci Marie, Agnès, Nelly et vos hommes pour toutes ces soirées, même si des fois il aurait mieux valu ne pas nous inviter !!

Merci Agnès, Mélanie, Sabine et Fanny pour les quelques mois que nous avons passés au bout du couloir, c'était super !

Merci enfin à Céline, Antoine et Johann pour avoir supporté mes visites dans votre bureau pour tout un tas de questions existentielles que je pouvais avoir sur la calcification ou les isotopes !

Un grand merci aux « Christiannettes » ! Merci Maud pour ta bonne humeur et pour m'avoir emmenée piétiner des algues quand le terrain me manquait. Agathe, merci pour tout ce temps où nous avons travaillé ensemble à compter les huîtres ou parfois à les éradiquer !

Merci aux stagiaires qui ont accepté avec une bonne volonté incroyable parfois, de venir compter des petites bestioles pendant des heures sous la pluie, ou de passer des journées devant le microtome. Merci Morgane, Guillaume, Julie, Marine, Adeline, Laure et Christian.

Merci à Eric et Elisabeth de la scolarité de l'IUEM pour toutes ces fois où vous avez su régler simplement et dans la bonne humeur les petites tracasseries administratives que l'on peut rencontrer pendant la thèse.

J'ai également eu la chance, dans le cadre du programme national PRODIG, de collaborer avec des laboratoires, répartis sur les côtes Manche-Atlantique, sans qui le suivi des quadrats permanents aurait été impossible. Merci à Patrick Le Mao et Nicolas Desroy du CRESCO-Ifremer de Dinard d'avoir assuré ce suivi dans le Golfe Normano-Breton. Merci à Edouard Bédier et Aimé Langlade de la station Ifremer de la Trinité pour leur aide sur les côtes Morbihannaises. Merci à Joël Haure et Jean Louis Martin de la Station Ifremer de Bouin pour leur contribution en Baie de Bourgneuf. Un grand merci

enfin à Pierre-Guy Sauriau de la station Ifremer-CNRS de l'Houmeau pour le suivi réalisé sur les îles de Ré et d'Oléron ainsi que les analyses isotopiques.

Je remercie également Catherine Seguéneau du LPI Ifremer-Brest pour sa participation au dosage de protéines.

Pour conclure sur les collaborations scientifiques, je remercie enfin Iwan Le Berre du laboratoire GEOMER à l'IUEM pour son aide précieuse dans un domaine qui n'était pas familier à une biologiste, le SIG.

Un très très grand merci aux ostréiculteurs qui m'ont aidée pendant ces dernières années et sans qui peu de choses auraient été accomplies. Merci à Jean Luc Le Gall pour avoir conservé pendant plusieurs mois sur sa concession les sondes thermiques nécessaires au suivi de la température au Tinduff. Merci à Jacques LeBot pour avoir mis à ma disposition quelques poches me permettant de suivre la reproduction des huîtres à l'Aber Benoit. Merci enfin à Jean-Yves et Julien Coïc de la Pointe du Château pour leur gentillesse, pour m'avoir permis de mieux connaître leur métier, pour m'avoir fait de la place sur leur concession pour tout un tas d'objets insolites tels que des parpaings ou des cloches, et sur leur parking pour la mise en place d'un véritable laboratoire ambulancier.

Merci à mes parents, mon frère et ma soeur pour leur soutien tout au long de ces années. Teddy, merci pour tout et surtout pour la pelouse !

Ces travaux de thèse ont été financés par la Région Bretagne.



SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
PARTIE I : Quel est l'état actuel de la colonisation de <i>Crassostrea gigas</i> en Bretagne ?	17
Introduction	19
1. Echelle régionale	20
1.1. Matériel et méthodes	20
1.2. Résultats	21
1.3. Discussion.....	23
2. Echelle locale : Rade de Brest et Golfe du Morbihan	25
2.1. Matériel et méthodes	25
2.2. Résultats	27
2.3. Discussion.....	32
Conclusion.....	36
 PARTIE II : Quels sont les facteurs déterminant la dynamique du processus invasif de <i>Crassostrea gigas</i> en Bretagne ?	37
Introduction	39
Chapitre 1 : Le changement climatique, responsable de l'invasion de <i>Crassostrea gigas</i> en Bretagne ?	40
Introduction	40
1. Matériel et méthodes	41
1.1. Sites d'études et échantillonnage.....	41
1.2. Mesure de la température	42
1.3. Indice de condition	42
1.4. Analyse histologique qualitative de la gonade	43
1.5. Quantification de l'effort de reproduction par ELISA (Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay).....	44
1.6. Test de fécondation.....	48
1.7. Analyses statistiques.....	49
2. Résultats	50
2.1. Températures	50
2.2. Indice de condition	54
2.3. Analyse histologique qualitative de la gonade	57
2.4. Indice gonado-somatique obtenu par ELISA (Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay).....	62
2.5. Test de fécondation.....	62

3. Discussion	64
---------------------	----

Chapitre 2 : Quelle est l'influence des paramètres biotiques et abiotiques sur le recrutement de *Crassostrea gigas* ?

Introduction	69
1. Matériel et méthodes	70
2. Résultats	73
2.1. Effet de la bathymétrie sur le recrutement	73
2.2. Effets de la prédation sur le recrutement intertidal	79
2.3. Effets du substrat sur le recrutement intertidal	80
3. Discussion	83
3.1. Effets de la prédation sur le recrutement	83
3.2. Effets du substrat sur le recrutement	84
3.3. Effet de la bathymétrie sur le recrutement	86

Conclusion et discussion sur le phénomène des mortalités estivales	87
--	----

PARTIE III : Quels sont les impacts écologiques de *Crassostrea gigas* sur son écosystème hôte ?

Introduction	93
--------------------	----

Chapitre 1 : Quels sont les impacts de *Crassostrea gigas* sur les communautés intertidales ?

Introduction	94
1. Impact du taux de recouvrement du substrat rocheux par <i>C. gigas</i> sur la macrofaune	96
1.1. Matériel et méthode	96
1.1.1. Etude en Rade de Brest	96
1.1.2. Etude dynamique à l'échelle régionale	97
1.1.3. Analyses statistiques	99
1.2. Résultats	99
1.2.1. Etude en Rade de Brest	99
1.2.2. Etude dynamique à l'échelle régionale	101
1.3. Discussion	105
2. <i>Crassostrea gigas</i> , responsable de la régression des fucales ?	106
2.1. Matériel et méthodes	106
2.2. Résultats	106
2.3. Discussion	108
3. Impacts écologiques d'un nouvel habitat, le récif d'huîtres (<i>Crassostrea gigas</i> , Thunberg), sur les communautés intertidales de la Rade de Brest, France	111

Chapitre 2 : Quelle est la contribution de *Crassostrea gigas* aux flux de CO₂ d'un écosystème côtier ?

1. Production spécifique de carbone et de carbonate de calcium par les activités de respiration et de calcification de <i>Crassostrea gigas</i>	132
---	-----

2. Impacts de la prolifération de <i>Crassostrea gigas</i> sur le métabolisme des communautés rocheuses intertidales	152
2.1. Introduction	152
2.2. Matériel et méthodes	152
2.2.1 Site d'étude	152
2.2.2. Echantillonnage.....	153
2.2.3. Respiration aérienne en période d'émersion.....	154
2.2.4. Respiration et calcification en période d'immersion.....	156
2.2.5. Paramètres environnementaux	157
2.2.6. Echantillonnage de <i>Crassostrea gigas</i>	157
2.2.7. Traitement des données	157
2.3. Résultats	159
2.3.1. Paramètres environnementaux	159
2.3.2. Caractéristiques de la macrofaune associée aux huîtres	160
2.3.3. Métabolisme des communautés en émersion.....	162
2.3.4. Métabolisme des communautés en immersion.....	164
2.3.5. Calcification en période d'immersion	166
2.3.6. Bilan des flux de carbone	167
2.4. Discussion.....	169
2.4.1. Impact de <i>Crassostrea gigas</i> sur la macrofaune intertidale	169
2.4.2. Impact de <i>Crassostrea gigas</i> sur le métabolisme aérien des communautés intertidales rocheuses.....	170
2.4.3. Impact de <i>Crassostrea gigas</i> sur le métabolisme des communautés intertidales rocheuses en immersion	172
2.4.4. Impact de <i>Crassostrea gigas</i> sur la calcification des communautés intertidales rocheuses.....	173
2.4.5. Conséquences de la prolifération de <i>Crassostrea gigas</i> sur le bilan en carbone des écosystèmes côtiers	173
 SYNTHESE GENERALE	 177
1. Etat de la prolifération.....	178
2. Dynamique de la prolifération.....	178
3. Conséquences écologiques de la prolifération	179
4. Gestion de l'invasion des estrans bretons par <i>Crassostrea gigas</i>	181
 BIBLIOGRAPHIE	 183

Annexe 1 : Analyse spatiale de la prolifération de *C. gigas* à l'échelle de la Bretagne
Iwan Le Berre, Christian Hily, Morgane Lejart, Raphaël Gouill, Soumise dans Cyberge

Annexe 2 : Estimation du stock de *C. gigas* en Rade de Brest. Sites et protocole d'échantillonnage

Annexe 3 : Estimation du stock de *C. gigas* dans le Golfe du Morbihan. Sites et protocole d'échantillonnage

Annexe 4 : Sex-, gametogenesis, and tidal height-related differences in levels of HSP70 and metallothioneins in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*

Anne-Leila Meistertzheim, Morgane Lejart, Nelly Le Goïc, Marie-Thérèse Thébault
Comparative Biochemistry and Physiology (2009)

INTRODUCTION GENERALE

1. Les invasions biologiques : définitions et processus

1.1. Qu'est-ce qu'une espèce invasive ?

De nombreux termes désignant les espèces invasives ont été recensés par Colautti et MacIsaac (2004) dans leur revue de littérature sur les invasions biologiques. Celles-ci sont nommées, en fonction des auteurs, espèces invasives, exotiques, non-indigènes, non-natives, aliens, importées, introduites, envahissantes, ou colonisatrices. Cette abondance de termes révèle la difficulté d'établir une définition consensuelle d'une espèce invasive. Pour l'ensemble des auteurs, une espèce invasive est une espèce naturalisée dans un écosystème où elle n'avait jamais été recensée (Rejmánek et al. 2002), mais la controverse porte sur deux paramètres de l'invasion, qui sont le vecteur de transport de l'espèce, et son impact sur cet écosystème.

La controverse sur le vecteur de transport de l'espèce dans un nouvel écosystème consiste à faire la distinction entre une espèce colonisatrice et une espèce introduite. Davis et Thompson (2000) considèrent en effet qu'une espèce invasive peut être une espèce native colonisatrice qui étend son aire de répartition alors que pour Williamson (1996) et Carlton (1996), une espèce invasive est toujours introduite, accidentellement ou volontairement, par l'homme.

La nécessité d'un impact de l'espèce exotique sur l'écosystème pour la considérer comme invasive est la question qui fait actuellement le plus débat. Pour de nombreux auteurs, la définition d'espèce invasive implique obligatoirement que cette dernière ait un impact négatif sur son écosystème hôte (Carlton 1996; Williamson 1996; Parker et al. 1999; Ruiz et al. 1999; Davis et Thompson 2000, 2001; Levine 2000; Mack et al. 2000). Considérant que cette notion d'impact négatif est un jugement de valeur humain trop subjectif, d'autres auteurs ne prennent pas en compte le paramètre d'impact dans la définition (Richardson et al. 2000; Daehler 2001; Rejmánek et al. 2002; Colautti et MacIsaac 2004).

Etant donnée l'ambiguïté actuelle de la terminologie, dans cette étude nous utiliserons indifféremment les termes 'introduite', 'exotique' ou 'invasive' pour qualifier une espèce établie dans une aire géographiquement éloignée de son aire d'origine dont l'apparition est liée aux activités humaines, par opposition aux termes 'native', 'indigène' ou 'autochtone'.

1.2. Un processus en plusieurs étapes

Williamson (1996) et Vermeij (1996) ont été les premiers à proposer une structuration du processus invasif en trois phases successives :

- La phase d'arrivée ou installation. Cette première phase correspond à l'arrivée de l'espèce dans un nouvel environnement et au succès de son établissement, c'est-à-dire la création d'une population viable et permanente.
- La phase d'expansion de l'espèce dans son nouvel environnement, une fois qu'elle y est établie.
- La phase d'intégration. Cette dernière phase correspond à la mise en place de liens écologiques stables entre l'espèce invasive et les différentes composantes de l'écosystème hôte, intégrant la question débattue de la nécessité d'un impact avéré de cette espèce sur l'écosystème pour la qualifier d'invasive.

Considérant la dispersion d'une espèce et son intégration dans le nouvel écosystème indissociables, à cette structuration en trois phases sera préférée la distinction de cinq phases proposées par Colautti et al. (2006) et présentées dans la figure i.1.

Le stade 0 représente la population source dans son aire d'origine. Le stade 1 correspond à la phase de transport de l'espèce par l'homme hors de son aire naturelle pour aboutir au stade 2 qui est l'introduction d'individus dans un nouvel environnement. Lorsque les individus survivent et se reproduisent dans ce nouvel environnement, l'établissement d'une population durable, représentant le stade 3, est atteint. Le stade 4 correspond à la dispersion d'individus au-delà du point initial d'introduction (stade 4a) ou à l'augmentation de la densité de la population introduite (stade 4b). Le dernier stade (stade 5) est défini par la prolifération de l'espèce en forte densité dans la zone initiale d'introduction et au-delà.

La règle des dixièmes ou « ten's rule » établie par Williamson et Fitter (1996) estime que seulement $1/10^{\text{ème}}$ des espèces introduites s'établit durablement, qu'une fois établi seul $1/10^{\text{ème}}$ parvient à se disperser au delà de son point d'introduction et qu'enfin $1/10^{\text{ème}}$ des espèces qui se dispersent a des impacts négatifs sur son écosystème hôte et est considéré comme une nuisance ('pests').

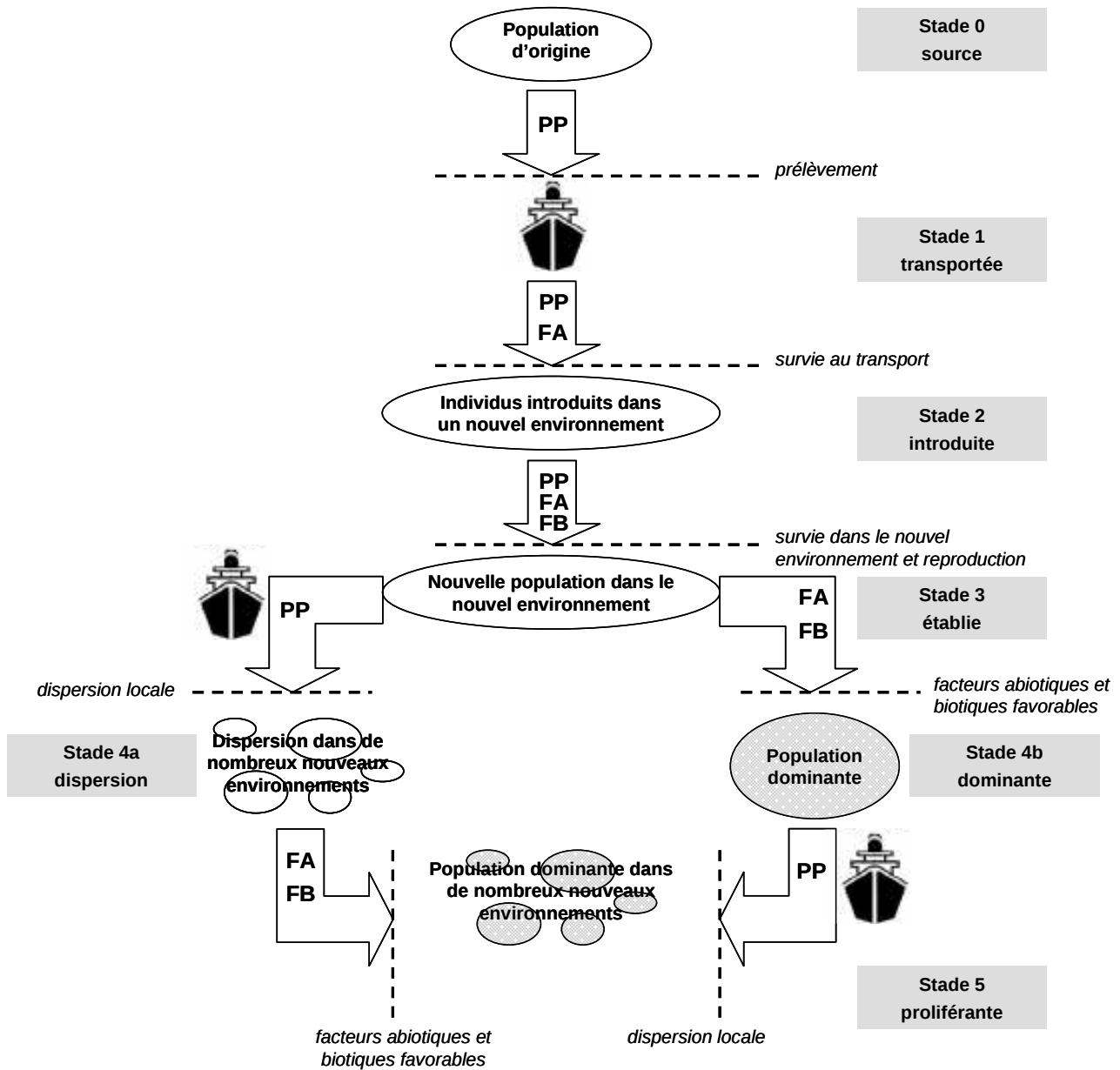


Figure i.1 : Les 5 stades du processus invasif (selon Colautti et al. 2006, modifié par Occhipinti-Ambrogi 2007). Les lignes pointillées représentent les filtres que l'espèce doit franchir pour passer d'un stade à l'autre. Trois facteurs déterminent le succès ou l'échec de ce franchissement : la pression de propagules (PP), et les facteurs abiotiques (FA) et biotiques (FB) du milieu.

Différents scénarios possibles ont été proposés par Facon et al. (2006) pour expliquer le succès de l'établissement d'une espèce invasive dans un nouvel environnement (figure i.2).

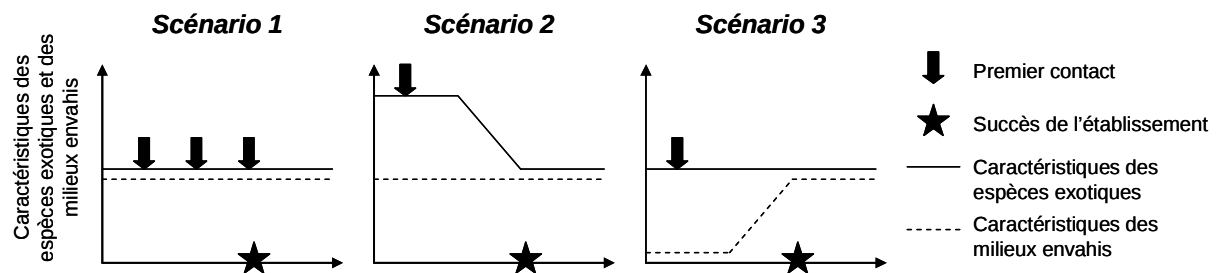


Figure i.2 : Scénarios des facteurs responsables du succès de l'établissement d'une espèce invasive (d'après Facon et al. 2006).

Dans le premier scénario, l'espèce invasive s'établit dans le nouvel environnement après plusieurs épisodes d'introduction sans qu'aucune modification de l'écosystème ou de l'espèce elle-même n'ait eu lieu. Pour de nombreux auteurs en effet, la pression de propagules est le facteur prépondérant qui détermine le succès d'une espèce invasive (Lockwood et al. 2005; Colautti et al. 2006; Occhipinti-Ambrogi 2007). Or, avec l'augmentation du nombre de vecteurs potentiels d'introduction et l'intensification et la rapidité des transports intercontinentaux, la quantité de propagules transférées de leur aire d'origine à de nouvelles zones est chaque année plus importante (Carlton 1996).

Dans le scénario 2, l'espèce invasive s'établit dans le nouvel environnement après une modification génétique adaptative (Lee 2002).

Dans le scénario 3, l'espèce invasive s'établit après une modification de l'environnement. Cette modification peut être due à une perturbation d'origine anthropique, et permettrait aux espèces introduites d'être plus compétitives que les espèces autochtones qui ne sont plus adaptées aux nouvelles conditions abiotiques de leur environnement (McKinney et Lockwood 1999). La modification peut être également due au réchauffement climatique, conduisant à une augmentation de température nécessaire à la survie et/ou la reproduction de l'espèce exotique dans le nouvel environnement (Stachowicz et al. 2002). Dans ce contexte d'ailleurs, les espèces invasives sont désormais considérées comme des composantes du changement global (Vitousek et al. 1996; Dukes et Mooney 1999; Occhipinti-Ambrogi et Savini 2003; Occhipinti-Ambrogi 2007). En effet, si les perturbations du milieu favorisent l'installation des espèces invasives, la prolifération de ces espèces peut avoir des impacts sur les composantes biotiques et abiotiques de l'écosystème, accélérant du fait ses modifications.

2. *Crassostrea gigas*, le cas particulier d'un envahisseur cultivé

Crassostrea gigas, appelée également 'huître creuse du Pacifique' ou 'huître japonaise', est un cas particulier parmi les espèces invasives marines, étant donnée son introduction volontaire à travers le monde, à des fins économiques. Après un bref rappel du cycle de vie de l'espèce, l'historique de ses multiples introductions et des conséquences induites sur les écosystèmes hôtes seront détaillés.

2.1. Cycle de vie de *Crassostrea gigas*

C. gigas est une espèce ovipare hermaphrodite protandre de type irrégulier alternatif, ce qui signifie que la fécondation est externe et qu'elle est généralement mâle lors de la première année de reproduction, puis qu'elle change de sexe entre chaque saison de reproduction, mais de façon irrégulière (Lango-Reynoso et al. 1999).

La gonade de l'huître n'est pas un organe permanent. Elle se développe autour de la glande digestive à chaque cycle de reproduction lors de la gamétogenèse active au printemps puis régresse après l'émission estivale des gamètes. La fécondité de *C. gigas* est très élevée. Une femelle peut en effet émettre jusqu'à 60 millions d'ovocytes lors de la ponte (Gérard 1998). La ponte a lieu une ou plusieurs fois par été lorsque la température de l'eau est supérieure à un seuil d'environ 18 – 20°C (Mann 1979). La fécondation est externe et les larves planctoniques vont dériver avec la masse d'eau pendant environ trois semaines (figure i.3). Les divisions cellulaires sont rapides pour aboutir, 24h après la fécondation, à une larve D d'environ 70 µm (figure i.3). Un velum se développe ensuite, on appelle la larve 'véligère' à ce stade. Un pied se développe enfin, d'où le nom de 'larve pédivéligère', signalant la fin de la vie pélagique de l'huître. La larve recherche alors un substrat dur favorable à sa fixation. La métamorphose s'achève par la résorption du velum et du pied et l'huître est appelée 'naissain' (figure i.3).

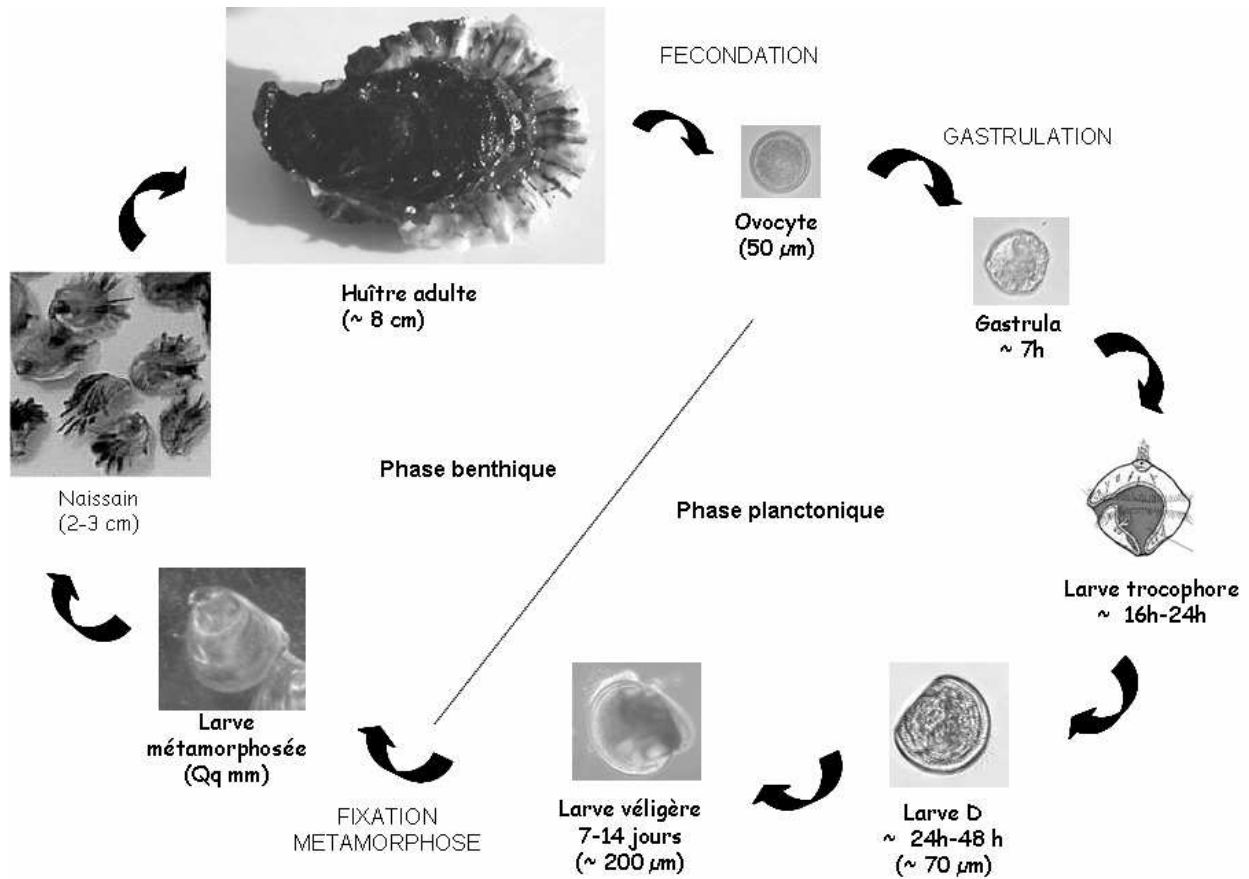


Figure i.3 : Cycle de vie de *C. gigas* (selon Fabioux 2004).

2.2. Une introduction massive volontaire à travers le monde

2.2.1. Bilan mondial

C. gigas représente aujourd'hui 97% de la production mondiale d'huîtres qui constituent le premier groupe d'espèces marines animales cultivées avec une production de 4,6 millions de tonnes en 2006 pour une valeur de 3,07 milliards de dollars (FAO 2008). Les pays d'origine de *C. gigas* en sont les premiers producteurs, à savoir la Chine, suivie de la Corée puis du Japon (FAO 2008).

C. gigas est originaire de l'Asie du sud-est et a été progressivement importée, depuis le début du XX^{ème} siècle, sur tous les continents pour y être cultivée (Ruesink et al. 2005). Elle a été introduite dans 48 pays et des populations sauvages sont actuellement établies dans 17 pays (tableau i.1). Dans 19 pays, la naturalisation ne s'est pas réalisée, et dans les 12 derniers le statut de l'espèce est encore inconnu. L'échec de l'établissement en milieu naturel

résulte de l'introduction de l'espèce dans des zones trop chaudes et oligotrophiques pour sa survie (ex : Fidji, Polynésie française, Nouvelle Calédonie) ou trop froides pour permettre la reproduction (ex : Alaska) (Ruesink et al. 2005).

2.2.2. Historique de l'introduction et de la colonisation en France

C. gigas a été introduite en France à partir de la fin des années 60 pour remplacer l'huître creuse portugaise *Crassostrea angulata*, alors majoritairement cultivée, qui avait été décimée par deux maladies d'origine virale (Comps et Duthoit 1976, Comps et al. 1976). Dans le cadre du programme 'Resur', 562 tonnes d'huîtres adultes ont été importées du Canada entre 1971 et 1975 ainsi que plus de 10 000 tonnes de naissains en provenance du Japon de 1971 à 1977 (Grizel et Heral 1991). Aujourd'hui, la production française se classe au 4^{ème} rang mondial avec plus de 116 000 tonnes produites en 2006 pour une valeur de plus de 325 000 dollars (FAO 2008). Cette production représentait 3 113 entreprises en 2001 qui exploitaient 11 648 hectares (Agreste 2005).

Les premiers cas de recrutement ont été observés à Marennes-Oléron et Arcachon en 1975 (Grizel et Heral 1991). Dans les années 80, quelques recrutements se produisirent au nord de la Loire mais la colonisation restait très sporadique. A partir du milieu des années 90 les épisodes de reproduction se sont multipliés dans les sites plus au nord en Bretagne et la colonisation s'étend désormais sur la façade Manche-Atlantique, du Golfe Normano-Breton à la frontière espagnole. Les huîtres sauvages colonisent préférentiellement tous les substrats rocheux intertidaux en milieu plutôt abrité (roche, blocs, cailloutis, figure i.4A) mais également les structures ostréicoles laissées à l'abandon ou les infrastructures marines humaines (cale, jetée, figure i.4B) avec des biomasses pouvant atteindre plus de 50 kg. m⁻² (Cognie et al. 2006). Des populations sauvages sont également observées sur le substrat meuble dans les zones de vasière ou sur les peuplements de moules par exemple en Mer du Nord (Mer de Wadden et Oosterschelde) qui servent de support à la fixation des huîtres (Reise 1998; Diederich 2005; Diederich 2006; Markert et al. 2009).

Tableau i.1 : Introduction de *C. gigas* à travers le monde. (a) correspond à une expansion de l'aire colonisée et (b) une transplantation dans l'aire d'origine (d'après Ruesink et al. 2005).

Introduite en	A partir de	Date	Etablie (oui / non, date indiquée si connue)	Cultivée?
Afrique du sud	USA (ouest), Chili, France, Royaume Unis	1950	2001	oui
Allemagne	Ecosse	1971	1991	oui
Argentine	Chili	1982	1987	oui
Australie (Nouvelle-Galles du Sud)	Australie (Victoria, Tasmanie)	1967 (a)	1985	oui
Australie (Victoria)	Australie (Tasmanie)	1955	oui	oui
Australie (ouest et Tasmanie)	Japon	1947 - 1970	oui	oui
Belgique		1990 (a)	oui	
Brésil	Chili	< 1989		oui
Canada (ouest)	Japon, USA (ouest)	1912 - 1977	1925	oui
Chili	USA (ouest)	1983		oui
Chine	Japon	1979 (b)		
Costa Rica	USA (ouest)	1979		
Croatie		1980 (a)		
Danemark	USA (ouest), Allemagne	1980	oui	peu probable
Espagne	France	1980	oui	oui
Fidji	Japon, USA (ouest), Australie, Philippines	1968 - 1977	peu probable	
France	Japon, Canada (ouest)	1966 - 1977	1976	oui
France (Polynésie)	USA (ouest)	1972 - 1976	peu probable	peu probable
Guam	Taiwan	1975	non	peu probable
Irlande	France, Royaume Unis	< 1993	oui	oui
Israël	Royaume Unis	1976	peu probable	oui
Italie	France	1972	oui	
Japon	USA (ouest)	1980 (b)		
Corée	USA (ouest)	1981 (b)		
Madère	Royaume Unis	1991	non	
Malaisie	USA (ouest)	1980		
Maroc	France	< 1966		
Ile Maurice	USA (ouest)	1971	peu probable	probable
Mexique (ouest)	USA (ouest)	1973	oui	oui
Namibie	Chili	1990	non	oui
Nouvelle Calédonie	Japon, USA (ouest), Australie, Tahiti	1967 - 1977	peu probable	oui
Nouvelles Hébrides	USA (ouest)	1972 - 1973	non	
Nouvelle Zélande	Japon ou Australie (Victoria, Tasmanie)	1958 (a)	oui	oui
Norvège	USA (ouest)	1985		oui
Palau	USA (ouest)	1972 - 1973		
Pays-Bas	Canada (ouest), Belgique, France, USA (ouest)	1964 - 1981	1976	oui
Pérou		< 1997		
Philippines	Japon			probable
Portugal	France, USA (ouest)	1977	oui	
Porto Rico	USA (ouest)	1980	non	
Royaume Unis	Canada (ouest), USA (ouest), Hong Kong, Israël	1926, 1965 - 1979	oui	oui
Russie (Mer Noire)		1976	peu probable	
Samoa	USA (ouest)	1980		
Sénégal		< 2001		
Seychelles	Japon	1974	peu probable	
Singapour		2003	peu probable	oui
Suède		1980	non	peu probable
Tahiti	USA (ouest)	1972 - 1976	non	
Tonga	Japon, Australie (Tasmanie)	1975	peu probable	
Tunisie	France	< 1984		oui
Ukraine		1976	peu probable	
USA (Iles Vierges)	USA (ouest)	1980		
USA (Alaska)	USA (ouest)	1980	peu probable	oui
USA (est)	USA (ouest)	1930 - 1990	peu probable	non
USA (Golfe du Mexique)		1930	non	non
Hawaï	Japon, USA (ouest)	1926, 1980		oui
USA (ouest)	Japon, Corée	1902	probable	oui
Vanuatu	USA (ouest)	1972	peu probable	



Figure i.4 : Colonisation de *C. gigas* sur la roche (A) et sur une cale (B) en Rade de Brest.

2.2.3. Conséquences écologiques de *Crassostrea gigas* sur son écosystème hôte

La colonisation de *C. gigas* a pris une telle ampleur depuis une dizaine d'années que les scientifiques se sont posés la question des conséquences écologiques induites par cette espèce invasive sur son écosystème hôte.

Compétition avec les huîtres natives

Par son caractère ubiquiste, *C. gigas* s'est révélée plus compétitive que de nombreuses espèces d'huîtres natives. Ainsi, en Nouvelle Zélande, *C. gigas* a très rapidement pris le pas sur l'espèce native *Saccostrea commercialis*. En 1972, le rapport des deux espèces sur les collecteurs de naissains était largement en faveur de l'huître native (1000 :1), en 1977 le rapport était peu différent de 1, et à partir de 1978 *C. gigas* dominait avec un rapport de 4 :1 (Dinamani 1991). Le même phénomène a été observé en Australie où trente ans après son introduction, le recrutement de *C. gigas* dominait sur celui de *Saccostrea commercialis* (Chew 1990). Dans la Baie de Willapa (Washington State, USA), *C. gigas* est probablement responsable du déclin de l'espèce native *Ostrea conchapila* par la modification de son habitat (Ruesink et al. 2005).

Impact sur les communautés natives

L'impact de la prolifération de *C. gigas* a été principalement étudié sur les communautés de substrat meuble, et plus particulièrement sur les moulières de *Mytilus edulis* en Mer du Nord. *C. gigas* se reproduit en effet depuis les années 70 dans l'Oosterschelde (Smaal et al. 2009) et depuis les années 90 en Mer de Wadden (Reise 1998; Diederich et al. 2005), et du fait de la très faible disponibilité en substrats durs, elle colonise les moulières. D'après Diederich (2005) les deux espèces devraient coexister du fait que la colonisation des moulières par les fucales limite la fixation de *C. gigas* et que le plus grand nombre de balanes présents sur les coquilles de *C. gigas*, en comparaison avec celles des moules, favorise la fixation de *M. edulis*. Il semble cependant que dans certaines zones, les moulières soient progressivement remplacées par des récifs d'huîtres (Kochmann et al. 2008). Les deux espèces sont considérées comme des espèces ingénieurs 'ecosystem engineers' de part leur capacité à créer des structures rigides en trois dimensions. Actuellement, certains auteurs considèrent que *C. gigas* remplace la fonction écologique de *Mytilus edulis* (Markert et al. 2009) alors que d'autres considèrent que les deux ingénieurs ont des fonctions différentes et que la prolifération de l'huître modifierait les communautés intertidales natives (Kochmann et al. 2008). Des études à plus long terme seront nécessaires pour régler ce débat portant sur des travaux très récents.

Des études ont également été menées sur d'autres habitats remarquables colonisés par *C. gigas*. Ainsi, deux études réalisées aux Etats-Unis et au Canada montrent que la proximité de zones colonisées par *C. gigas* contribuerait à la réduction des herbiers de *Zostera marina* (Everett et al. 1995; Kelly et al. 2008). Par ailleurs, si la richesse spécifique est souvent supérieure dans la zone colonisée par *C. gigas*, la composition des communautés de ces deux habitats s'est révélée très différente (Hosack et al. 2006; Kelly et al. 2008). Le recrutement de *C. gigas* sur les récifs d'hermelles, *Sabellaria alveolata*, a été observé en Baie du Mont Saint Michel et Baie de Bourgneuf (Cognie et al. 2006; Dubois et al. 2006). Les hermelles sont des polychètes bâtisseurs de récifs abritant une grande biodiversité. Les résultats obtenus par Dubois et al. (2006) montrent que la présence de *C. gigas* sur les récifs augmente la diversité de la macrofaune total du récif. Ce résultat pourrait s'expliquer par une plus forte hétérogénéité du récif lorsque *C. gigas* est présente, et par le fait que les valves de l'huître servent de substrat aux épibiontes tels que les balanes, les ascidies ou des polychètes qui ne colonisent pas les récifs d'hermelles (Dubois et al. 2006).

L'impact de *C. gigas* sur les communautés des zones rocheuses a été très peu étudié. Nous n'avons pu recenser qu'une seule étude, réalisée en Argentine (Escapa et al. 2004). Dans cette étude, les auteurs ont montré que l'abondance de la macrofaune était supérieure dans les récifs d'huîtres en comparaison avec la roche non colonisée. L'abondance des oiseaux y était également supérieure mais le temps de recherche de proie semblait rallongé par la présence de *C. gigas*.

Impact de l'activité trophique de C. gigas

Par un phénomène de compétition trophique, l'augmentation des stocks d'huîtres sauvages dans les bassins ostréicoles du sud de la Loire contribuerait à la diminution des performances de croissance des huîtres cultivées observée depuis 1996 (REMORA). Des études utilisant des analyses isotopiques ont révélé que *C. gigas* n'était pas nécessairement un compétiteur trophique d'autres suspensivores tels que les moules (*M. edulis*), les balanes, les ascidies, la crépidule (*Crepidula fornicata*) ou la coque (*Cerastoderma edule*) dans des conditions trophiques non-limitantes (Riera et al. 2002; Dubois et al. 2007). D'autre part, la production abondante de fécès et pseudo-fécès résultante de l'activité trophique (Haven et Morales-Alamo 1966), en enrichissant les sédiments en matière organique perturbe les communautés benthiques intertidales de sédiment meuble (Forrest et Creese 2006; Bouchet et Sauriau 2008). Cependant cette perturbation, dépendante de l'hydrodynamisme n'est pas toujours observée (De Grave et al. 1998). Les communautés de substrat rocheux semblent moins impactées 'négativement' par cet enrichissement qui serait même un facteur d'augmentation de la biodiversité (Cognie et al. 2006).

Dans le but d'étudier l'invasion des côtes françaises par *C. gigas* et de proposer des outils d'aide à la décision pour les gestionnaires et utilisateurs de ces espaces côtiers, un programme de recherche nommé PROGIG (PROlifération de *Crassostrea GIGas*,) a été initié au LEMAR (IUEM, UBO) par C Hily en 2005 dans le cadre du programme national LITEAU II. Ce programme, d'une durée de trois ans, avait pour objectifs de comprendre les causes de l'invasion de *C. gigas* en France, et d'en étudier la dynamique et les conséquences écologiques et socio-économiques. C'est dans le cadre de ce programme que ce travail de thèse, dont les objectifs sont présentés ci-dessous, a été réalisé.

3. Objectifs de l'étude

L'étude a été réalisée à l'échelle de la région Bretagne pour deux raisons principales. La première étant que les différents stades du processus invasif de *C. gigas* sont représentés dans cette région, avec des zones très colonisées et des zones encore peu ou pas colonisées, ce qui permet d'en étudier les facteurs déterminants et les conséquences sur l'écosystème. La seconde raison est que la majorité des côtes bretonnes est composée d'estrans rocheux, ce qui n'est pas le cas des grands bassins ostréicoles situés plus au sud (Baie de Bourgneuf, Marennes-Oléron et Arcachon), or l'impact de *C. gigas* sur les communautés de substrat rocheux n'a été que très peu étudié.

Ce travail de thèse vise à répondre à trois questions majeures :

PARTIE I : Quel est l'état actuel de la colonisation de *Crassostrea gigas* en Bretagne ?

Le but de ce travail était d'estimer, le plus précisément possible, l'état de la colonisation de *C. gigas* en Bretagne. Pour cela deux échelles ont été définies, l'échelle régionale et une échelle locale (Rade de Brest et Golfe du Morbihan) permettant une estimation précise des stocks d'huîtres sauvages en présence.

PARTIE II : Quels sont les facteurs déterminant la dynamique du processus invasif de *Crassostrea gigas* en Bretagne ?

Le but de ce travail articulé en deux chapitres était de définir les facteurs responsables du succès de la reproduction et du recrutement de *C. gigas* en Bretagne.

Chapitre 1 : Le changement climatique, responsable de l'invasion de *Crassostrea gigas* en Bretagne ?

Dans ce chapitre, le suivi de la gamétogénèse d'huîtres, situées dans deux sites du Finistère nord, où les huîtres sont cultivées mais dont un seul présente des individus sauvages, a permis de tester l'influence du facteur température sur la reproduction.

Chapitre 2 : Quelle est l'influence des paramètres biotiques et abiotiques sur le recrutement de *Crassostrea gigas* ?

Dans ce chapitre, l'influence de la prédation, de la bathymétrie et de la nature du substrat sur le recrutement de *C. gigas* a été testée en Rade de Brest.

PARTIE III : Quels sont les impacts écologiques de *Crassostrea gigas* sur son écosystème hôte ?

Chapitre 1 : Quels sont les impacts de *Crassostrea gigas* sur les communautés intertidales ?

Le but de ce travail articulé en trois sous-chapitres était de quantifier les impacts de *C. gigas* sur les communautés intertidales en fonction du stade de la colonisation. Dans un premier temps, l'impact du recouvrement progressif du substrat rocheux par *C. gigas* sur la biodiversité a été testé. Dans un deuxième temps, c'est la question de la responsabilité de cette colonisation sur la régression des fucales, observée en Bretagne depuis une vingtaine d'années, qui a été étudiée. Enfin, l'impact du dernier stade de colonisation, correspondant au récif, a été testé sur les communautés intertidales de substrats rocheux et meuble.

Chapitre 2 : Quelle est la contribution de *Crassostrea gigas* aux flux de CO₂ d'un écosystème côtier ?

Le but de la première partie de ce chapitre a été de quantifier la production spécifique de carbone et de carbonate de calcium due aux activités de respiration et de calcification de *C. gigas* en Rade de Brest.

La seconde partie de ce chapitre a été de quantifier l'impact de *C. gigas* sur les processus de respiration, de photosynthèse et de calcification de la communauté benthique intertidale rocheuse, lorsque les huîtres colonisent l'estran.

PARTIE I :

Quel est l'état actuel de la colonisation de
Crassostrea gigas en Bretagne ?

Introduction

La première étape de ce travail de thèse a été d'estimer, le plus précisément possible, l'état de la colonisation de *C. gigas* en Bretagne. Dans ce but, un Système d'Information Géographique (SIG), reconnu comme étant un outil performant pour cartographier et évaluer la dynamique de la colonisation des espèces invasives (Haltuch et al. 2000; Cognie et al. 2006), a été créé dans le cadre du programme PROGIG (Le Berre et al. soumis, Annexe 1). Un SIG est un outil informatique permettant d'organiser et présenter des données alphanumériques spatialement référencées ainsi que de produire des plans et cartes. Les données, de type point, ligne ou polygone principalement, sont ajoutées sous forme de couches dans le SIG. Le suivi par photo-interprétation, le plus régulièrement utilisé (Cognie et al. 2006) ne paraissait pas adapté pour *C. gigas*, la résolution spatiale des orthophotographies et des images satellitaires ne permettant pas de distinguer systématiquement les peuplements d'huîtres. Par ailleurs, la présence d'une couverture algale, ou d'un substrat clair offrant peu de contraste avec les coquilles d'huître le colonisant, suffisent à rendre inefficace ce type d'approche malgré une densité d'huîtres importante.

Une approche par échantillonnage ponctuel a donc été mise en place pour identifier les zones impactées. Cet échantillonnage a été réalisé à deux échelles différentes : tout d'abord à l'échelle régionale de l'ensemble des côtes bretonnes, puis à une échelle plus fine dans la Rade de Brest et le Golfe du Morbihan. L'analyse spatiale de la prolifération de *C. gigas* à l'échelle de la Bretagne par l'outil SIG, a été soumise dans la revue Cybergeog et est présentée dans l'annexe 1.

1. Echelle régionale

1.1. Matériel et méthodes

L'inventaire de la colonisation des côtes bretonnes par *C. gigas* a été réalisé sur 169 sites du 14 au 19 mai 2007 de Cancale au Conquet, et du 13 au 17 juin 2007 de Camaret à Bourgneuf, lorsque les coefficients de marée, supérieurs à 80, permettaient d'accéder à toute la bande d'estran couverte par les huîtres. Les sites inventoriés avaient été choisis au préalable dans des secteurs littoraux topographiquement et morpho-sédimentairement homogènes. Les critères adoptés ont été l'accessibilité, la taille de l'estran, le type de substrat dominant (la roche principalement) et une distance régulière entre les points. Cette sélection a été réalisée à partir des orthophotographies littorales 2000 et du Scan25 IGN©.

La réalisation de transects perpendiculaires aux lignes bathymétriques (du trait de côte jusqu'au niveau de basse mer) sur l'estran de plusieurs des sites inventoriés en Rade de Brest a permis de caractériser la zone colonisée par les huîtres (figure I.1). Sur un estran rocheux, *C. gigas* se répartit de la zone à *Pelvetia canaliculata* jusqu'à la moitié environ de la zone à *Fucus serratus*. La densité des huîtres est maximale sur environ la moitié de la zone médiane de la bande, et de part et d'autre, la densité est estimée à la moitié de la densité maximale.

Sur chacun des 169 sites, la mesure de la densité des huîtres a été effectuée dans trois quadrats de 0,5 m² disposés dans la zone de colonisation maximale. Les valeurs de densité mesurées sur les sites ont été classées selon un indice de densité (tableau I.1), conçu pour caractériser l'intensité de la colonisation et permettre par la suite d'estimer visuellement et simplement la densité des huîtres présentes sur l'estran, facilitant ainsi la définition de grandes bandes intertidales de densité identique.

Au début de l'année 2009, les sites situés entre le Conquet et Ploumanach ont été revisités et l'indice de densité qui leur avait été assigné en 2007 a été corrigé si nécessaire.

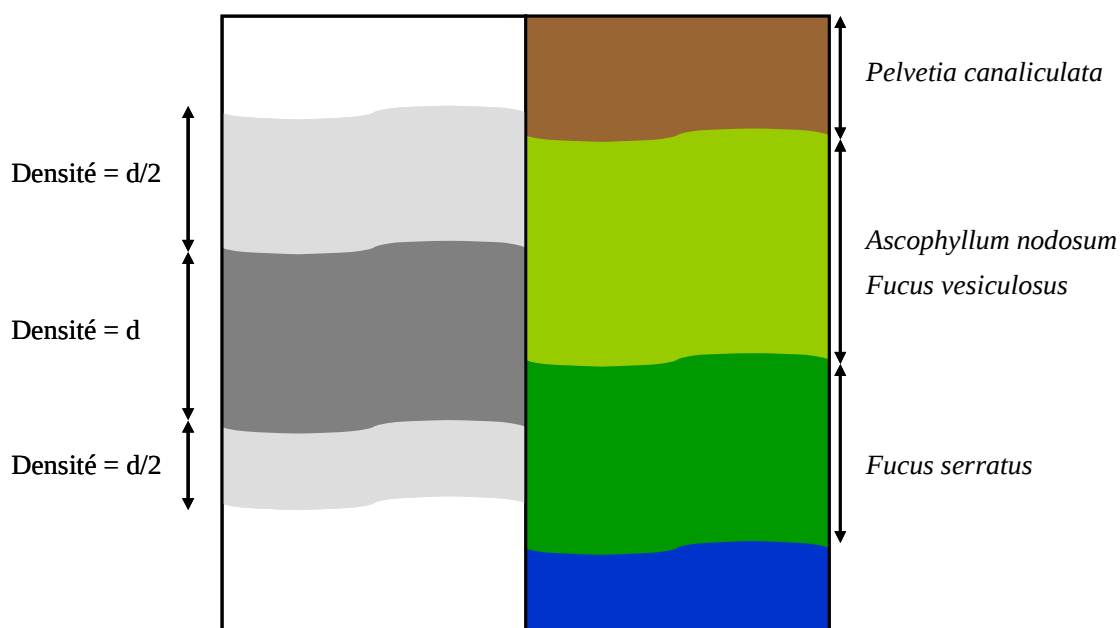


Figure I.1 : Répartition de *C. gigas* sur un estran rocheux.

Tableau I.1 : Indice de densité de *C. gigas* sur les estrans. Correspondance avec la densité mesurée et estimée.

Indice de densité	Nombre d'individus par m ²	Estimation visuelle de l'indice de densité sur une bande d'un mètre de large
0	0	
1	< 0,01	< 10 individus (ind.) sur 100 mètres de long
2	0,01 à 1	≈ 10 ind. sur 100 mètres de long
3	1 à 10	≈ 10 ind. sur 10 mètres de long
4	10 à 100	> 10 ind. sur 1 mètre
5	100 à 1000	> 10 ind. sur 0,1 mètre

1.2. Résultats

Les côtes les plus colonisées par *C. gigas* sont celles de la Baie de Saint Brieuc, de la Rade de Brest, et de Lorient à la Baie de Bourgneuf avec des densités pouvant atteindre plusieurs centaines d'huîtres par mètre carré (indices de densité 4 à 5, de 10 à 1 000 individus. m⁻²) (figure I.2).

D'autres portions de côtes telles que de Erquy à Cancale, de Perros-Guirec à l'Arcouest et de Pont-l'Abbé à Lorient sont également touchées par la prolifération de *C. gigas* mais dans une moindre mesure (indices de densité 2 à 3, de 0,01 à 10 individus. m^{-2}).

De Primel-Trégastel à Perros-Guirec et du Conquet à l'Aber Ildut, la présence de *C. gigas* a été relevée dans des densités très faibles (indice de densité 1, $< 0,01$ individu. m^{-2}).

La présence d'huîtres sauvages nous a également été signalée récemment dans la rivière du Goyen et sur les îles d'Houat et Hoedic mais l'estimation de la densité n'y a pas encore été effectuée.

Deux zones en Bretagne sont indemnes de la colonisation de *C. gigas*. Elles s'étendent de Douarnenez à Penmarch et de l'Aber Ildut à Roscoff.

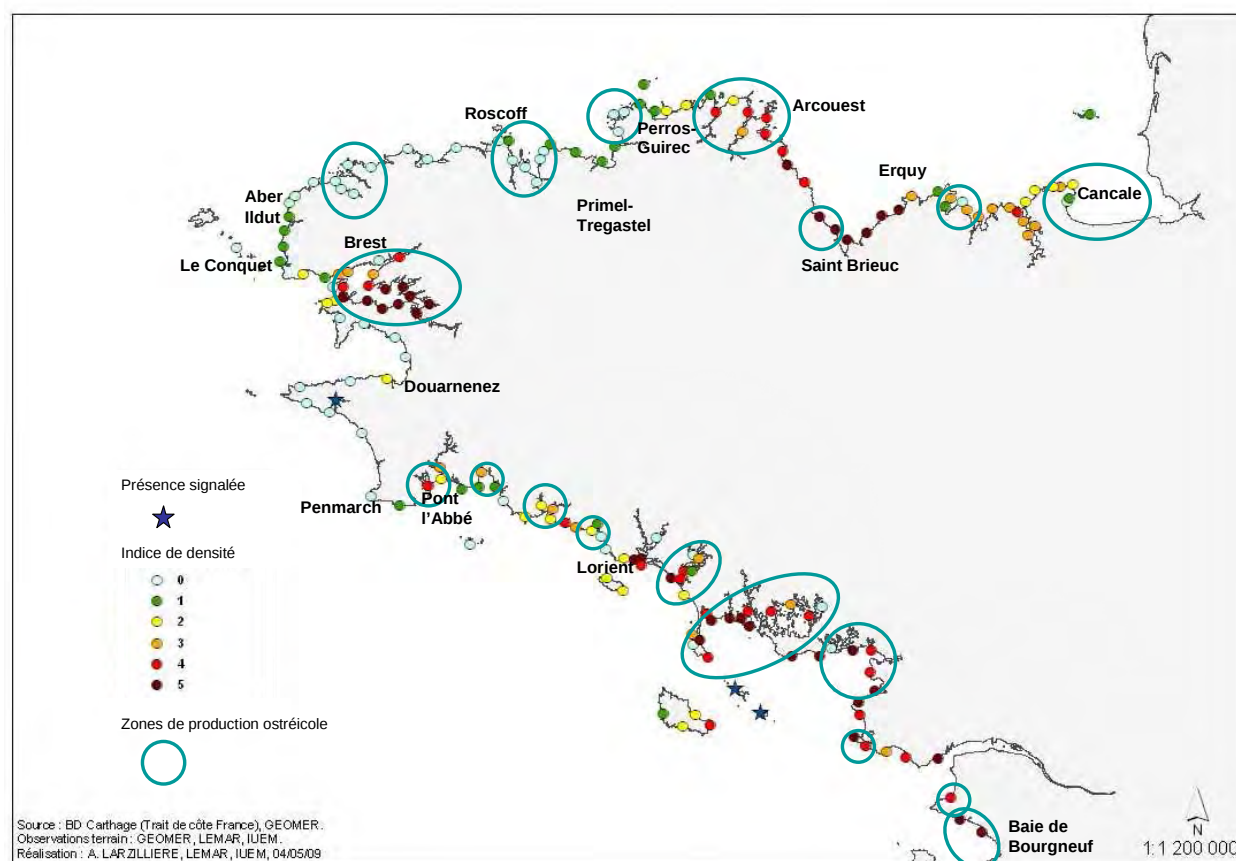


Figure I.2 : Bilan de la colonisation des côtes bretonnes par *C. gigas*. L'indice de densité 1 correspond à une densité $< 0,01$ ind. m^{-2} , 2 entre 0,01 et 1 ind. m^{-2} , 3 entre 1 et 10 ind. m^{-2} , 4 entre 10 et 100 ind. m^{-2} et 5 entre 100 et 1 000 ind. m^{-2} .

1.3. Discussion

Plusieurs paramètres expliqueraient la distribution de *C. gigas* sur les côtes bretonnes.

La présence de zones de production ostréicole est le premier paramètre déterminant la présence des huîtres sur les côtes bretonnes. A l'exception du nord du Finistère, tous les secteurs où l'on observe des fortes densités d'huîtres se situent à proximité de zones ostréicoles. La production ostréicole constituant la source de diffusion des larves d'huîtres au début du phénomène de prolifération, des densités élevées d'huîtres sauvages à proximité des zones de production étaient prévisibles. L'absence d'exploitation ostréicole dans les baies d'Audierne et de Douarnenez expliquerait l'absence de *C. gigas* sur leurs estrans.

Les courants marins, induits par la marée et le vent, ont également une influence sur la distribution de *C. gigas* en déterminant la direction et la distance de dispersion des larves (Ellien et al. 2000). Leur effet est particulièrement visible dans la présence de *C. gigas* du Conquet à l'Aber Ildut et son absence en Baie de Douarnenez. En effet, lorsque la masse d'eau de la Rade de Brest, seule zone de production ostréicole à proximité, est évacuée à marée descendante avec les larves de *C. gigas* qu'elle peut contenir en été, les courants marins la transportent vers le nord en longeant la côte (Guillam et Le Nestour 1990; Pineau 1998). La probabilité que des larves issues de la Rade de Brest atteignent les estrans de la Baie de Douarnenez est donc très faible.

Le dernier facteur principal de la répartition des huîtres sauvages est la température de l'eau. L'absence d'huîtres sur les côtes du nord du Finistère ne pouvant s'expliquer par les deux premiers paramètres, puisqu'il y a des exploitations ostréicoles dans cette zone et que les courants se déplacent le long de la côte, une autre hypothèse a été fournie par l'étude des températures de surface. En été, on peut en effet observer une 'bulle' d'eau froide permanente, associée à la présence du front thermique d'Ouessant, localisée au niveau des côtes nord-Finistère (figure I.3). Le 15 août 2008 par exemple, les températures ne dépassaient pas 15°C dans cette zone et pourraient donc limiter la reproduction des huîtres qui y sont cultivées. Cette hypothèse sera testée dans la deuxième partie de ce manuscrit.

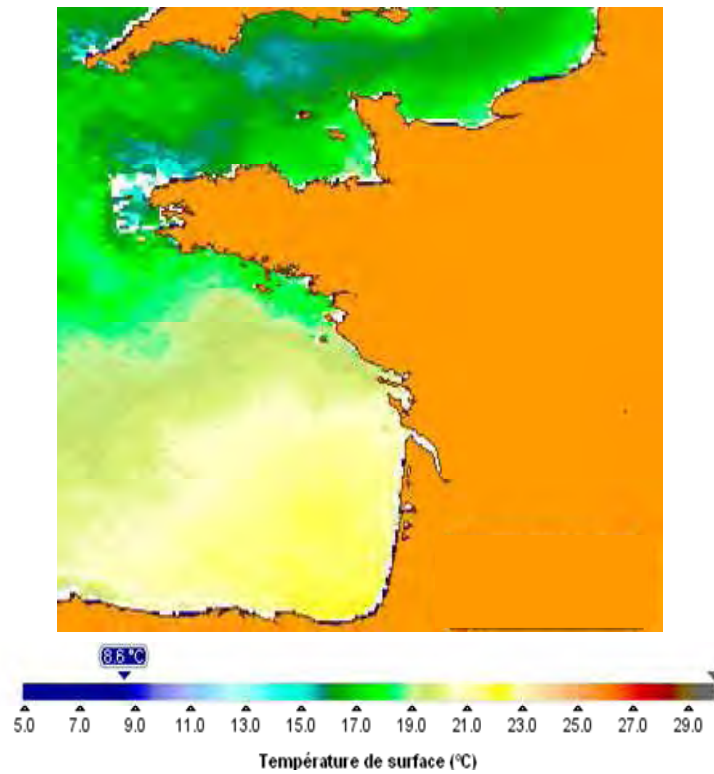


Figure I.3 : Température des eaux de surface sur la façade Manche-Atlantique française le 15 août 2008. (Ifremer-Nausicaa)

A un niveau plus local, l'hydrodynamisme et le manque de supports primaires (i.e. roche, coquilles...) peuvent également expliquer l'absence de *C. gigas* dans des sites proches de zones colonisées. Ainsi, les conditions très exposées des pointes du Cap Fréhel et de Penmarch (Ruesink 2007), et le substrat très envasé du fond des estuaires de la rivière d'Etel, du Blavet et de la rivière d'Auray pourraient empêcher l'installation des huîtres.

2. Echelle locale : Rade de Brest et Golfe du Morbihan

2.1. Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée sur 82 sites en Rade de Brest entre le 12 janvier et le 20 mai 2005, et sur 47 sites dans le Golfe du Morbihan entre le 11 janvier et le 19 février 2006. En Rade de Brest, tous les substrats ont été échantillonnés alors que dans le Golfe du Morbihan, seuls les substrats rocheux ont été échantillonnés (roche et champs de blocs). Pour chaque site, un point GPS de sa position est enregistré.

2.1.1. Echantillonnage sur le terrain

Sur 38 des sites de la Rade de Brest et 31 du Golfe du Morbihan, la densité des huîtres est mesurée par comptage du nombre d'huîtres sur une surface déterminée en fonction de la densité apparente :

Pour les sites très peu colonisés par les huîtres, les huîtres sont comptées sur une surface relevée par GPS. Dans ce cas on ne fait pas de répliquat car la densité exacte peut être mesurée pour le site en entier.

Pour les sites un peu plus colonisés, des quadrats de $0,5\text{m}^2$ ou de $0,1\text{m}^2$ sont utilisés. Dans ce cas, 10 répliquats tirés de manière aléatoire sont réalisés au sein de la bande dense d'huîtres.

Sur 44 des sites de la Rade de Brest et 16 du Golfe du Morbihan, la densité d'huîtres est estimée visuellement grâce à l'indice de densité (tableau I.1). On l'utilise essentiellement sur les zones situées de part et d'autre des sites où un comptage précis a été réalisé. Cet indice permet ainsi de définir l'existence ou non de grandes bandes intertidales de densité identique pour l'estimation ultérieure des stocks.

Sur tous les sites du Golfe du Morbihan et 17 de la Rade de Brest, les comptages distincts des huîtres adultes et juvéniles vivantes (moins de 4cm) (Reise 1998), et des huîtres mortes ont été réalisés.

Sur 30 sites de la Rade de Brest et 35 du Golfe du Morbihan, la largeur de la zone d'estran colonisée par les huîtres (figure I.1) est mesurée.

Sur 10 sites de la Rade de Brest, les huîtres présentes dans les quadrats ont été collectées. Au laboratoire, les épibiontes ont été retirés et les coquilles ont été mesurées pour séparer les adultes des juvéniles. Le poids frais de chaque huître a été mesuré, la chair et la coquille ont ensuite été séparées et placées à l'étuve à 60°C pendant 48 h, puis au four à 450°C pendant 4h afin d'obtenir le poids sec libre de cendres (Ash Free Dry Weight, AFDW) et la calcimasse.

L'ensemble des sites échantillonnés en Rade de Brest et dans le Golfe du Morbihan est présenté en annexe 2 et 3, respectivement.

2.1.2. Estimation des stocks

Pour estimer les stocks d'huîtres sauvages, il est nécessaire de calculer dans un premier temps la surface occupée par les huîtres, puis de multiplier cette dernière par la densité.

Les densités mesurées sur les sites ainsi que la couche des différents substrats intertidaux (Rade de Brest, (Le Berre 1999), Golfe du Morbihan (Chauvaud 2002)) ont été intégrées dans le SIG (Système d'information Géographique) réalisé avec le logiciel ArcView 8[®] (figure I.4). Cela nous a permis d'estimer la surface d'estran potentiellement colonisée par *C. gigas* et de déterminer que la largeur de la bande d'huître mesurée sur le terrain s'étend sur la moitié de la largeur de la bande rocheuse estimée par le SIG. Dans l'équation pour le calcul des stocks il faut donc diviser par 2 les surfaces estimées par le SIG pour obtenir la surface occupée par les huîtres.

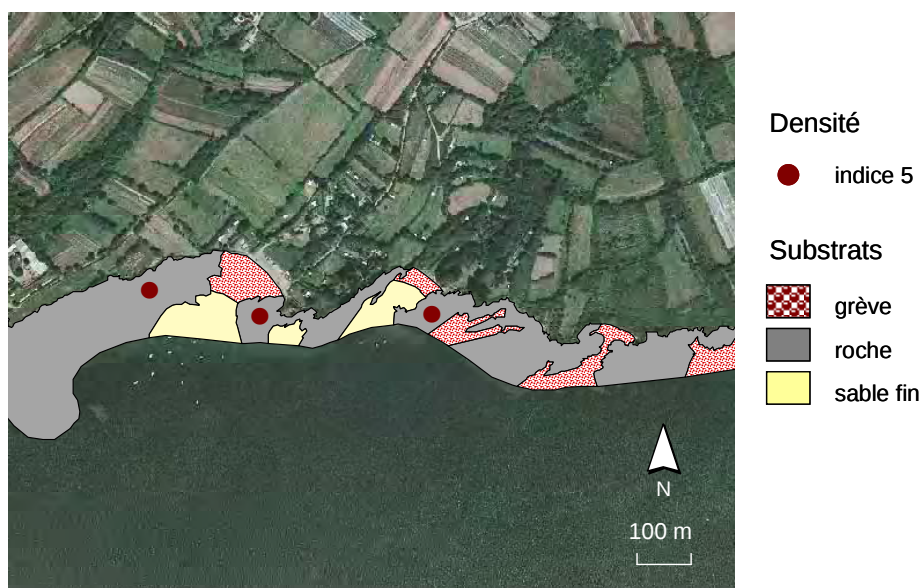


Figure I.4 : Utilisation du SIG dans le calcul du stock d'huîtres présent sur les estrans.

L'estimation du stock a été réalisée pour chaque zone de densité et de substrat homogènes, qui se situaient autour des sites où la densité avait été mesurée précisément, selon l'équation suivante :

$$S_z = [(S/2 \times d) + (S/2 \times d/2)] \times [(\%_{\text{juv}} \times P_{\text{juv}}) + ((1-\%_{\text{juv}}) \times P_{\text{ad}})]$$

où S_z est le stock d'huîtres présent sur la zone étudiée (AFDW, chair + coquille), S , la surface totale du substrat colonisé, d , la densité d'huîtres sur la zone (en nombre d'individus. m^{-2}) qui est divisée par deux pour la moitié de la surface (figure I.1), $\%_{\text{juv}}$, la proportion de juvéniles sur la zone (sans unité), P_{juv} , le poids sec (AFDW) moyen en Rade de Brest d'une huître juvénile estimé à 1,55g et P_{ad} , le poids sec (AFDW) moyen en Rade de Brest d'une huître adulte estimé à 41g.

2.2. Résultats

2.2.1. Rade de Brest

La densité de *C. gigas* est supérieure sur les estrans du sud de la rade (figure I.5). Au sein du bassin sud de la Rade de Brest, c'est à l'est (ou au 'fond' de la rade) que les densités sont les plus fortes. Seules deux zones ne sont pas colonisées par *C. gigas* : la partie sud du goulet à la sortie de la rade et la zone qui s'étend du port de commerce à la plage du Moulin

Blanc. La densité moyenne des huîtres a été estimée à $86 (\pm 97)$ ind. m^{-2} avec un maximum de 780 ind. m^{-2} atteint sur un site du sud-est de la rade (Moulin-Mer). Le stock total de *C. gigas* colonisant les estrans de la Rade de Brest a été estimé à $6\,514 (\pm 3\,520)$ tonnes AFDW, correspondant à un poids frais d'environ $10\,000$ tonnes, réparties sur $2,7$ km^2 .

La proportion de juvéniles dans la population est supérieure dans les sites du nord de la rade (figure I.6). La proportion moyenne d'huîtres juvéniles dans la population de *C. gigas* de la Rade de Brest a été estimée à $53 (\pm 20)$ %.

Les proportions d'huîtres mortes les plus fortes ont été observées dans les sites du nord-ouest de la Rade de Brest (figure I.7). La proportion moyenne d'huîtres mortes dans la population de *C. gigas* de la Rade de Brest a été estimée à $16 (\pm 10)$ %.

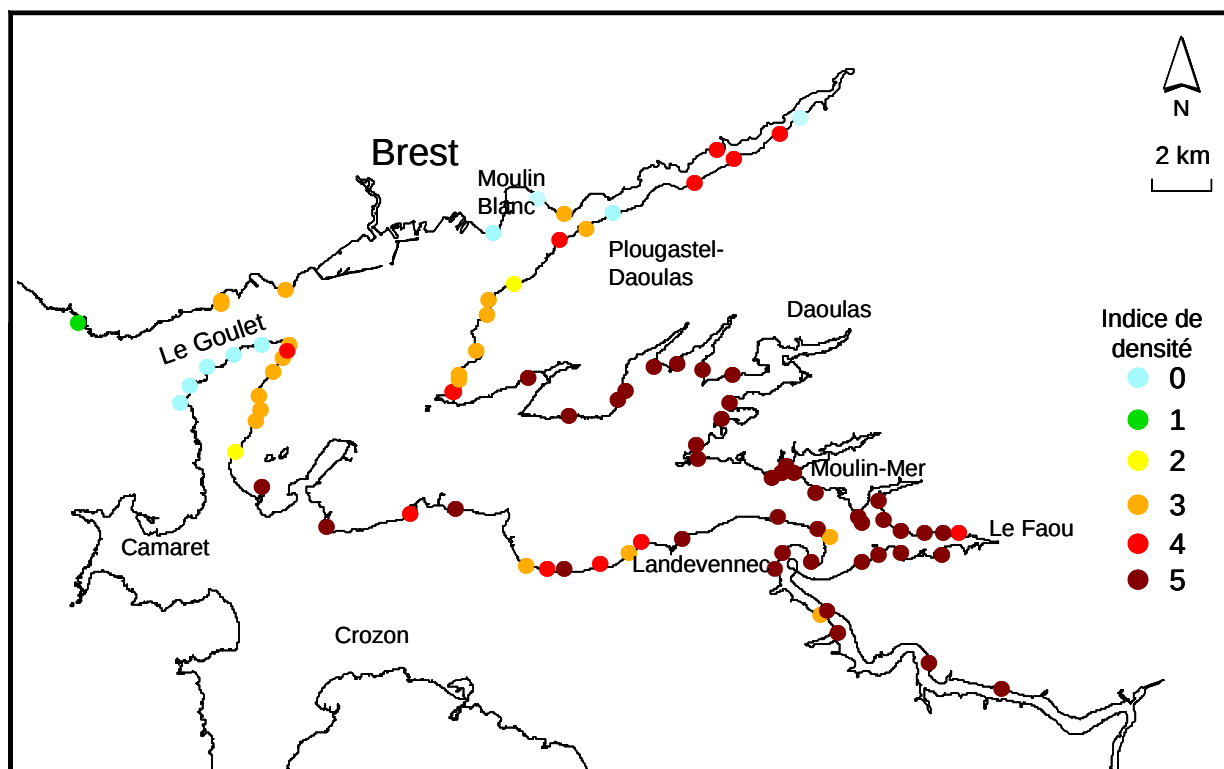


Figure I.5 : Bilan de la colonisation de la Rade de Brest par *C. gigas*. L'indice de densité 1 correspond à une densité $<0,01$ ind. m^{-2} , 2 entre $0,01$ et 1 ind. m^{-2} , 3 entre 1 et 10 ind. m^{-2} , 4 entre 10 et 100 ind. m^{-2} et 5 entre 100 et 1000 ind. m^{-2} .

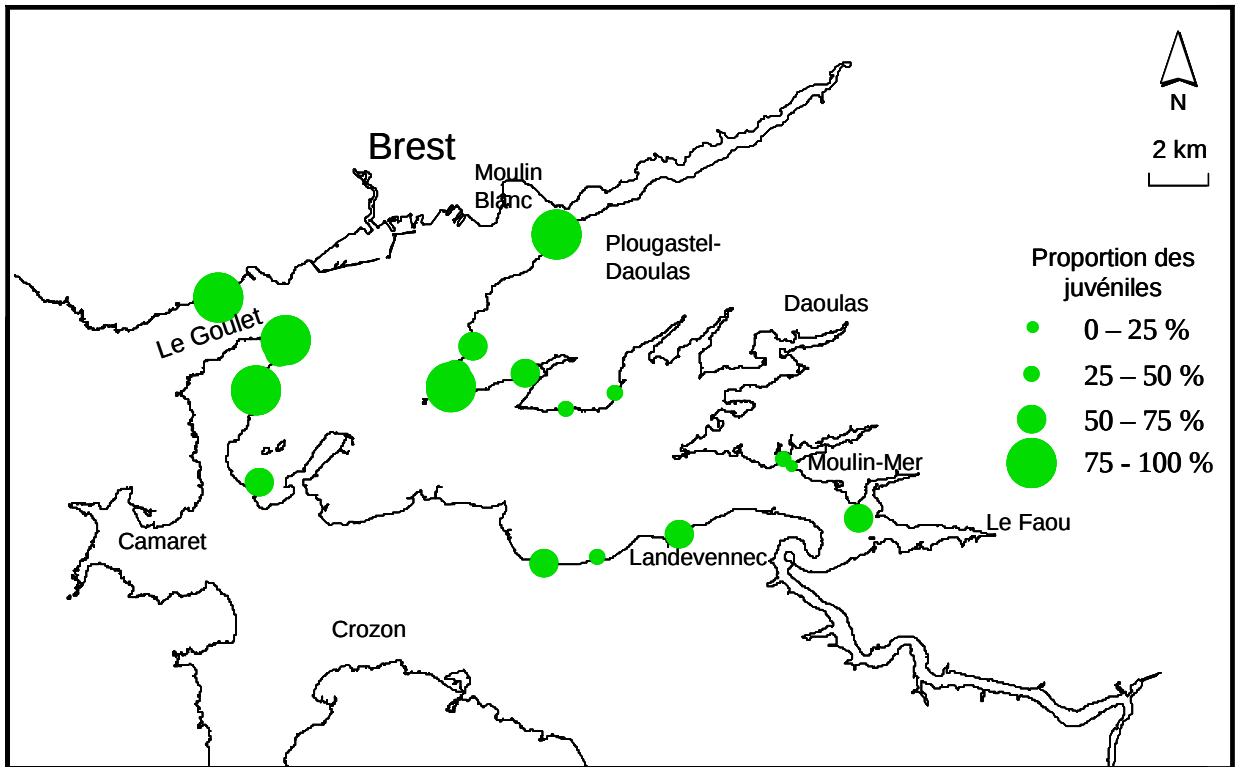


Figure I.6 : Répartition géographique de la proportion des juvéniles de *C. gigas* en Rade de Brest.

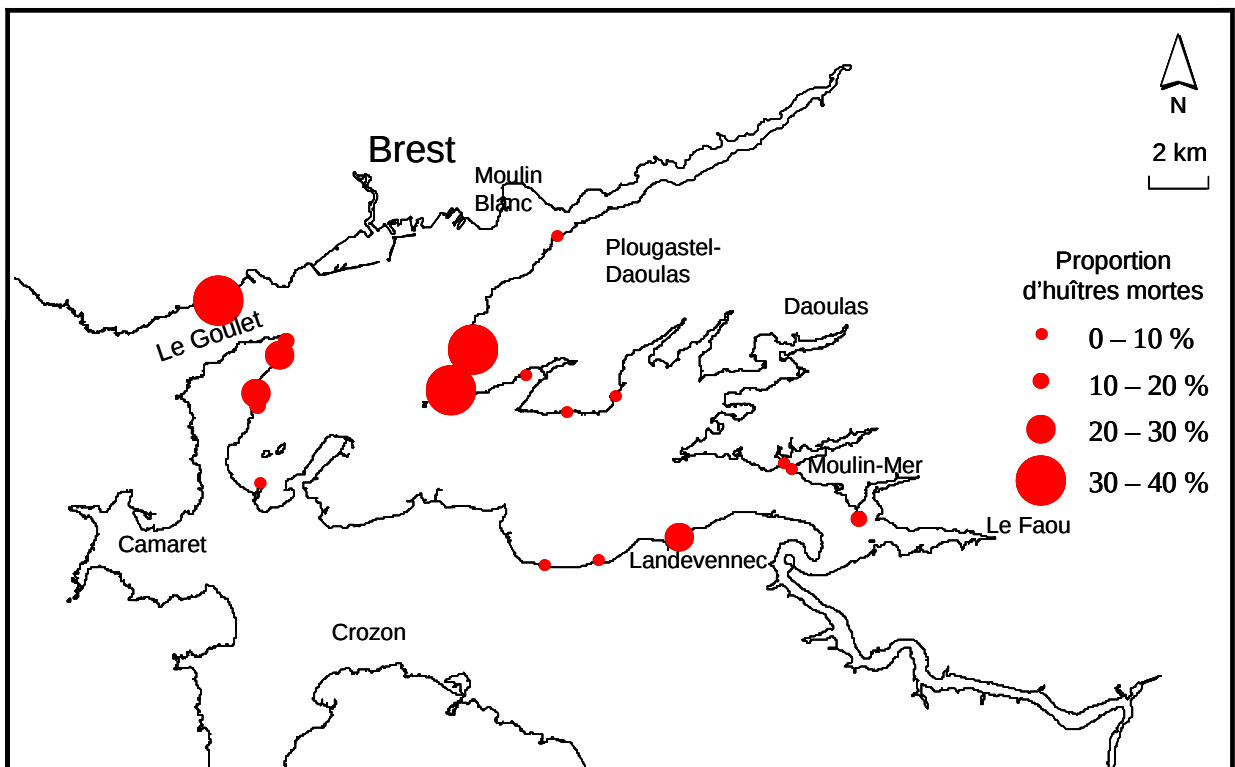


Figure I.7 : Répartition géographique de la proportion d'huîtres mortes en Rade de Brest.

2.2.2. Golfe du Morbihan

Les densités de *C. gigas* les plus fortes ont été observées sur les estrans rocheux de l'ouest ('sortie' du golfe) et de l'est ('fond') du golfe (figure I.8), alors que la partie centrale est moins colonisée. *C. gigas* était présente sur tous les sites échantillonnés. La densité moyenne des huîtres a été estimée à $36 (\pm 62)$ ind. m^{-2} avec un maximum de 516 ind. m^{-2} atteint sur un site à la sortie du Golfe (Bilgroix). Le stock total de *C. gigas* colonisant les estrans rocheux du Golfe du Morbihan a été estimé à $4\,173 (\pm 2\,684)$ tonnes AFDW, correspondant à un poids frais d'environ 6 400 tonnes, réparties sur $4,9\ km^2$.

La proportion de juvéniles dans la population est également supérieure dans les sites de l'ouest et de l'est du golfe (figure I.9). La proportion moyenne d'huîtres juvéniles dans la population de *C. gigas* du Golfe du Morbihan a été estimée à $41 (\pm 23)$ %.

Les proportions d'huîtres mortes les plus fortes ont été observées au centre du golfe (figure I.10). La proportion moyenne d'huîtres mortes dans la population du Golfe du Morbihan a été estimée à $16 (\pm 11)$ %.

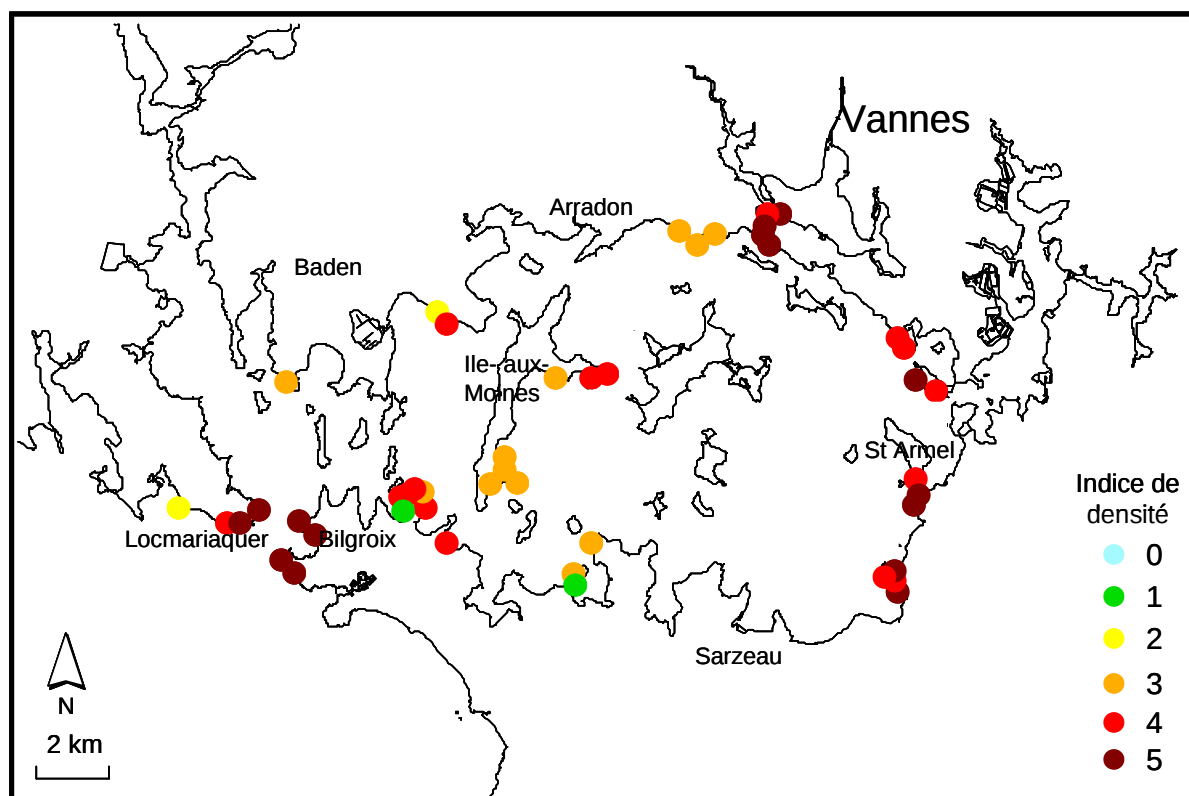


Figure I.8 : Bilan de la colonisation du Golfe du Morbihan par *C. gigas*. L'indice de densité 1 correspond à une densité $<0,01\ ind. m^{-2}$, 2 entre $0,01$ et $1\ ind. m^{-2}$, 3 entre 1 et $10\ ind. m^{-2}$, 4 entre 10 et $100\ ind. m^{-2}$ et 5 entre 100 et $1000\ ind. m^{-2}$.

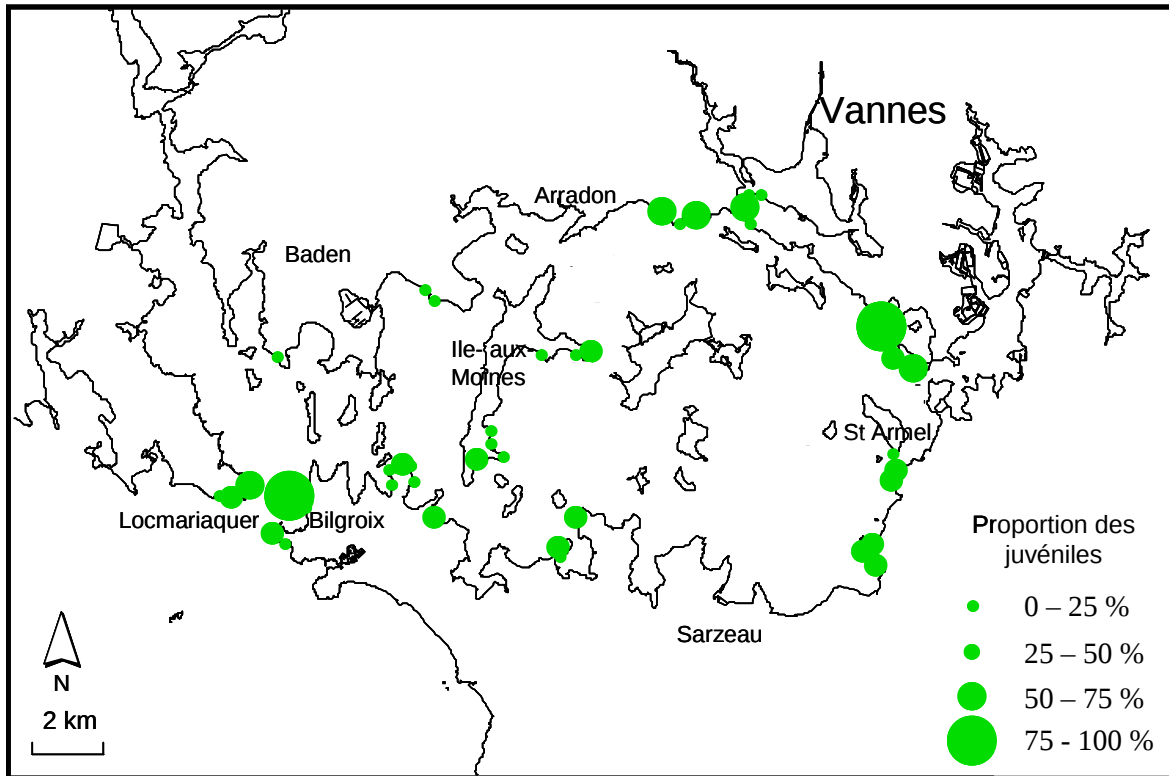


Figure I.9 : Répartition géographique de la proportion des juvéniles de *C. gigas* dans le Golfe du Morbihan.

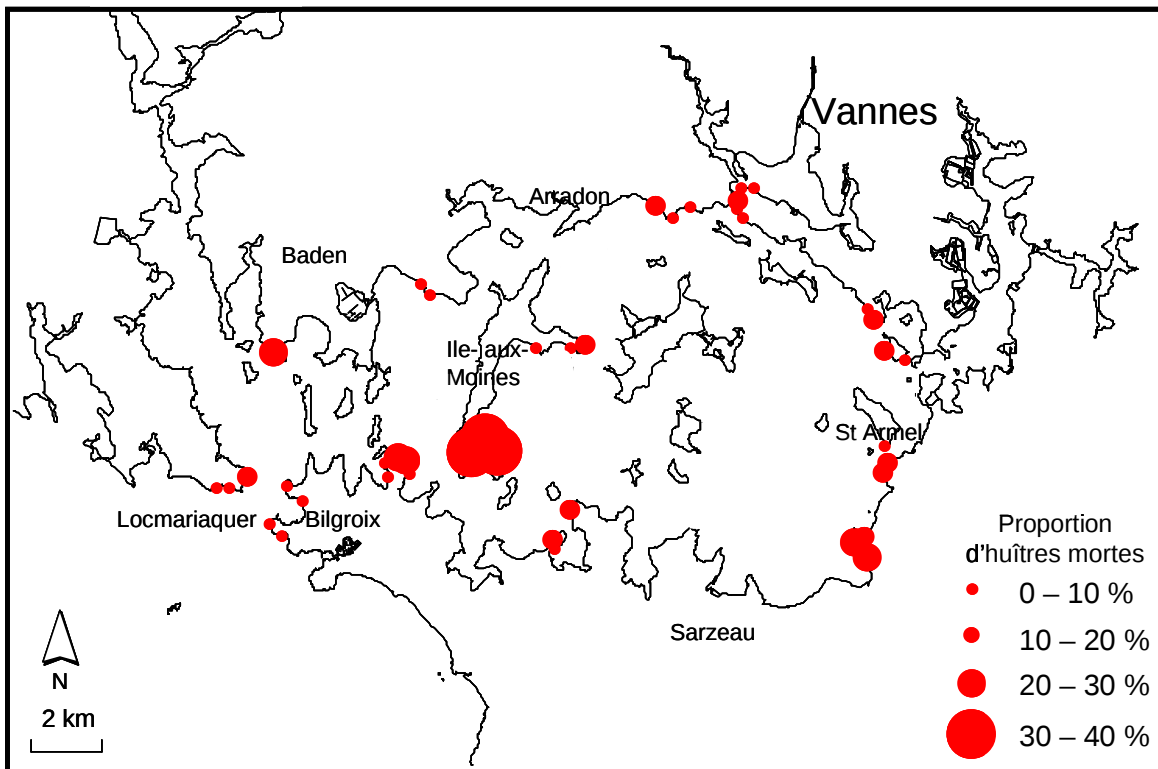


Figure I.10 : Répartition géographique de la proportion d'huîtres mortes dans le Golfe du Morbihan.

2.3. Discussion

2.3.1. Estimation des stocks

Si les campagnes d'échantillonnage couplées à l'utilisation de l'outil SIG permettent d'obtenir une estimation assez fine du stock d'huîtres sauvages en Rade de Brest et des estrans rocheux du Golfe du Morbihan, cette valeur est probablement une sous-estimation du stock réel.

Malgré la mise en place d'un plan d'échantillonnage le plus complet possible, certaines zones moins accessibles ont été sous-échantillonnées. C'est le cas notamment de la Baie de Daoulas et des rias des rivières du Faou, de l'Hopital-Camfrout, et de Logonna, à l'est de la Rade de Brest, où les grandes vasières rendent l'exploration à pied et la navigation impossible. C'est le cas également de la multitude d'îles du Golfe du Morbihan qui n'ont pu être visitées pendant le mois d'échantillonnage début 2006. Sur ces portions d'estran, si des sites échantillonnés de part et d'autre avaient des densités similaires, une densité moyenne était estimée pour la zone. Cependant quand cette méthode n'était pas applicable, nous avons jugé la densité nulle. Ainsi, des zones probablement colonisées n'ont pas été prises en compte dans le calcul du stock total.

La sous-estimation du stock est due également à la mesure de la largeur de la bande d'huîtres sur l'estran. En effet, nous avons mesuré une distance projetée qui ne tient pas compte des anfractuosités et parois verticales sur lesquelles les huîtres se développent également.

Les valeurs des stocks présentent des écart-types assez forts qui s'expliquent par la très forte hétérogénéité de répartition des huîtres sauvages à petite et moyenne échelle spatiale. Les écart-types des densités moyennes d'huîtres en Rade de Brest et dans le Golfe du Morbihan témoignent de cette variabilité spatiale de la colonisation de l'estran par *C. gigas*. Une des hypothèses serait l'arrivée des larves d'huîtres regroupées en 'essaim' sur la côte (Auby et Maurer 2004) qui expliquerait que, sur un linéaire d'estran de conditions d'hydrodynamisme et de substrat homogènes, les densités d'huîtres ne soient pas similaires.

Les 10 000 et 6 400 tonnes d'huîtres sauvages en Rade de Brest et dans le Golfe du Morbihan représentent un tonnage non négligeable en comparaison avec la production annuelle d'huître creuses en Rade de Brest et dans le Golfe du Morbihan estimée en 2001 à environ 5 000 et 15 000 tonnes (poids frais), respectivement (Agreste 2005). Les valeurs de

stocks déterminées par cette étude sont également du même ordre de grandeur que les 8 419 tonnes mesurées en Baie de Bourgneuf (Cognie et al. 2006) mais encore inférieures à celles mesurées dans d'autres bassins ostréicoles en France où les huîtres sauvages posent un problème, notamment de compétition trophique avec les huîtres cultivées : 20 000 tonnes à Marennes-Oléron (Prou et al. 1994) et 37 000 tonnes à Arcachon (Auby et Maurer 2004).

2.3.2. Répartition des stocks

La répartition des stocks d'huîtres en Rade de Brest et dans le Golfe du Morbihan serait expliquée par les mêmes paramètres qui régissent la répartition de *C. gigas* à l'échelle de la Bretagne, à savoir, la présence de concessions ostréicoles, les courants et la température de l'eau.

En Rade de Brest, la majorité des concessions ostréicoles est localisée en 'fond' de rade (cadastre conchylicole du service des affaires maritimes), correspondant à la zone de colonisation maximale. Dans le Golfe du Morbihan, la présence de parcs ostréicoles ne semble pas être le premier paramètre déterminant la répartition des huîtres sauvages. On remarque en effet qu'il y a peu de parcs dans le fond du golfe (figure I.11), alors que les densités d'huîtres sauvages y sont plus importantes qu'au centre.

Cette faible concentration de cultures marines est sans doute compensée par des courants résiduels permettant la dispersion des larves dans tout le golfe. Le temps de résidence des eaux de 0,5 jour à l'entrée du golfe, de 2,5 jours au centre et de 10 jours dans le fond témoignerait en effet d'un brassage efficace des eaux du Golfe, contre les 26 jours moyens nécessaires aux eaux de la Rade pour se renouveler (Karleskind 2004). Le temps de résidence des eaux plus long au fond du Golfe du Morbihan et de la Rade de Brest permettrait aux larves de stationner plus longtemps dans ces zones et d'augmenter leur chance de s'y fixer. A l'inverse, le temps de résidence plus court au nord-ouest de la Rade de Brest, de l'ordre de 3 jours (Karleskind 2004) limiterait la probabilité aux larves provenant du bassin sud de s'y installer d'où les densités plus faibles observées dans cette zone. Lorsque les eaux sortent de la Rade de Brest, les courants longent la partie nord du goulet (SHOM), expliquant ainsi l'absence d'huître sur la partie sud du goulet et leur présence au nord, en faible densité toutefois car les essaims de larves sont probablement dilués quand ils arrivent à ce niveau.

En été, la température de l'eau est plus chaude dans le fond de la Rade de Brest et du Golfe du Morbihan que dans le reste des deux bassins, du fait d'une bathymétrie et d'un brassage des eaux plus faibles. Ce paramètre pourrait avoir une influence sur le recrutement

des individus en améliorant la survie des larves et en accélérant leur développement (Rico-Villa et al. 2009).

Deux autres paramètres qui n'avaient pas été mis en évidence dans l'analyse de la colonisation à l'échelle de la Bretagne auraient une influence à cette échelle plus locale. Tout, d'abord, le recouvrement du substrat par des fucales limiterait la colonisation de *C. gigas* (Reise 1998; Diederich 2005). Or la sortie du Golfe du Morbihan est caractérisée par une couverture algale faible ou absente selon les zones, tandis qu'elle est bien plus importante sur les substrats du centre et du fond du golfe. Malgré un temps de résidence plus court à ce niveau, un substrat plus favorable à la fixation des larves d'huîtres pourrait expliquer une colonisation supérieure à la sortie de golfe en comparaison avec la zone centrale. Ce paramètre sera testé dans le deuxième chapitre de ce manuscrit.

La contamination des eaux par des polluants, connus pour perturber le développement larvaire (His et al. 1999), la métamorphose (His et al. 1997) ainsi que la croissance du naissain (Stachowski-Haberkorn et al. 2008), pourrait expliquer l'absence de *C. gigas* du port militaire à la plage du Moulin Blanc dans le bassin nord de la Rade de Brest

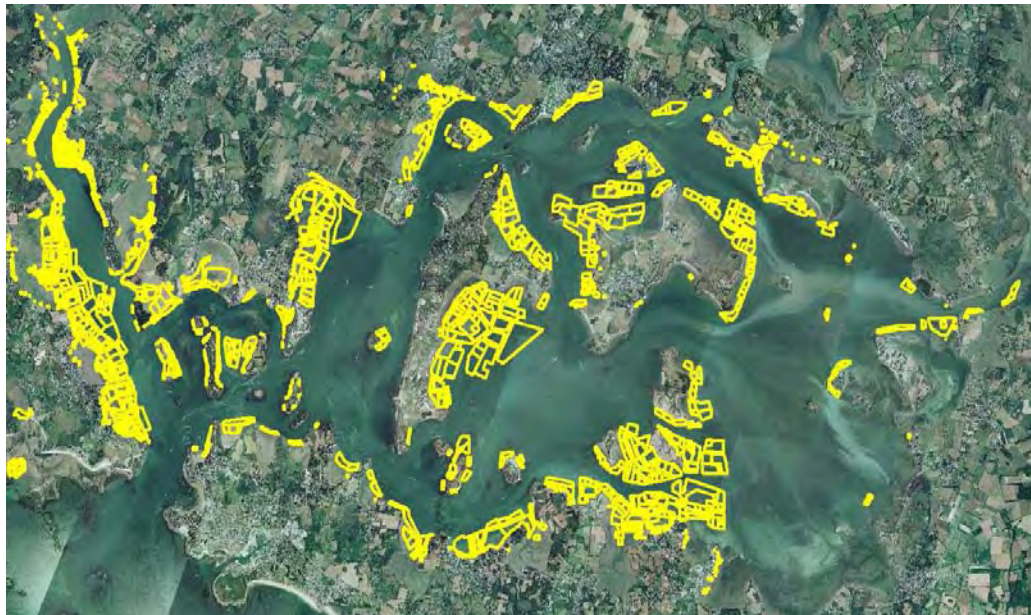


Figure I.11 : Les concessions ostréicoles sur le Domaine Public Maritime dans le Golfe du Morbihan (Section Régionale Conchylicole de Bretagne Sud)

2.3.3. *Evolution du stock*

La proportion de juvéniles ou taux de recrutement égal à 53 et 41% en moyenne pour la Rade de Brest et le Golfe du Morbihan témoigne d'une dynamique de prolifération active. Sur les sites déjà très colonisés, la croissance du stock se fait en volume avec la formation de véritables récifs. Pour les sites moins colonisés, situés plutôt dans la partie nord de la rade et centrale du golfe, la croissance du stock se fait en surface sur le substrat.

En Rade de Brest, les proportions de juvéniles les plus fortes (supérieures à 75%) sont observées dans les zones de plus faible densité d'huîtres, à l'ouest de la rade. Ce phénomène témoigne de l'expansion de la colonisation vers des zones dont les conditions biotiques et abiotiques leur permettent de s'installer, mais qui n'avaient pas encore été atteintes par des quantités suffisantes de larves. La proportion d'huîtres mortes, supérieure dans cette même zone, témoigne toutefois de conditions moins optimales à leur survie, tels un hydrodynamisme plus fort (Ruesink 2007) ou des températures de l'eau plus faibles.

Dans le Golfe du Morbihan, les proportions de juvéniles les plus fortes (supérieures à 75%) sont observées dans les zones de plus fortes densités d'huîtres. La colonisation semble donc s'étendre moins efficacement vers les zones les moins colonisées du centre du golfe. Le temps de résidence faible des eaux dans cette zone ainsi que la présence des fucales ont déjà été exposés comme des facteurs limitant l'arrivée des larves sur ces sites. Les proportions d'huîtres mortes les plus fortes se situant également dans cette zone centrale, les conditions de vie y seraient donc beaucoup moins optimales, et limiteraient d'autant plus la progression de la colonisation

Conclusion

A l'exception de la zone nord-Finistère et des baies de Douarnenez et Audierne, l'ensemble des côtes bretonnes est actuellement colonisé par *C. gigas*. La Rade de Brest et le Golfe du Morbihan sont particulièrement touchés par cette colonisation puisque notre étude a permis d'y recenser des stocks de 10 000 et 6 420 tonnes (poids frais), respectivement. La colonisation est en train de s'étendre progressivement dans ces deux bassins ostréicoles mais la zone centrale du Golfe du Morbihan semble encore relativement épargnée. L'augmentation du stock d'huîtres dans le fond du golfe devrait toutefois engendrer une production de larves de plus en plus abondante qui pourrait, à terme, parvenir à coloniser cette zone dans des densités équivalentes au reste du golfe.

Cette étude a mis en évidence deux paramètres, parmi d'autres, qui sembleraient limiter le processus de prolifération de *C. gigas*, la température et la présence d'algues sur le substrat. L'influence de ces paramètres sur la reproduction et le recrutement de *C. gigas*, respectivement, est présentée dans la partie suivante du manuscrit.

PARTIE II :

Quels sont les facteurs déterminant la
dynamique du processus invasif de
Crassostrea gigas en Bretagne ?

Introduction

La première partie de ces travaux de thèse a permis d'établir la cartographie de l'état de la colonisation de *C. gigas* sur les côtes bretonnes et de formuler des hypothèses quant aux paramètres responsables de la répartition géographique de l'espèce. Dans cette seconde partie nous testerons donc l'hypothèse de la responsabilité du réchauffement de la température des eaux de surface, dû au changement climatique, dans l'établissement de *C. gigas* en Bretagne et de son absence dans la région des Abers. Dans un second temps, nous testerons plusieurs facteurs biotiques et abiotiques déterminant le succès ou l'échec du recrutement de *C. gigas* et donc sa répartition géographique sur les estrans bretons. Enfin, nous aborderons dans la discussion un dernier paramètre contrôlant la dynamique de colonisation de *C. gigas* que sont les épisodes de mortalité estivales.

Chapitre 1: Le changement climatique, responsable de l'invasion de *Crassostrea gigas* en Bretagne ?

Introduction

Une fois l'espèce exotique introduite, le passage à l'étape suivante du processus invasif dépend de sa capacité à se reproduire dans ce nouvel environnement (figure i.1) (Occhipinti-Ambrogi 2007). Par conséquent, une bonne connaissance du processus de reproduction est un élément clé de la compréhension du succès de l'installation de l'espèce dans son nouvel environnement. Si la reproduction de *Crassostrea gigas* a été très étudiée depuis de nombreuses années en raison de son intérêt économique (Héral et al. 1986; Lubet 1991; Lango-Reynoso et al. 1999), les causes de l'expansion récente des populations sauvages en Bretagne n'ont jamais été établies. En effet, *C. gigas* a été introduite à la fin des années 70 sur tout le littoral français mais ce n'est que depuis les années 90 que le phénomène de prolifération s'est amplifié sur les côtes bretonnes.

Ce temps de latence est classique dans le processus d'installation d'une espèce invasive (Williamson 1996; Mack et al. 2000) et peut avoir plusieurs causes : la fréquence et l'intensité des épisodes d'introduction, une sélection naturelle de génotypes adaptés au nouvel environnement ou une modification de l'écosystème hôte (figure i.2). La première hypothèse ne peut s'appliquer à *C. gigas* puisque des milliers d'individus cultivés étaient présents en permanence dans les sites ostréicoles sur les côtes bretonnes. La seconde hypothèse semble également peu probable, du moins au début de l'invasion, car les individus cultivés sur les côtes bretonnes provenant tous, jusque très récemment, des bassins ostréicoles d'Arcachon et de Marennes-Oléron, présentaient un pool génétique commun (Meistertzheim 2008).

Dans cette étude, nous avons donc décidé de tester la dernière hypothèse et plus précisément, dans un contexte de réchauffement climatique global, l'hypothèse de l'augmentation de la température des eaux côtières en Bretagne. Cette hypothèse est d'ailleurs soutenue par Cognie et al. (2006) et Diederich (2005) pour expliquer la prolifération de *C. gigas* en Baie de Bourgneuf et Mer de Wadden, respectivement. Chez *C. gigas*, comme chez de nombreux bivalves marins, il est en effet reconnu que la température de l'eau est le principal facteur environnemental affectant le développement gonadique (Mann 1979; Muranaka et Lannan 1984; Fabioux et al. 2005). Différents paramètres de la reproduction de

deux populations localisées dans le nord du Finistère ont donc été suivies pendant deux ans. Le terme population que nous emploierons dans ces travaux n'a pas de valeur génétique, il distingue seulement des huîtres issues de lieux géographiques différents.

1. Matériel et méthodes

1.1. Sites d'études et échantillonnage

Les échantillonnages ont été réalisés sur le site de la Pointe du Château en Rade de Brest, où les huîtres se reproduisent régulièrement depuis une quinzaine d'années et le site de l'Aber Benoît, seule zone en Bretagne indemne de l'invasion de *C. gigas* alors qu'elle y est cultivée (figure II.1).

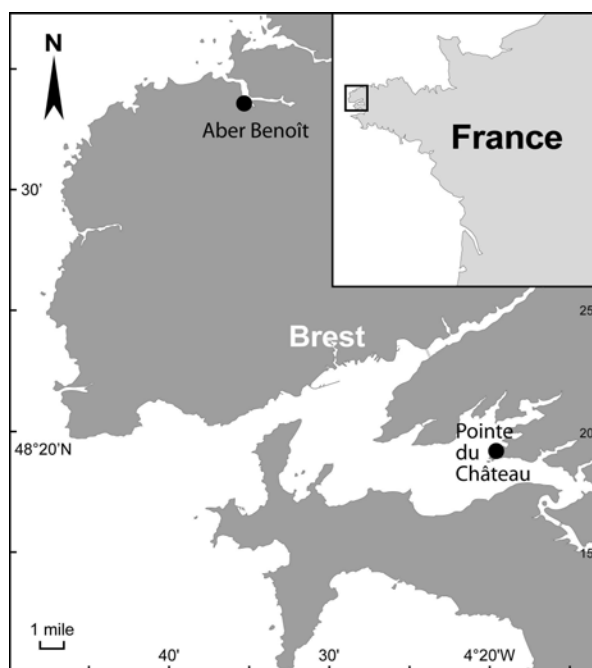


Figure II.1 : Localisation géographique des sites d'études

Les prélèvements d'huîtres ont été effectués de juin à octobre 2006 et de février à novembre 2007 excepté pour les huîtres cultivées de la Pointe du Château où l'échantillonnage n'a débuté qu'en avril. La fréquence des prélèvements était bimensuelle pendant la période estivale (de juin à septembre) et mensuelle le reste de l'année. En 2006 et 2007, les huîtres de l'Aber Benoît étaient des huîtres cultivées âgées de trois ans (70-

110 mm), collectées dans le bassin de Marennes-Oléron et transférées à l'âge de 18 mois dans l'Aber. Sur le site de la Pointe du Château, en 2006, seules des huîtres sauvages ont été échantillonnées. La détermination de l'âge des huîtres sauvages par des méthodes non destructives étant impossible, nous avons fait le choix de sélectionner des spécimens de même taille que ceux de l'Aber Benoît (70-110 mm). En 2007, en plus des huîtres sauvages, des huîtres cultivées âgées de trois ans ont été échantillonnées sur le site de la Pointe du Château. Elles ont également été collectées dans le bassin de Marennes-Oléron et transférées à l'âge de 18 mois en Rade de Brest. Les poches ostréicoles des deux sites se situaient à un niveau bathymétrique d'environ 3m, correspondant à une durée d'émersion d'environ 8h par jour, auquel les huîtres sauvages de la Pointe du Château ont également été récoltées. Pour chaque date, une soixantaine d'individus étaient prélevés par situation : 60 huîtres cultivées de l'Aber Benoît (AB), 60 huîtres cultivées de la Pointe du Château (CPC) et 60 huîtres sauvages de la Pointe du Château (PC).

1.2. Mesure de la température

Des sondes thermiques (EBI 85-A, Ebro) placées dans les poches ostréicoles sur les sites de la Pointe du Château et de l'Aber Benoît, ont mesuré, toutes les 20 minutes, les températures de l'eau et de l'air supportées par les huîtres lors des phases d'immersion et d'émersion, du 1^{er} janvier 2006 au 31 décembre 2007. Le jeu de données a pu être décomposé à partir de la situation bathymétrique des poches et de l'oscillation des hauteurs d'eau journalières (SHOM) afin de dissocier les températures mesurées dans l'eau et dans l'air.

Les températures mesurées par les sondes dans les poches ostréicoles peuvent être considérées comme similaires à celles supportées par les huîtres sauvages sur les rochers, étant donné que ces dernières étaient prélevées à proximité immédiate du parc ostréicole et se trouvaient au même niveau bathymétrique. Les températures maximales de l'air, enregistrées lors des marées basses ayant lieu l'après-midi en été, pourraient être toutefois supérieures pour les huîtres sauvages à celles mesurées par les sondes, du fait de la protection induite par les poches ostréicoles.

1.3. Indice de condition

L'utilisation d'un indice de condition (IC) permet une comparaison globale de l'état physiologique des animaux entre les différents sites. Ce type d'indice reflète l'embonpoint des

individus. Il varie avec les facteurs du milieu (température, disponibilité trophique, etc.) ainsi qu'en fonction du cycle de reproduction. Cet indice permet, de caractériser globalement le cycle sexuel de l'huître (vitesse, intensité et date de ponte).

L'indice de condition utilisé dans cette étude pour caractériser le cycle sexuel est celui proposé par Lucas et Beninger (1985):

$$IC = (\text{Masse de chair sèche}) / (\text{Masse de coquille sèche}) \times 100$$

Il a été calculé pour 30 huîtres de chaque prélèvement.

1.4. Analyse histologique qualitative de la gonade

L'étude histologique de la gonade permet de définir les stades de maturité. Parmi les 30 individus restants du prélèvement, l'observation au microscope d'un frottis de gonade nous a permis d'obtenir un échantillonnage représentatif de 10 mâles et 10 femelles. Une méthode classique d'histologie qualitative a ensuite été appliquée (Lango-Reynoso et al. 2000) sur des fragments de gonade d'environ 1 cm² prélevés en avant de la cavité péricardique. Les échantillons de gonade sont fixés pendant 48h dans du fixateur de Bouin, déshydratés dans des bains successifs d'alcool et de xylène, inclus dans de la paraffine liquide et coulés en blocs de paraffine. Des coupes de 5µm d'épaisseur ont été réalisées avec un microtome puis déposées sur des lames porte-objets, colorées à l'hématoxyline-éosine et montées entre lames et lamelles avec une résine d'inclusion synthétique de type Eukitt (Kindler GmbH & Co). La classification des stades de maturité à partir de l'observation microscopique des coupes histologiques est basée sur l'échelle établie par Mann (1979) (figures II.2 et II.3):

Stade 0 : Sexe indéterminé. Repos sexuel

Stade 1 : Prolifération des gonies dans les follicules

Stade 2 : Maturation des cellules germinales

Stade 3 : Gamètes matures, remplissage total du follicule

Stade 4 : Ponte totale ou partielle

Stade 5 : Résorption. Les gamètes non émis sont résorbés. Présence de nombreux macrophages

Dans cette étude, le stade de résorption (stade 5) a été assigné aux huîtres qui n'avaient pas pondu, ou dont la ponte avait été trop partielle pour être visible sur les coupes histologiques, et dont la résorption des gamètes était signalée par la présence de macrophages. Les huîtres dont la ponte a été totale ou partielle ont été classées stade 4 malgré la présence ponctuelle de macrophages dans les follicules presque vides.

1.5. Quantification de l'effort de reproduction par ELISA (Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay)

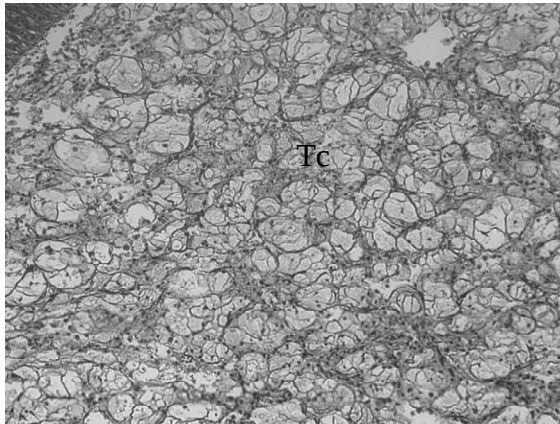
Une alternative aux méthodes histologiques a été testée dans cette étude. Elle s'applique aux femelles et consiste à quantifier les protéines des ovocytes en utilisant un anticorps polyclonal spécifique dans un dosage par ELISA (Kang et al. 2003; Royer et al. 2008). Elle permet d'obtenir la proportion exacte de la masse de la gonade sur la masse totale de chair et de quantifier réellement la modulation de la reproduction des individus femelles qui n'est pas accessible avec l'indice de condition.

Les tissus des femelles échantillonnées en 2007 et conservés à -80°C, après prélèvement du fragment gonadique pour l'analyse histologique, sont pesés puis lyophilisés et broyés au broyeur à billes. Entre 50 et 100 mg de poudre par individu ont été dissous dans 500 µl de tampon d'extraction (150 mM de NaCl, 10 mM de NaH₂PO₄, 1mM de PMSF (phenylmethanesulfonylfluoride) dissous dans de l'isopropanol, pH 7,2.) puis homogénéisé avec un ultrasonicateur. Les échantillons sont centrifugés, puis le surnageant est placé dans une microplaque à ultra-titration. Les réactifs du kit de révélation des protéines sont ajoutés (Dc Protein Assay Kit Biorad) et la densité optique lue à 620 nm donne la quantité totale de protéines présente dans chaque échantillon (Lowry et al. 1951) à partir d'une gamme étalon.

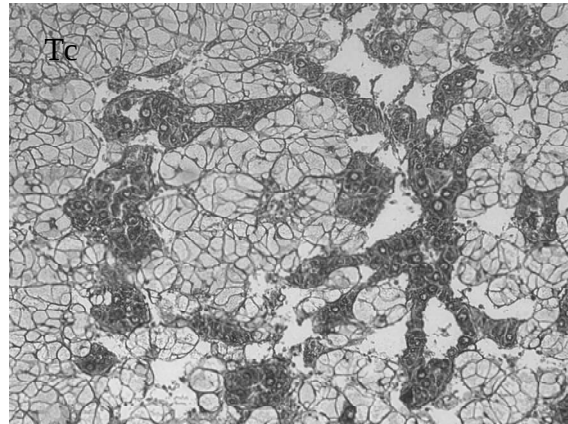
L'équivalent de 20 µg de protéines totales de chaque échantillon est déposé dans une microplaque ELISA. Le volume est complété à 100µl avec du PBS (phosphate buffer saline, 145 mM de NaCl, 2,5 mM de NaH₂PO₄, 7,5mM de Na₂HPO₄, pH 7,2.) et incubé toute la nuit (au moins 13h) à 4°C. Après incubation, la plaque est lavée 3 fois avec du PBS-Tween puis 150 µl d'albumine de bœuf à 1% sont ajoutés dans chaque puits comme agent saturant.

La plaque est incubée 1h à température ambiante puis lavée 3 fois avec du PBS-Tween et 3 fois avec de l'eau. Successivement, 100 µl d'anticorps de lapin anti-protéine d'ovocytes puis d'anticorps de chèvre anti-lapin (SIGMA®) dilués au 1/1000 sont ajoutés dans chaque puits et incubés 1 h à température ambiante puis lavés de nouveau. Enfin, 100 µl de substrat pNPP (p-nitrophénylphosphate) préparés dans du tampon DEA (diéthanolamine, SIGMA®)

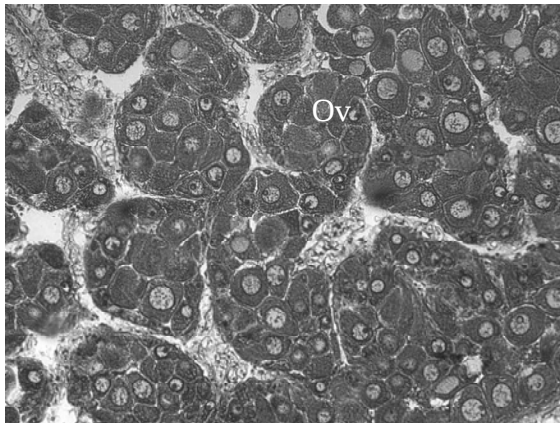
sont ajoutés puis incubés 20 min à l'abri de la lumière. La réaction est stoppée avec 50 μ l de NaOH 3N et la densité optique lue à 620 nm. La quantité de protéines d'ovocytes présente dans chaque échantillon est estimée à partir d'une gamme établie à partir d'une série de dilutions d'un échantillon d'ovocytes purs. L'indice gonado-somatique est calculé comme étant le rapport de la masse de protéines d'œufs sur la masse totale de tissu.



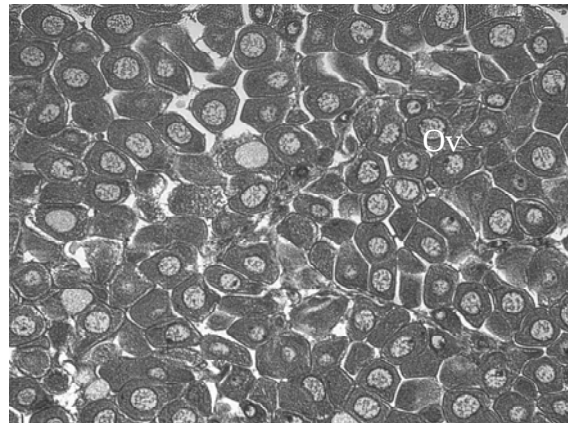
Stade 0: Repos sexuel



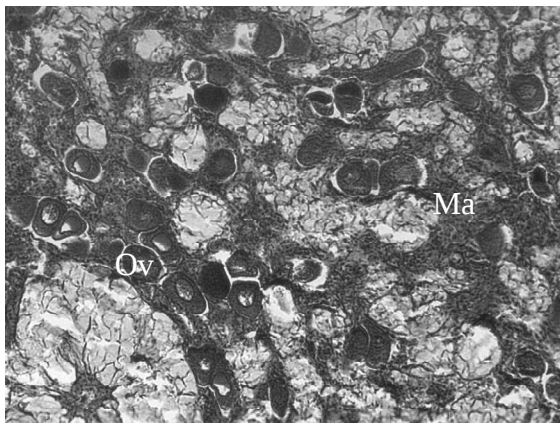
Stade 1: Prolifération des gonies



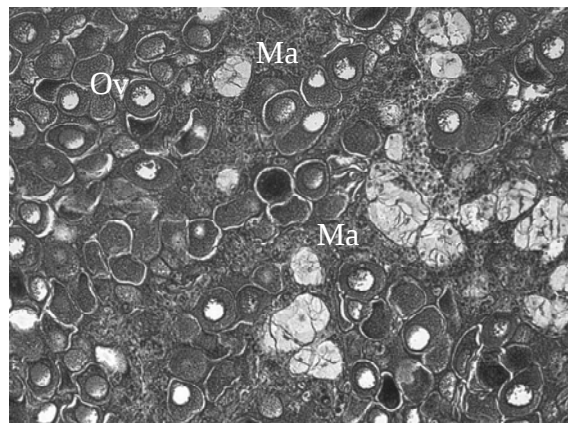
Stade 2: Gamétogenèse active



Stade 3: Gamètes matures

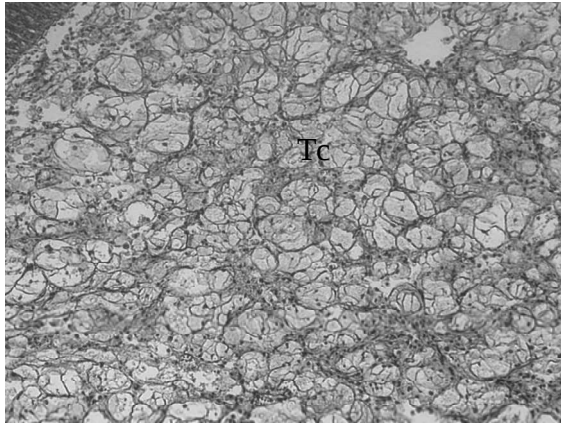


Stade 4: Ponte

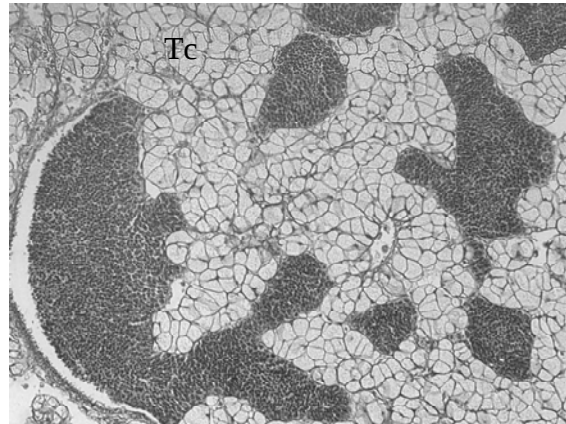


Stade 5: Résorption

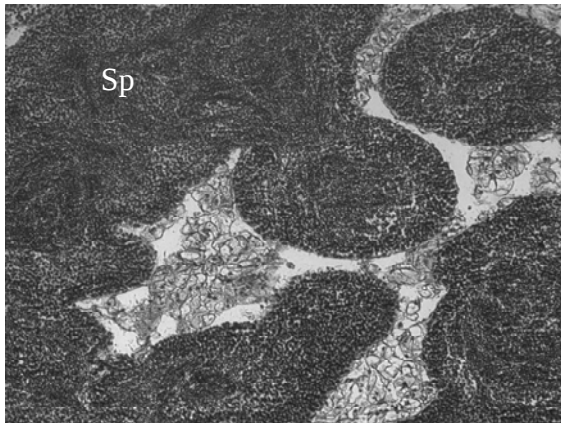
Figure II.2 : Stade de maturation de la gonade femelle au grossissement x 20 (Tc : Tissu conjonctif, Ov : Ovocytes, Ma : Macrophages)



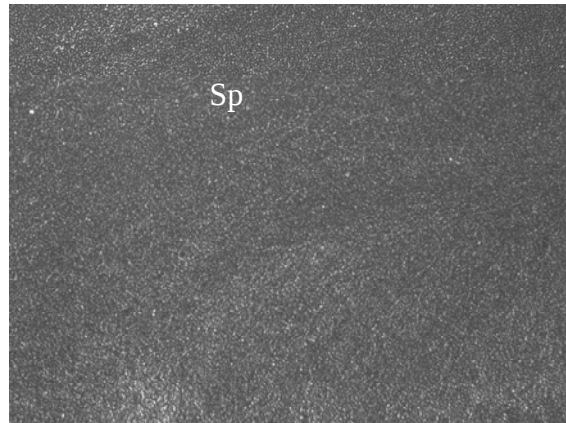
Stade 0: Repos sexuel



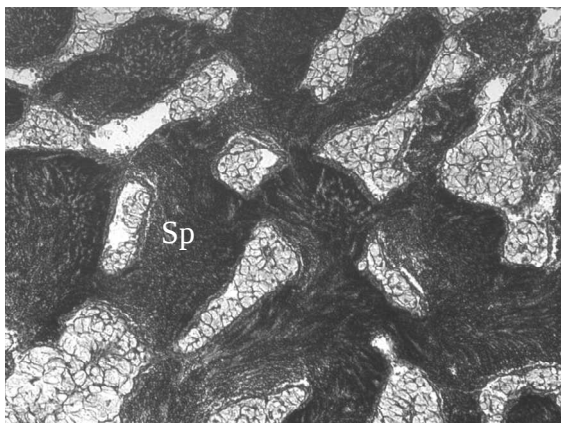
Stade 1: Prolifération des gonies



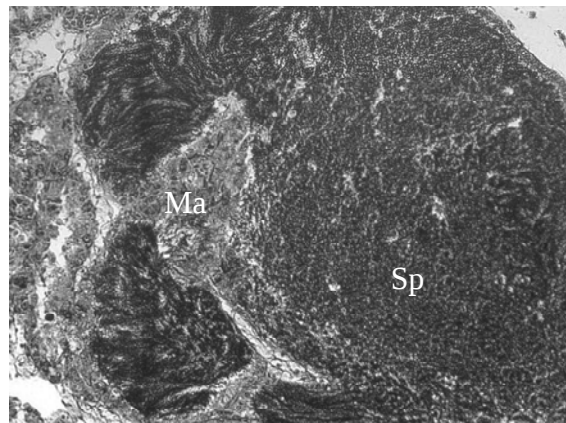
Stade 2: Gamétogenèse active



Stade 3: Gamètes matures



Stade 4: Ponte



Stade 5: Résorption

Figure II.3 : Stade de maturation de la gonade mâle au grossissement x 20 (Tc : Tissu conjonctif, Sp : Spermatozoïdes, Ma : Macrophages)

1.6. Test de fécondation

10 huîtres supplémentaires ont été récoltées le 31 juillet 2007 à l'Aber Benoît (AB) et dans la population sauvage de la Pointe du Château (PC). De retour au laboratoire, elles ont été placées dans des bacs alimentés en eau de mer courante, filtrée sur filtre à sable, et nourries *ad libitum* avec un mélange de microalgues *Isochrysis sp*, *Pavlova sp*, *Thalassiosira weissflogii* et *Tetraselmis* (Shellfish diet 1800). La température de l'eau dans les bacs, prélevée dans le goulet de la Rade de Brest, est restée stable à une valeur de 17°C.

Le 7 août 2007, les animaux ont été sexés par frottis et les gamètes, de 3 mâles et 3 femelles par population, ont été récupérés par scarification de la gonade, méthode dite du "stripping" dans des béchers remplis d'eau de mer filtrée à 0,2 µm. Après tamisage (maille de 200 µm) pour éliminer les débris, les ovocytes ont été comptés sur cellule de Nageotte. Après tamisage (maille de 80µm), les spermatozoïdes ont été comptés par cytométrie en flux. Pour chaque population, les ovocytes des 3 femelles ont été mélangés afin d'obtenir un nombre total de 10⁴ ovocytes dans chaque bécher. La fécondation est réalisée, à 24°C, en ajoutant un mélange des spermatozoïdes des 3 mâles, à raison de 100 spermatozoïdes par ovocyte, dans chaque bécher.

Les croisements suivants ont été réalisés :

Croisement 1 : femelles PC x mâles PC

Croisement 2 : femelles AB x mâles AB

Croisement 3 : femelles AB x mâles PC

Croisement 4 : femelles PC x mâles AB

Les béchers sont ensuite placés dans l'étuve à 24°C et une agitation douce constante est maintenue pour éviter la sédimentation des ovocytes. Après 2h, les échantillons ont été fixés au formol 3% puis le taux de fécondation a été déterminé pour chaque croisement par comptage sur cellule de Nageotte des ovocytes non fécondés et des embryons développés (au stade 2 cellules).

1.7. Analyses statistiques

Les indices de condition suivant une loi normale, une ANOVA a été réalisée afin de mettre en évidence des différences significatives entre les trois groupes (AB, PC et CPC) pour

chaque date. L'hypothèse de normalité ayant été rejetée pour l'indice de condition gonadosomatique obtenu par ELISA et les taux de fécondation, des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont été appliqués. Des tableaux de contingence ont été réalisés pour comparer l'évolution des stades de maturité gonadique entre les « populations » (test du χ^2).

2. Résultats

2.1. Températures

Les températures de l'air étant identiques entre les deux sites, une seule série apparaît dans la figure II.4A. Les températures de l'eau à la Pointe du Château sont supérieures à celles de l'Aber Benoît en été (figure II.4B). Cet écart thermique a atteint plus de 3°C aux mois de juillet et août 2006 et un peu plus de 2°C au cours de l'été 2007. Pendant l'hiver, de novembre à février-mars, ce sont les températures de l'eau à la Pointe du Château qui sont les plus froides avec un écart pouvant atteindre un peu plus de 2°C.

La variabilité de la température liée à l'émersion a également été mesurée (figure II.4A). Lors des périodes nocturnes d'émersion en hiver, les huîtres subissent des écarts thermiques pouvant atteindre plus de 10°C, avec l'exemple du 24 janvier 2006 où, lorsque la mer s'est retirée à 5h du matin, la température dans la poche ostréicole est passée de 8,6°C dans l'eau à -3,2°C dans l'air à la Pointe du Château. L'amplitude des écarts thermiques a été un peu plus faible en été atteignant rarement les 10°C. Le 4 août 2007 vers 16h de l'après-midi, la température de 25,5°C supportée par les huîtres pendant la période d'émersion est descendue jusqu'à 16,7°C et 19°C lorsque la mer les a recouvertes à l'Aber Benoît et à la Pointe du Château, respectivement (figure II.5). Les huîtres peuvent également subir des chocs thermiques froids en été lors des périodes nocturnes d'émersion (figure II.5).

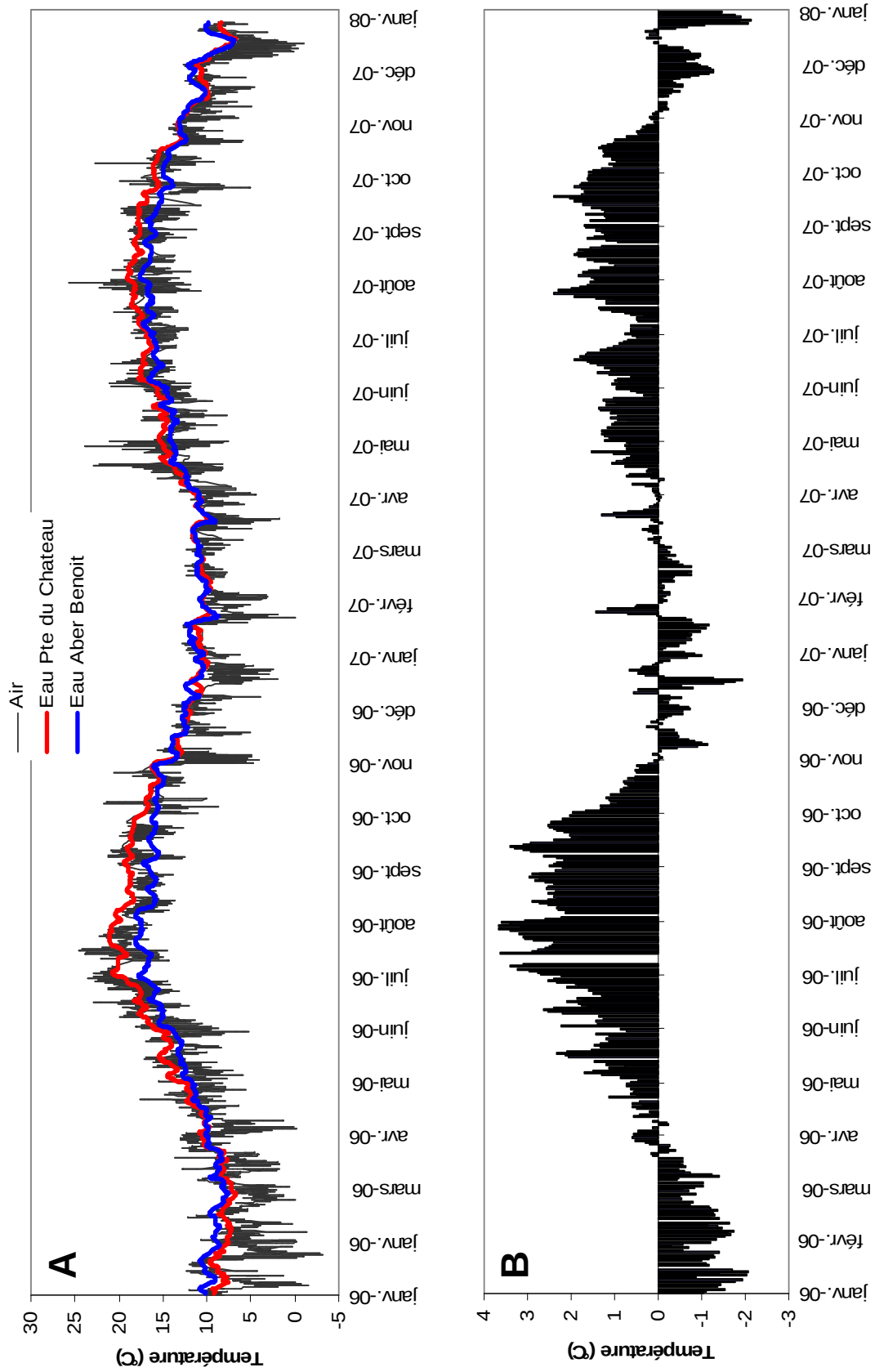


Figure II.4 : (A) Températures moyennes horaires de l'air et températures moyennes journalières de l'eau mesurées à la Pointe du Chateau et à l'Aber Benoît en 2006 et 2007.

(B) Ecart thermique entre les températures moyennes journalières de l'eau de la Pointe du Chateau et de l'Aber Benoît en 2006 et 2007.

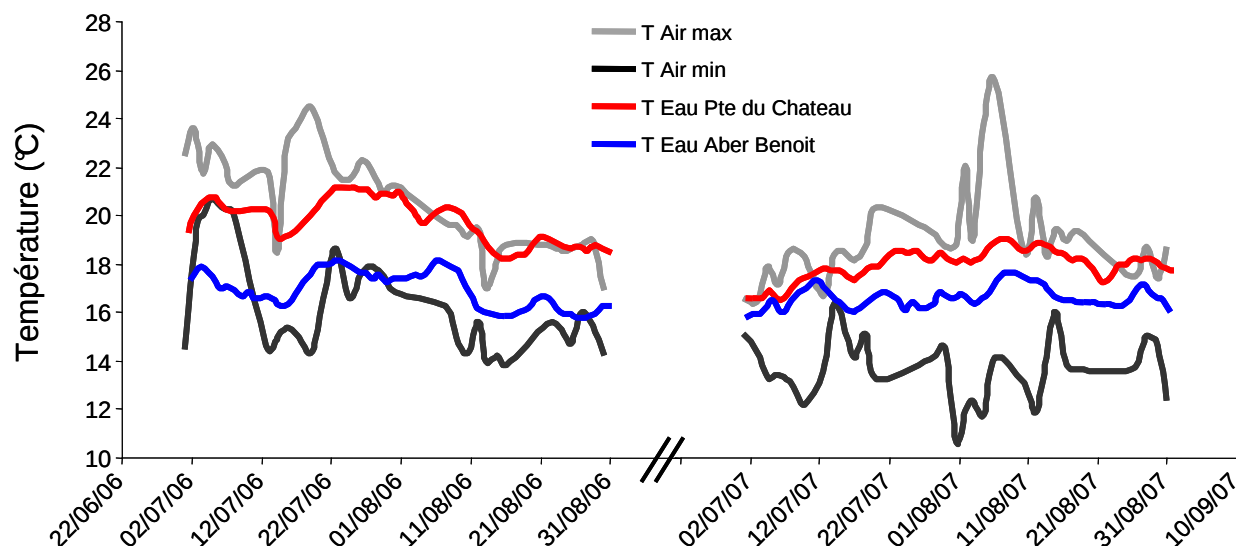


Figure II.5 : Températures maximales et minimales journalières de l'air et températures moyennes journalières de l'eau mesurées à la Pointe du Château et à l'Aber Benoît pendant les périodes estivales de 2006 et 2007.

Les deux années de suivi montrent des profils de température de l'eau très différents (figure II.6). L'hiver 2005-2006 a en effet été beaucoup plus froid que l'hiver 2006-2007 et ce sur les deux sites étudiés. Pendant les mois de janvier, février et mars 2006, plus de 80% des températures enregistrées ont été inférieures à 10°C (excepté en janvier à l'Aber Benoît où cette proportion n'a atteint que 46%), tandis que pour ces mêmes mois l'année suivante, moins de 20% des températures étaient inférieures à 10°C (excepté en février à la Pointe du Château où cette proportion a atteint 27%). Les mois d'avril et mai ont également été plus chauds en 2007 qu'en 2006 mais de manière moins marquée. A l'inverse, la saison estivale a été beaucoup plus chaude en 2006 qu'en 2007 pour le site de la Pointe du Château. Au mois de juillet 2006, 95% des températures ont été supérieures à 19°C (dont 71% supérieures à 20°C) alors qu'en juillet 2007, cette température considérée comme température seuil pour la ponte (Mann 1979) n'a jamais été atteinte. Au mois d'août 2006, 47% des températures ont été supérieures à 19°C alors que cette proportion ne s'est élevée qu'à 10% en août 2007. Pour le site de l'Aber Benoît, les différences des températures estivales entre 2006 et 2007 sont peu marquées et la température seuil de 19°C n'y a jamais été atteinte.

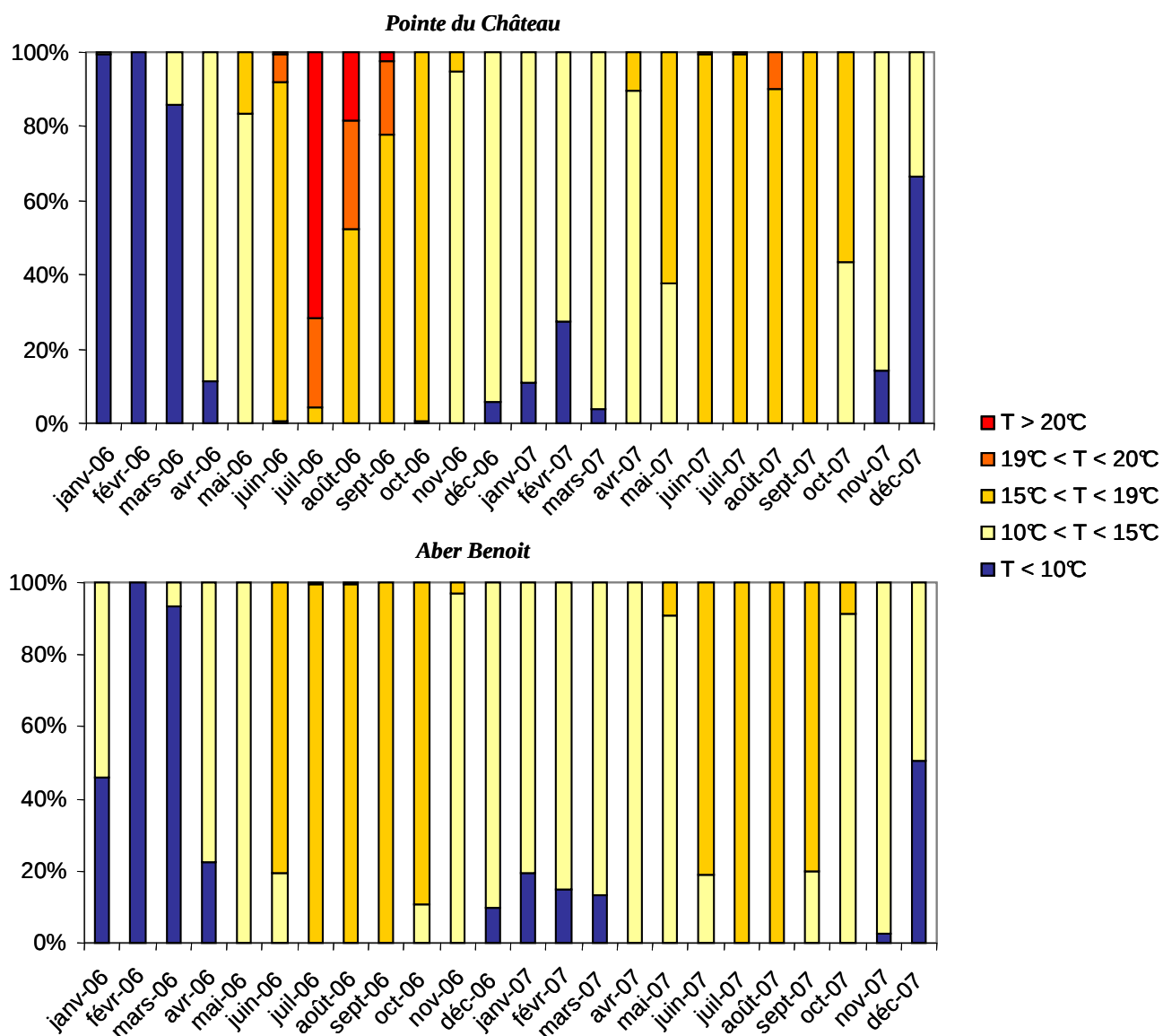


Figure II.6 : Répartition mensuelle des températures moyennes horaires de l'eau mesurées à la Pointe du Château et à l'Aber Benoit en 2006 et 2007.

La comparaison des deux sites montre une évolution des températures hivernales très similaire quelle que soit l'année. A l'inverse, les températures estivales en 2006 ont été nettement supérieures à la Pointe du Château par rapport au site de l'Aber Benoit. Cette différence a été beaucoup moins accentuée en 2007. Pour seules différences nettes en 2007, les proportions des températures supérieures à 15°C au mois de mai et octobre atteignaient 60% à la Pointe du Château contre 10% à l'Aber Benoit, et la température seuil de 19°C n'a jamais été mesurée à l'Aber Benoit alors qu'elle représente 10% des températures au mois d'août à la Pointe du Château.

2.2. Indice de condition

A l'exception du 11 juillet 2006, en 2006 les valeurs des indices de conditions ont été significativement supérieures (ANOVA, $p < 0,05$) pour les huîtres cultivées de l'Aber Benoît (AB) par rapport aux huîtres sauvages (PC) de la Pointe du Château du 14 juin 2006 au 24 octobre 2006 (figure II.7 et tableau II.1).

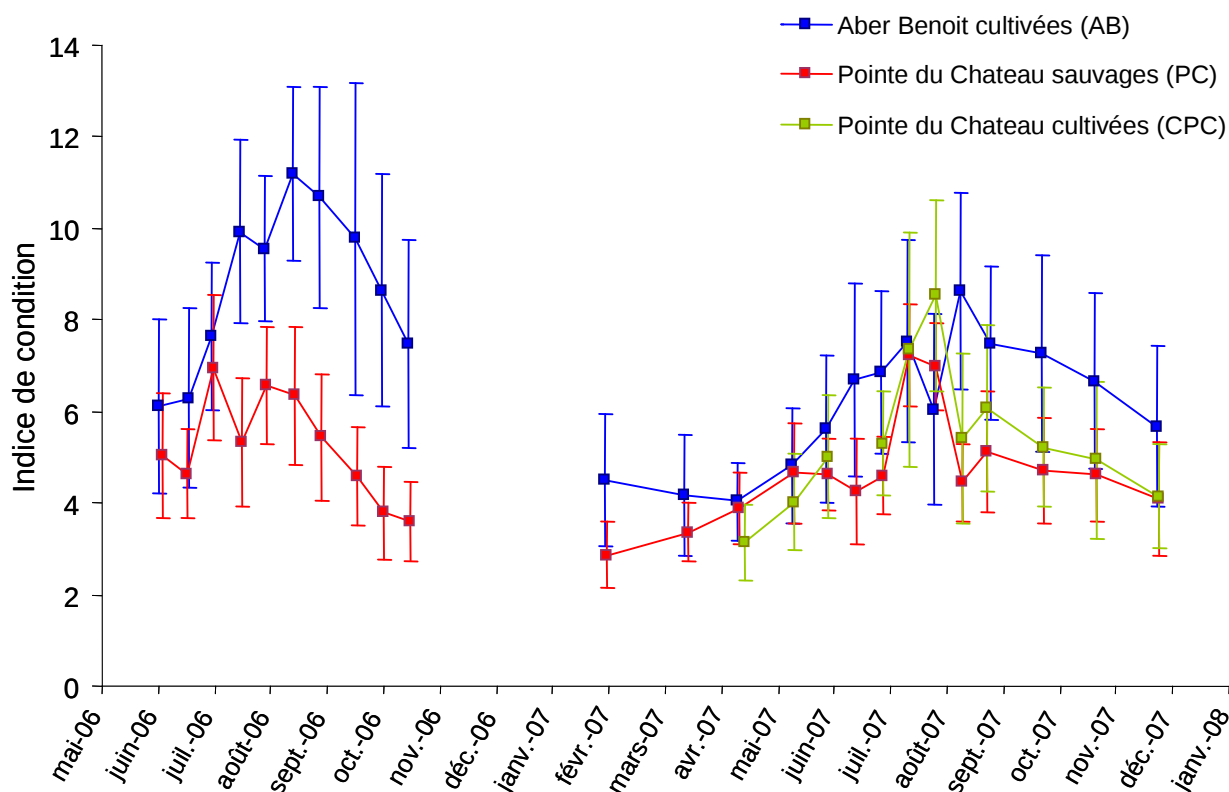


Figure II.7 : Evolution de l'indice de condition moyen des huîtres de la Pointe du Château, sauvages et cultivées, et de l'Aber Benoît en 2006 et 2007. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

En 2007, les valeurs d'IC ont également été significativement supérieures (ANOVA, $p < 0,05$) pour les huîtres cultivées de l'Aber Benoît (AB) par rapport aux huîtres sauvages de la Pointe du Château (PC) du 4 juin 2007 au 28 novembre 2007 excepté le 17 juillet 2007. Par contre, il n'y a pas de différence significative du 21 mars 2007 au 16 mai 2007. Aucune différence significative n'a été constatée entre les IC des huîtres cultivées (CPC) et sauvages (PC) de la Pointe du Château à l'exception de la période du 31 juillet 2007 au 27 août 2007 où ils ont été supérieurs chez les huîtres cultivées. Par conséquent, les différences entre les huîtres cultivées de l'Aber Benoît (AB) et celles de la Pointe du Château (CPC) sont très

similaires de celles qui ont été observées entre les huîtres cultivées de l'Aber Benoît (AB) les huîtres sauvages de la Pointe du Château (PC).

La comparaison entre les deux années de suivi pour les huîtres de l'Aber Benoît (AB) et les huîtres sauvages de la Pointe du Château (PC) ne montre pas de différence significative entre les IC jusqu'à mi-juillet (figure II.7 et tableau II.2). A partir de fin juillet, les IC mesurés en 2006 ont été significativement supérieurs (ANOVA, $p < 0,05$) à ceux mesurés en 2007, à l'exception de fin juillet 2006 à la Pointe du Château où l'IC a été inférieur à celui de 2007 et des IC de fin septembre pour PC et fin octobre pour AB où il n'y a pas eu de différence significative.

Tableau II.1 : Comparaison inter-groupes des indices de condition des huîtres de la Pointe du Château, sauvages (PC) et cultivées (CPC), et de l'Aber Benoît, cultivées (AB). Les différences significatives indiquées par l'ANOVA sont précisées : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns : non significatif

	PC - CPC	PC - AB	CPC - AB
14 juin 2006		*	
27 juin 2006		***	
11 juillet 2006		ns	
26 juillet 2006		***	
8 août 2006		***	
24 août 2006		***	
6 septembre 2006		***	
26 septembre 2006		***	
10 octobre 2006		***	
24 octobre 2006		***	
6 février 2007		***	
21 mars 2007		ns	
17 avril 2007	ns	ns	*
16 mai 2007	ns	ns	ns
4 juin 2007	ns	*	ns
18 juin 2007		***	
3 juillet 2007	ns	***	***
17 juillet 2007	ns	ns	ns
31 juillet 2007	***	*	***
14 août 2007	*	***	***
27 août 2007	*	***	**
26 septembre 2007	ns	***	***
25 octobre 2007	ns	***	***
28 novembre 2007	ns	***	***

Tableau II.2 : Comparaison inter-annuelle des indices de condition des huîtres sauvages de la Pointe du Château (PC) et cultivées de l'Aber Benoît, cultivées (AB). Les différences significatives indiquées par l'ANOVA sont précisées : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns : non significatif

	PC 2006 - PC 2007	AB 2006 - AB 2007
mi-juin	ns	ns
fin juin	ns	ns
mi-juillet	ns	ns
fin juillet	***	***
mi-août	***	*
fin août	**	***
fin septembre	ns	***
fin octobre	*	ns

2.3. Analyse histologique qualitative de la gonade

Les comparaisons de la répartition des stades de maturité entre populations et entre les deux années de suivi par le test χ^2 ont donné des réponses identiques pour les mâles et les femelles (tableau II.3). En 2006, aucune différence significative n'a été mesurée entre la répartition des stades de maturité des femelles et des mâles ($\chi^2 = 3,5$ et $4,9$ respectivement; $p > 0,5$; 5 dl) de la Pointe du Château (PC) et de l'Aber Benoît (AB) (figure II.8 et II.9 et tableau II.3). En 2007, aucune différence significative n'a été mesurée entre la répartition des stades de maturité des femelles et des mâles ($\chi^2 = 2,9$ et $2,8$ respectivement; $p > 0,5$; 5 dl) des huîtres sauvages et cultivées de la Pointe du Château (figure II.10 et II.11 et tableau II.3). Par contre, elles ont différé toutes deux de la répartition des stades de maturité des huîtres de l'Aber Benoît ($\chi^2 = 34,5$ (PC-AB) et $35,9$ (CPC-AB) pour les femelles; $p < 0,001$; 5 dl) et ($\chi^2 = 32,7$ (PC-AB) et $39,9$ (CPC-AB) pour les mâles; $p < 0,001$; 5 dl) (figure II.10 et II.11 et tableau II.3).

Plus de 40% des femelles de l'Aber Benoît (AB) présentaient un stade de résorption des ovocytes (stade 5) de février à la mi-avril, puis en septembre et octobre, tandis que ce stade n'était pas observé à la Pointe du Château (PC et CPC) (figure II.10). Par ailleurs, mi-août, 100% des femelles de l'Aber Benoît (AB) étaient encore en stade de maturité maximale (stade 3) tandis qu'il n'en restait plus que 27% chez les huîtres sauvages (PC) de la Pointe du Château et que ce stade avait disparu chez les huîtres cultivées (CPC). Les tendances observées chez les femelles sont similaires chez les mâles, où plus de 30% des individus de l'Aber Benoît étaient en stade 5 de février à mi-avril puis en septembre et octobre tandis que ce stade n'était pas observé à la Pointe du Château (PC et CPC) (figure II.11). La maturité des mâles de l'Aber Benoît semble aboutir un peu plus tardivement qu'à la Pointe du Château puisqu'il faut attendre fin juillet pour que tous les individus soient au stade 3 tandis que cette proportion était atteinte mi-juillet pour ceux de la Pointe du Château (PC et CPC).

La comparaison des deux années de suivi a montré une différence significative entre la répartition des stades de maturité entre 2006 et 2007 chez les femelles et les mâles ($\chi^2 = 17,1$ et $12,8$ respectivement; $p < 0,001$; 5 dl) des huîtres sauvages de la Pointe du Château (PC) (tableau II.3). Des individus au stade 3 ont été observés jusqu'à fin septembre chez les femelles (figure II.8) et fin août pour les mâles (figure II.9) en 2006 alors qu'il n'y en a eu que jusqu'à mi-août en 2007 pour les deux sexes (figure II.10 et II.11). La comparaison des deux années de suivi des huîtres de l'Aber Benoît a également montré une différence significative entre la répartition des stades de maturité des femelles et des mâles ($\chi^2 = 17,3$ et $11,5$

respectivement; $p < 0,001$; 5 dl) (tableau II.3). Cette différence est principalement due à la présence du stade 5 en fin d'année 2007 aussi bien chez les mâles que chez les femelles car le test devient non significatif lorsque ce stade est retiré du jeu de données.

Tableau II.3 : Comparaison inter-groupes et inter-annuelle de l'évolution des stades de gamétogénèse des huîtres mâles et femelles de la Pointe du Château, sauvages (PC) et cultivées (CPC), et de l'Aber Benoît, cultivées (AB). Les différences significatives obtenues par le test du χ^2 sont précisées : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns : non significatif

	Femelles				
Mâles	PC 2007	CPC 2007	AB 2007	PC 2006	AB 2006
PC 2007		ns	***	***	
CPC 2007	ns		***		
AB 2007	***	***			***
PC 2006	***				ns
AB 2006			***	ns	

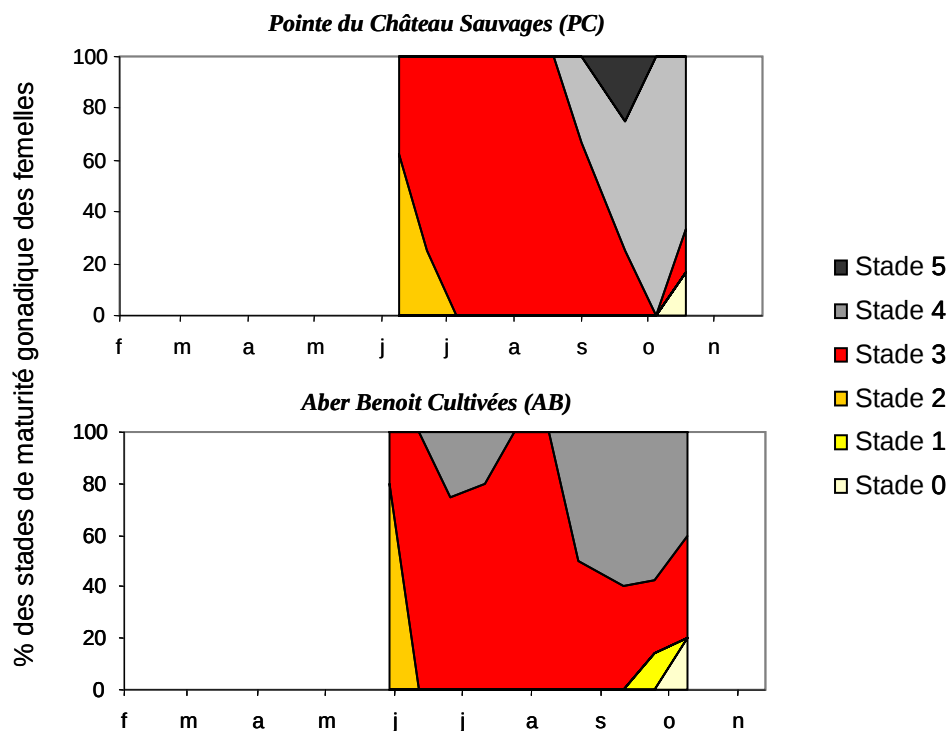


Figure II.8 : Evolution des stades de gamétogenèse des femelles à la Pointe du Château et à l'Aber Benoit en 2006.

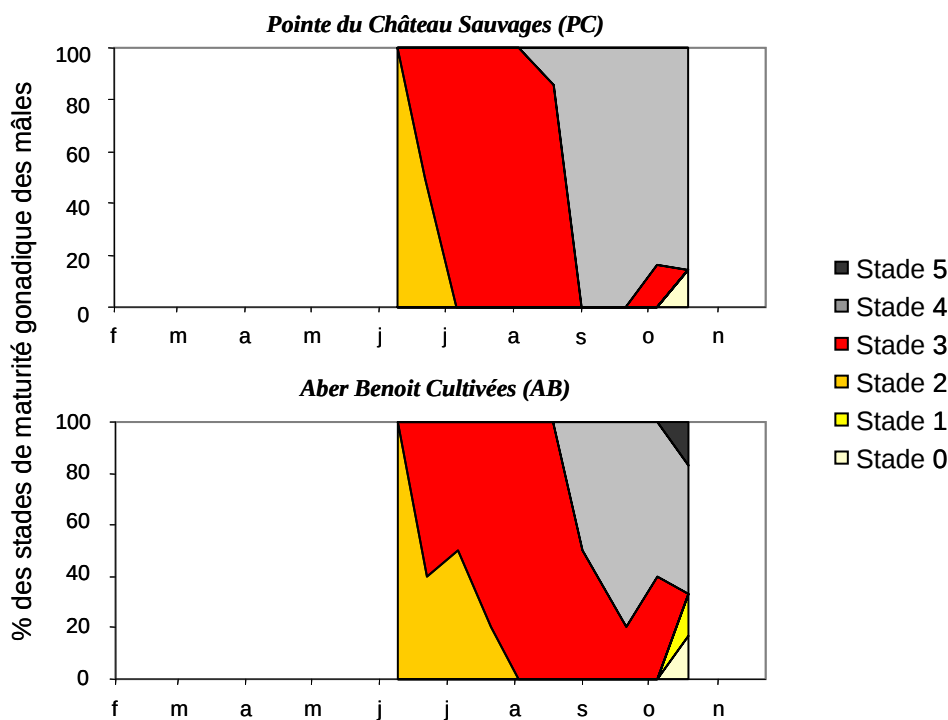


Figure II.9 : Evolution des stades de gamétogenèse des mâles à la Pointe du Château et à l'Aber Benoit en 2006

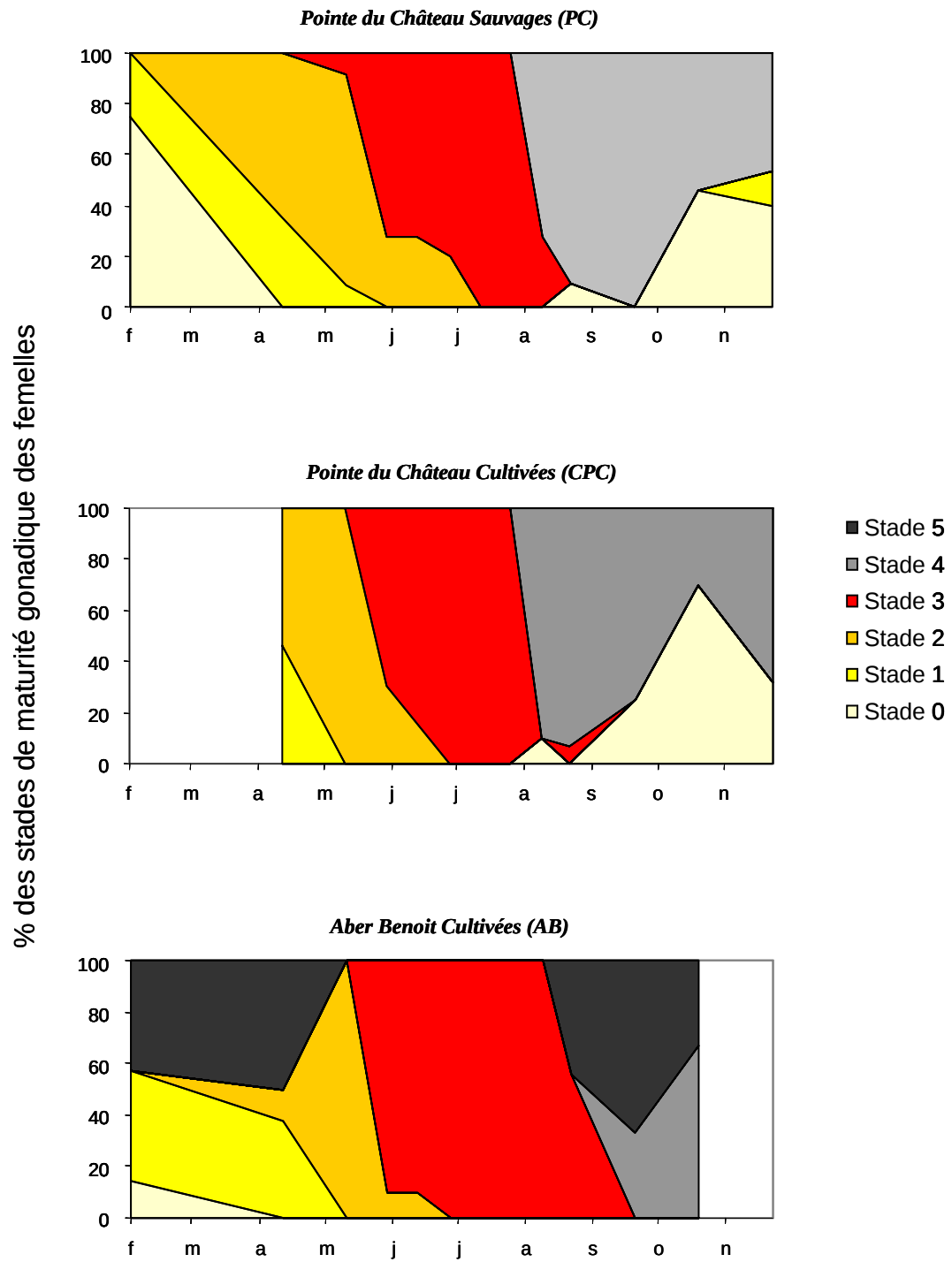


Figure II.10 : Evolution des stades de gamétogenèse des femelles à la Pointe du Château et à l'Aber Benoit en 2007

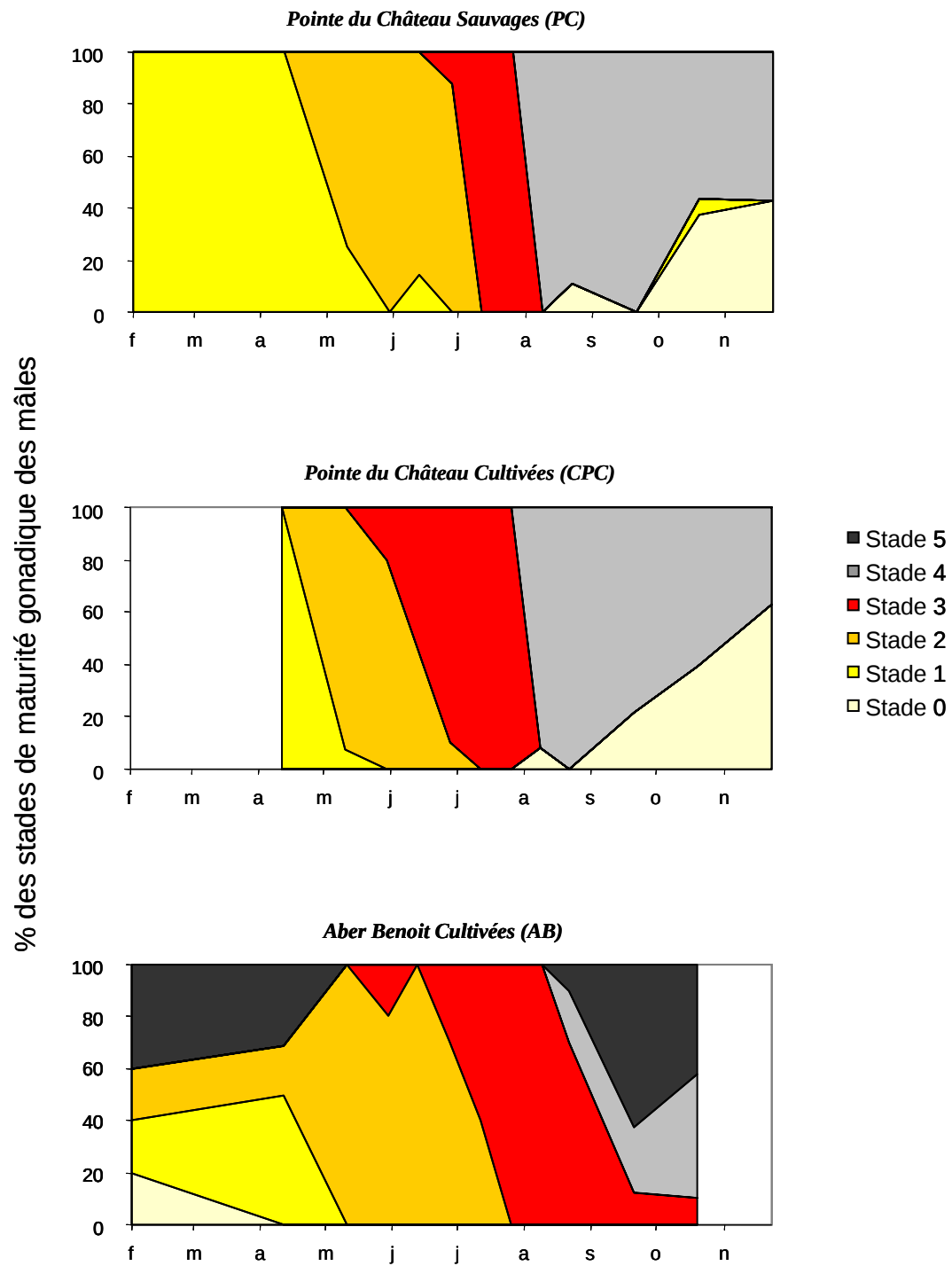


Figure II.11 : Evolution des stades de gamétogenèse des males à la Pointe du Château et à l'Aber Benoît en 2007

2.4. Indice gonado-somatique obtenu par ELISA (Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay)

Sur l'année 2007, à l'exception du 31 juillet, les indices gonado-somatiques (IGS) des huîtres de la Pointe du Château (PC et CPC) n'ont pas été significativement différents (figure II.12 et tableau II.4). Par conséquent, les différences observées entre les IGS des huîtres cultivées de l'Aber Benoît (AB) et celles de la Pointe du Château (PC et CPC) sont identiques. Ainsi les IGS des huîtres de l'Aber Benoît (AB) ont été significativement supérieurs (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$) à ceux des huîtres de la Pointe du Château (PC et CPC) du 14 août au 26 septembre 2007.

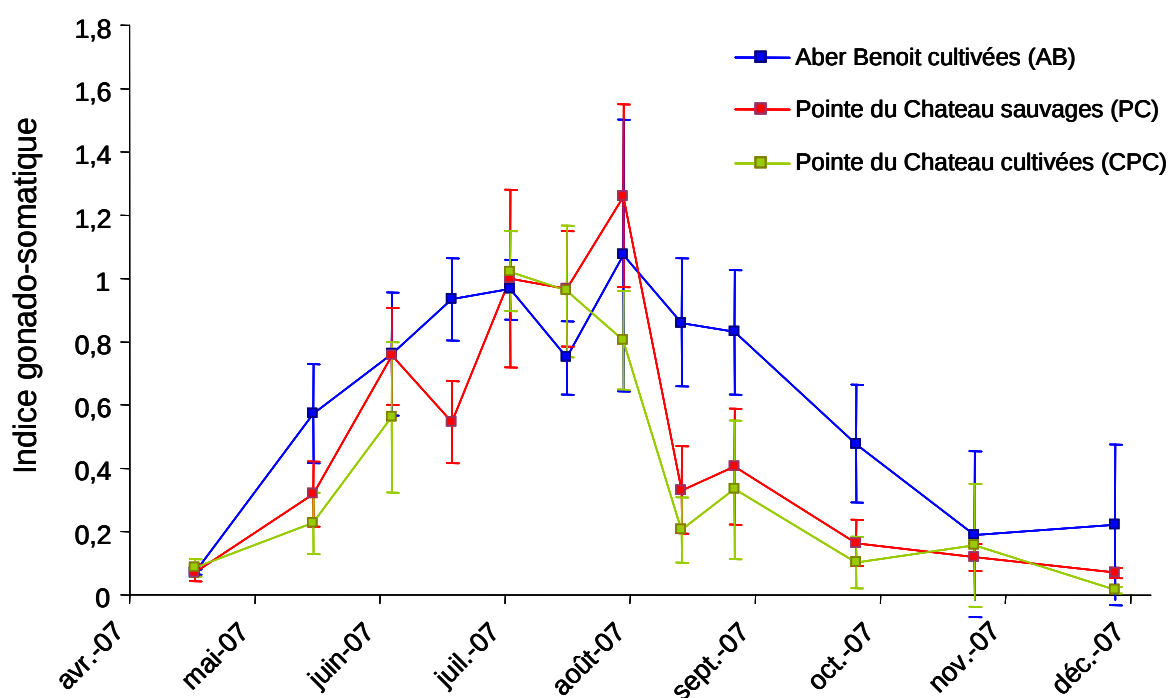


Figure II.12 Evolution de l'indice gonado-somatique obtenu par ELISA des huîtres de la Pointe du Château, sauvages et cultivées, et de l'Aber Benoît, cultivées en 2007. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

2.5. Test de fécondation

Le taux de fécondation deux heures après la mise en contact des gamètes a été significativement plus élevé (57%, Kruskal-Wallis, $p < 0,05$) pour le croisement 1 (femelles PC x mâles PC) que pour tous les autres croisements (figure II.13). Le taux le plus faible, avec 16 % des ovocytes fécondés, a été observé pour le croisement 2 (femelles AB x mâles AB).

Tableau II.4 Comparaison inter-groupes des indices gonado-somatique des huîtres de la Pointe du Château, sauvages (PC) et cultivées (CPC), et de l'Aber Benoît, cultivées (AB). Les différences significatives obtenues par un test de Kruskal-Wallis sont précisées : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; ns : non significatif

	PC - CPC	PC - AB	CPC - AB
17 avril 2007	ns	ns	ns
16 mai 2007	ns	ns	ns
4 juin 2007	ns	ns	ns
18 juin 2007		**	
3 juillet 2007	ns	ns	ns
17 juillet 2007	ns	ns	ns
31 juillet 2007	***	ns	ns
14 août 2007	ns	***	***
27 août 2007	ns	***	***
26 septembre 2007	ns	*	**
25 octobre 2007	ns	ns	ns
28 novembre 2007	ns	ns	ns

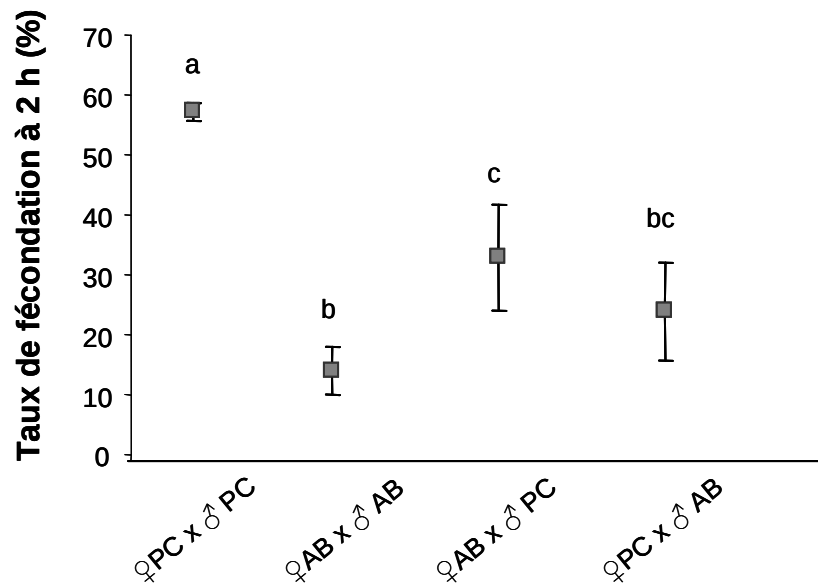


Figure II.13 Taux de fécondation obtenus pour les différents croisements 2h après la mise en contact des gamètes. Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les valeurs (Kruskal-Wallis, $p < 0.005$). Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

3. Discussion

On observe des différences dans le déroulement de la gamétogenèse, entre la Pointe du Château et l'Aber Benoît, corrélées avec les différences de températures pouvant atteindre 2 à 3°C supplémentaires à la Pointe du Château, pendant la période de gamétogenèse active d'avril à octobre. Chez *C. gigas*, comme chez de nombreux bivalves marins, il est reconnu que la température de l'eau est le principal facteur environnemental affectant le développement gonadique (Mann 1979; Muranaka et Lannan 1984; Fabioux et al. 2005).

L'indice de condition a révélé qu'il existait des différences inter-sites des profils de développement gonadique mais également interannuelles au sein d'un même site. Il est à noter que l'origine des huîtres n'a pas eu d'influence sur leur gamétogenèse étant donné que les huîtres sauvages (PC) de la Pointe du Château ont présenté un cycle reproductif identique à celui des huîtres cultivées (CPC), originaires de Marennes-Oléron, sur ce même site. Une augmentation progressive des indices de condition a été observée jusqu'au milieu de l'été dans les trois groupes d'huîtres et pendant les deux années de suivi (2006 et 2007). Si l'indice de condition constitue une estimation globale de l'état physiologique des animaux, il permet également de suivre la gamétogenèse (Lucas et Beninger 1985). Ainsi, les efflorescences phytoplanctoniques printanières engendrent une ingestion de matière énergétique, qui est alors redirigée prioritairement vers le compartiment gonadique où la gamétogenèse s'accélère et les maturations ovocytaires se produisent (Costil et al. 2005). L'augmentation de l'indice de condition pendant cette période a été largement décrite chez *C. gigas* (Ruiz et al. 1992; Lango-Reynoso et al. 1999; Steele et Mulcahy 1999). L'indice de condition arrive à son maximum début août en Bretagne puis il diminue brusquement au moment de la ponte, lors de l'expulsion des gamètes. Dans notre étude, cette évolution de l'indice de condition n'a été observée qu'à la Pointe du Château en 2007. L'analyse histologique des gonades des individus mâles et femelles a révélée qu'il y avait bien eu une ponte massive entre la fin juillet et mi-août 2007. Inversement, à l'Aber Benoît, pendant les deux années de suivi, ainsi qu'à la Pointe du Château en 2006, l'indice de condition n'a diminué que très progressivement tout au long de l'automne ne révélant aucune émission massive estivale de gamètes. Des individus présentant des ovocytes matures (stade 3), ont en effet été observés jusqu'au mois d'octobre.

Lorsque les gamètes ne sont pas émis, on assiste à un phénomène de résorption, permettant à l'huître de réutiliser l'énergie présente dans ces gamètes pour réinitier un nouveau cycle sexuel. Les huîtres de l'Aber Benoît qui ne pondent pas ou très peu présentent une proportion de plus de 20% des individus en stade de résorption gonadique (stade 5) jusqu'au mois de mai 2007. Les huîtres de l'Aber Benoît présentent une gamétogenèse atypique, car ce phénomène de résorption a été observé dans d'autres zones froides où est élevée *C. gigas*, notamment en Irlande (Steele et Mulcahy 1999) mais il ne se prolongeait pas aussi longtemps dans l'année. L'hypothèse émise par Chavez-Villalba et al. (2000) est que la ressource trophique étant particulièrement abondante dans cette région, la résorption est spécialement lente car l'huître dispose de suffisamment d'énergie dans sa prise alimentaire.

L'abondance de la ressource trophique est également révélée par la comparaison des indices de condition (IC) et des indices gonado-somatiques (IGS) en 2007. En effet, l'analyse de l'évolution des IC indiquait que dès le début du mois de juin et jusqu'au mois de novembre, l'IC des huîtres de l'Aber Benoît était significativement supérieur à celui des huîtres de la Pointe du Château. Cette seule analyse ne permettait pas de se prononcer sur le fait que cette différence soit due à une production gonadique ou à un 'embonpoint' plus important chez les huîtres de l'Aber Benoît. La quantification des œufs par ELISA a montré que, excepté de mi-août à fin septembre, lorsque les huîtres de la Pointe du Château ont pondu, les IGS des huîtres de la Pointe du Château et de celles de l'Aber Benoît n'étaient pas significativement différents. Ainsi, le développement gonadique, en rapport de biomasse, est identique dans les deux sites et l'abondance trophique remarquable dans le site de l'Aber Benoît explique les indices de condition élevés dans ce site, tendance particulièrement nette en 2006. Une étude réalisée sur des populations sauvages d'huîtres françaises et hollandaises avait mis en évidence un gradient nord-sud décroissant de la taille de la masse gonadique et des diamètres ovocytaires corrélé à la température de l'eau (Cardoso et al. 2007) mais cette tendance n'a pas été retrouvée ni par Lango-Reynoso et al. (2000) ni par Meistertzheim (2008). Les écart-types de taille équivalente, pour les valeurs d'IGS des trois groupes d'huîtres, permettent également d'expliquer les très grands écart-types de l'IC des huîtres de l'Aber Benoît par des disparités inter-individuelles de l'embonpoint et non de la gamétogenèse ou d'une ponte partielle pour quelques individus de la population. La détermination de l'IGS par l'ELISA permet donc une estimation du développement gonadique beaucoup plus précise que l'IC chez *C. gigas* (Kang et al. 2003; Royer et al. 2008).

Cependant, cette méthode n'est pour l'instant applicable que chez les femelles car les anticorps spécifiques des gamètes mâles n'existent pas encore.

Les suivis de la gamétogenèse par les IC, IGS et analyse histologique ont donc montré qu'il n'y a eu de ponte massive que pendant l'été 2007 à la Pointe du Château alors que l'analyse des températures estivales de l'eau a pourtant révélé que l'été 2006 a été beaucoup plus chaud que l'été 2007. Si une température seuil minimale comprise entre 18 et 20°C (Mann 1979) est nécessaire à l'émission des gamètes, Mann (1979) a montré qu'une durée d'exposition minimale était aussi déterminante pour obtenir des huîtres matures 'prêtes à pondre'. Il s'agit de la notion de degré-jour (Dj), correspondant à la somme des températures journalières de l'eau, du début de la gamétogenèse jusqu'à l'émission des gamètes, la température d'initiation ayant été estimée à 10,55°C (Mann 1979). Or, si les températures estivales ont été supérieures en 2006, en revanche l'hiver et le début du printemps ont été plus froids en 2006 qu'en 2007. Ainsi la température d'initiation de la gamétogenèse a été atteinte dès la mi-février en 2007 mais uniquement à partir de la mi-avril en 2006. Lors de la ponte des huîtres de la Pointe du Château début août 2007, la valeur de Dj était de l'ordre de 2 200 Dj. Cette valeur a été atteinte au même moment sur le site de l'Aber Benoît mais la température de l'eau ne dépassant pas 17,5°C, les gamètes n'ont pas été émis. En 2006, les 2 200Dj n'ont pas été atteints avant la mi-septembre à la Pointe du Château et début octobre à l'Aber Benoît. La température de l'eau étant encore supérieure à 18,5°C en septembre à la Pointe du Château, l'émission des gamètes a été possible d'où l'observation d'individus en stade 4 lors de l'analyse histologique. Cependant, la libération des gamètes a été partielle car aucun phénomène de ponte massive n'a été observé par le suivi de l'indice de condition. A l'Aber Benoît en revanche, la température de l'eau ne dépassant pas 16°C, des individus matures en stade 3 ont été observés jusqu'au mois d'octobre. Des individus au stade 4 ont cependant été révélés par l'analyse histologique dès la mi-août. Ces pontes très partielles n'apparaissent pas dans le suivi de l'indice de condition. La valeur de DJ que nous avons obtenue est très proche de celles obtenues dans des études précédentes : pour Muranaka et Lannan (1984), cette valeur est de l'ordre de 2 390 DJ, pour Lubet (1991), elle est de 1 900 DJ, et pour Héral *et al.* (1986), elle est comprise entre 2 200 et 2 900 DJ en baie de Marennes-Oléron entre 1971 à 1984.

Le test de fécondation réalisé début août 2007 a montré que les croisements effectués avec les gamètes issus de la population de l'Aber Benoît donnaient des taux de fécondation

plus faibles que le croisement des mâles et femelles de la Pointe du Château. Ainsi, malgré le fait que les 2 200Dj aient été atteints au même moment dans les deux sites, les gamètes des huîtres de l'Aber Benoît semblaient moins mûres ou de moins bonne qualité que ceux de la Pointe du Château. Par ailleurs, les individus ont été prélevés le 31 juillet 2007 et sont restés 8 jours en eau courante à 17°C au laboratoire. Alors que l'émission massive des gamètes a eu lieu dans la population sauvage, les huîtres au laboratoire n'ont pas pondu. Si le seuil de température n'a pas été atteint, un autre facteur susceptible de déclencher la ponte était absent au laboratoire. Il s'agit des chocs thermiques, bien connus en éclosion pour déclencher les pontes. En effet, début août 2007, les températures de l'air étaient particulièrement élevées et les huîtres ont subi des écarts thermiques de plus de 6°C lorsque la mer les recouvrait en fin d'après-midi. Ces chocs thermiques qui n'ont pas été observés pendant l'été 2006 pourraient avoir été un des facteurs déclenchant la ponte.

Dans un contexte de réchauffement climatique, Diederich et al. (2005) ont montré que l'augmentation des températures estivales depuis le début des années 90 avait accéléré la prolifération des populations sauvages de *C. gigas* en Mer de Wadden. Nos travaux ont montré que si la température seuil minimale est nécessaire au déclenchement de l'émission des gamètes, les températures hivernales et du début de printemps conditionnent l'initiation de la gamétogenèse et la cinétique du développement gonadique. En Mer d'Iroise, depuis l'introduction de *C. gigas* au début des années 70, l'augmentation nette des températures de surface ne s'est également produite que depuis le début des années 90 (figure II.14). Cette augmentation concerne toutes les saisons de l'année avec une tendance plus marquée pour la saison hivernale (+ 1°C). Ainsi, le réchauffement des eaux de l'Iroise a permis de dépasser la température seuil minimale de 18-20°C nécessaire à la ponte mais également d'initier plus précocement la gamétogenèse et d'accélérer le développement gamétique.

Si ces deux conditions (hiver plus doux et été plus chaud) ne sont pas encore réunies chaque année en Rade de Brest et plus largement en Bretagne, le réchauffement des eaux côtières, depuis le début des années 90, a accéléré le phénomène de prolifération de *C. gigas* sur les côtes bretonnes et seule la région des Abers dans le Finistère nord où les températures estivales de l'eau dépassent rarement les 17,5°C est encore indemne de cette invasion.

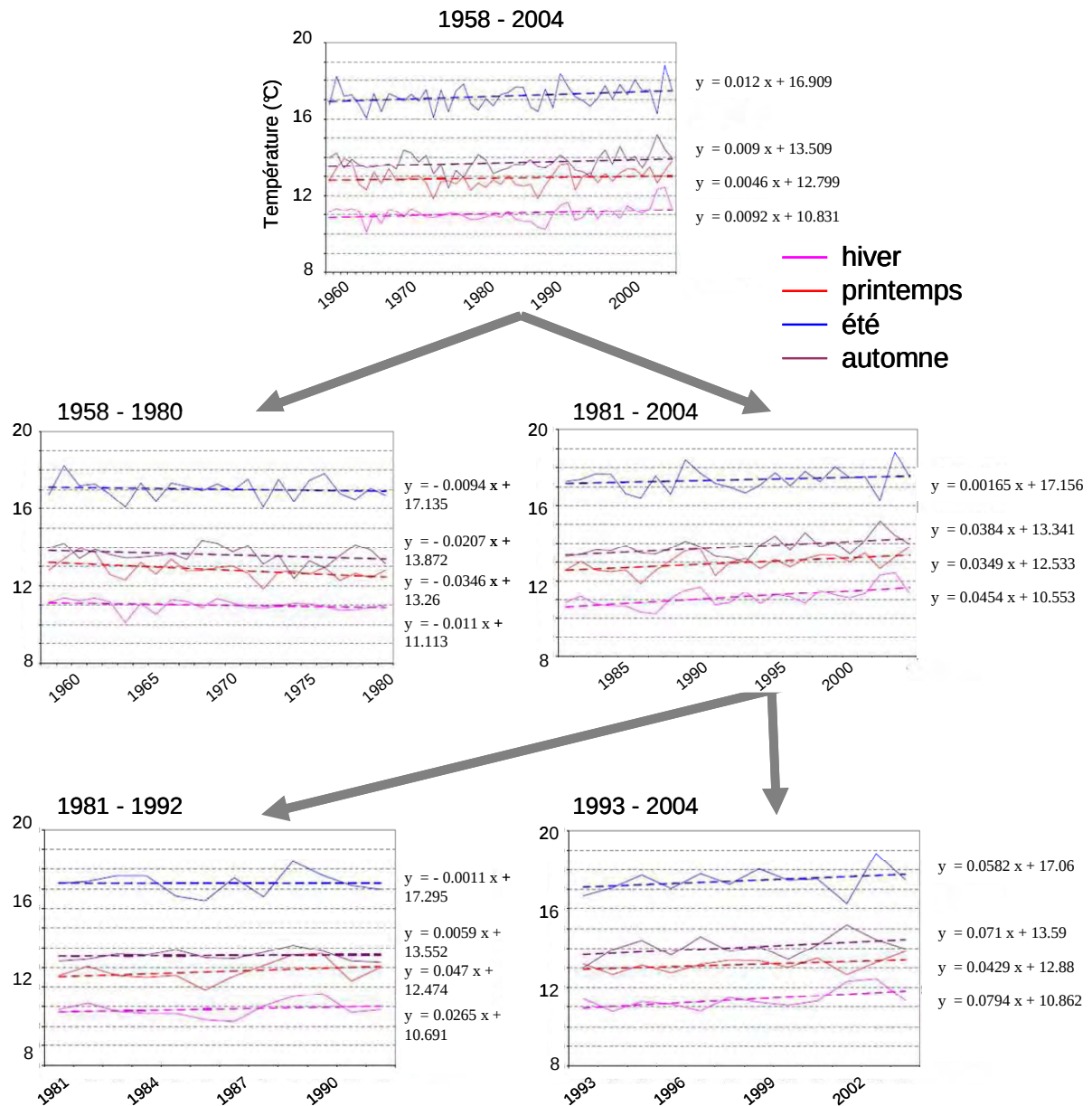


Figure II.14 Evolution, entre 1958 et 2004, des températures moyennes annuelles de surface en mer d'Iroise selon la saison. D'après Esnault (2005).

Chapitre 2 : Quelle est l'influence des paramètres biotiques et abiotiques sur le recrutement de *Crassostrea gigas* ?

Introduction

Si l'intensité des pontes et le développement larvaire conditionnent l'abondance des propagules qui arrivent à proximité des estrans, le recrutement des huîtres sur le substrat est la phase déterminante de l'amplitude de la colonisation de ces estrans par *C. gigas*. Avant de se fixer sur un substrat, les larves vont en effet explorer les surfaces benthiques jusqu'à trouver les conditions les plus optimales à leur survie post-fixation (Tamburri et al. 1992). Cette exploration peut durer plusieurs jours pendant lesquels la larve est encore mobile avant de se fixer définitivement. Afin de mieux comprendre les facteurs déterminant la distribution verticale et horizontale de *C. gigas* sur les estrans bretons, nous avons testé l'influence de la bathymétrie, de la prédation et de la nature du substrat sur le recrutement et la croissance des naissains de *C. gigas*.

Le terme de recrutement des naissains, employé dans cette étude, correspond au résultat, après un temps choisi par l'expérimentateur, de la fixation des larves sur le substrat et de leur survie après la fixation, influencée par des pressions biotiques et abiotiques.

1. Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée de juillet 2006 à mai 2008, sur le site de la Pointe du Château en Rade de Brest (figure II.1).

Afin de tester l'influence de l'émersion, des collecteurs ont été placés à deux niveaux sur l'estran : intertidal et subtidal. Le niveau intertidal était situé au milieu de la bande de colonisation dense de *C. gigas* correspondant à un niveau bathymétrique d'environ 3,5 m. Le niveau subtidal se situait juste sous la limite des basses mer de vives-eaux (figure II.15).

Afin de tester l'influence de la prédation sur le recrutement, 6 collecteurs ostréicoles, composés de 20 coupelles en plastique d'un diamètre de 15 cm, ont été mis en place en juillet 2006, au niveau intertidal. Deux étaient protégés par des poches ostréicoles d'une maille de 6mm dès l'installation, deux ont été protégés à partir du mois d'octobre 2006 (après les premiers comptages et mesures des naissains) et les deux derniers n'ont pas été protégés (figure II.15 et II.16A). En juin 2007, seuls 2 collecteurs non protégés ont été placés sur le site pour comparer les recrutements des deux années. Au niveau subtidal, trois collecteurs ont été mis en place en juillet 2006. Deux collecteurs ont été laissés sans protection et le troisième a été protégé dès l'installation par une poche ostréicole d'une maille de 6 mm.

Afin de tester l'influence du facteur substrat sur le recrutement, des collecteurs spéciaux ont été créés. Il s'agit de parpaings, d'une surface de 0,1 m², sur lesquels ont été fixées, au niveau intertidal sept types de substrats : des huîtres vivantes (H), des valves supérieures (ou valves plates, Vs) et inférieures (ou valves creuses, Vi) de coquilles d'huîtres, des moules vivantes (M), de la roche débarassée de ses épibiontes (R), et de la roche colonisée par des balanes (B) ou des *Fucus vesiculosus* (F) (figure II.15 et II.16B). Au niveau subtidal, 3 types de substrats ont été installés : des huîtres vivantes (H), de la roche débarassée de ses épibiontes (R), et de la roche colonisée par un feutrage d'algues rouges (A). Une série de 5 collecteurs, pour chaque substrat, a été positionnée aux deux niveaux bathymétriques, soit 35 parpaings au niveau intertidal et 15 au niveau subtidal.

Un nettoyage mensuel (bimensuel pendant la période estivale), des poches ostréicoles et des collecteurs, a été effectué dès le mois de juillet 2006 afin d'éviter que les entéromorphes ne s'y développent. Les naissains présents sur les collecteurs intertidaux ont

été comptés et mesurés (longueur maximale) avec un pied à coulisse aux mois d'octobre 2006 (uniquement les collecteurs ostréicoles, figure II.17A) et février 2007. Les naissains ont été échantillonnés le 2 mai 2007 sur les collecteurs subtidaux (figure II.17B) puis identifiés par une réaction en chaîne par polymérase en temps réel (qPCR) couplée à la technologie Taqman sur des séquences d'ADNr 18s.

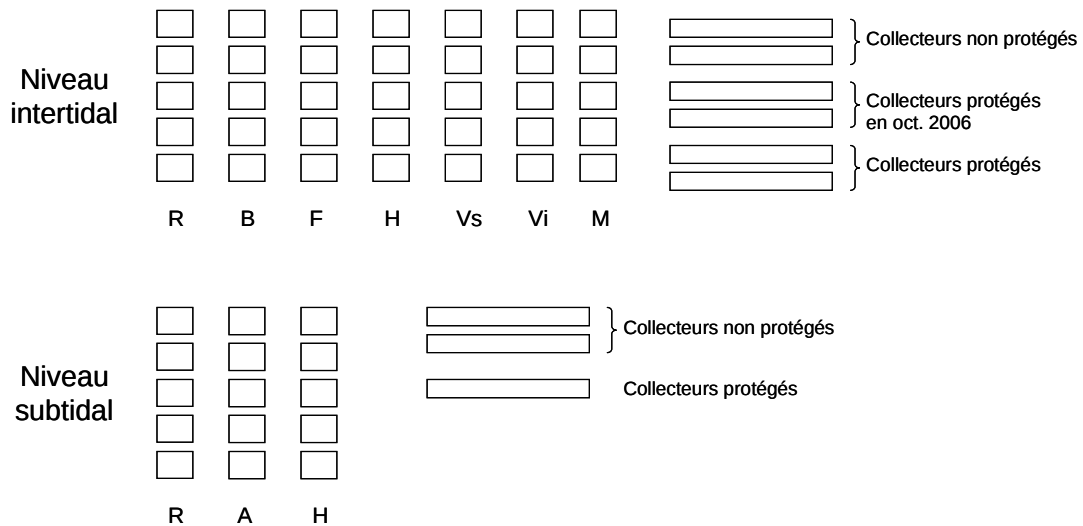


Figure II.15 : Disposition des collecteurs sur l'estran. R représente de la roche, débarrassée de ses épibiontes, fixée sur des parpaings d'une surface de 0,1 m². B, de la roche colonisée par des balanes. F, de la roche colonisée par *Fucus vesiculosus*. H, des huîtres vivantes. Vs et Vi, des valves supérieures et inférieures de coquilles d'huîtres, respectivement. M, des moules vivantes. A, de la roche colonisée par un feutrage d'algues rouges.

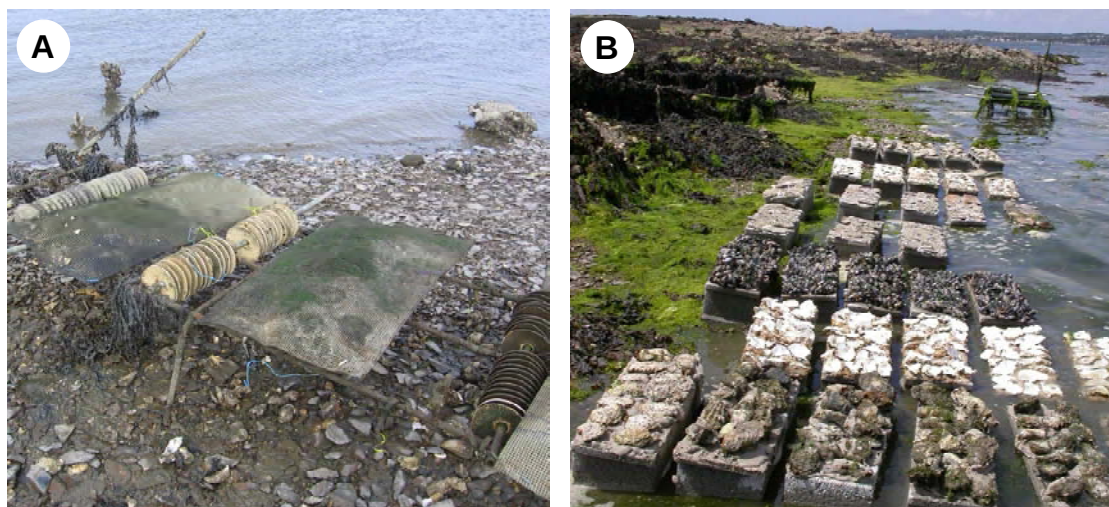


Figure II.16 : Mise en place des collecteurs intertidaux en juillet 2006. (A) Collecteurs ostréicoles composés par des coupelles en plastique, protégés ou non par des poches ostréicoles. (B) Parpaings recouverts des différents substrats.

Fin juin 2007, les collecteurs ostréicoles ont été remplacés et les valves supérieures et inférieures de coquilles d'huîtres ainsi que les plaques de roche nue, fixées sur les parpaings, ont été nettoyées afin de retirer les balanes et fucales qui les avaient colonisées. Les collecteurs sur lesquels ont été fixés, avec du fil de fer, des assemblages de moules d'une quinzaine de centimètres d'épaisseur, ont été protégés avec des poches ostréicoles d'une maille de 6 mm afin de limiter la prédation. En effet, en juillet 2006, les moules avaient été consommées en moins de 10 jours par des crabes, de l'espèce *Carcinus maenas* principalement, et n'avaient donc pu servir de substrat au recrutement des huîtres.

Les comptages et mesures (longueur maximale) des naissains ont été effectués aux mois de novembre 2007 (uniquement les collecteurs ostréicoles) et mai 2008.

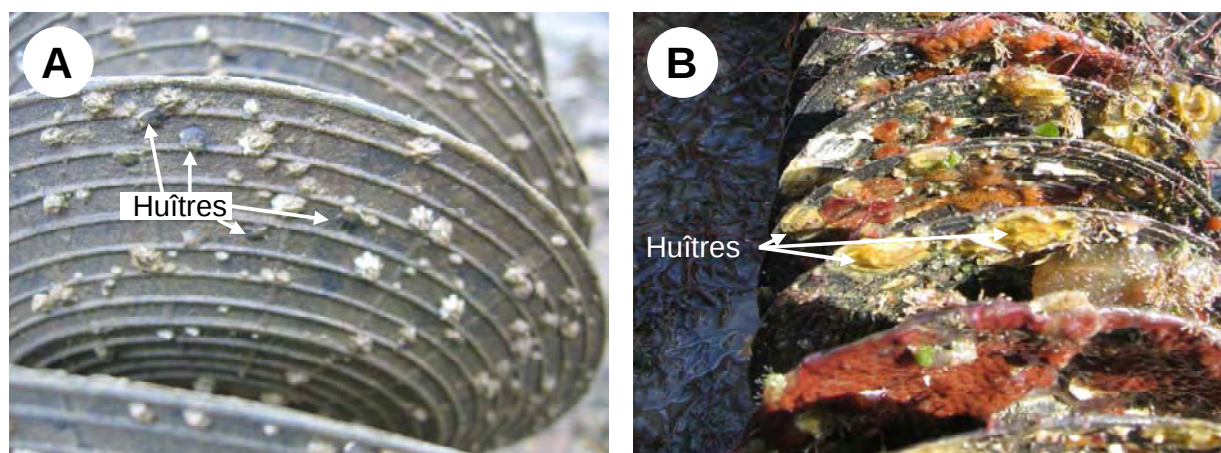


Figure II.17 : Naissains présents sur les collecteurs ostréicoles des niveaux intertidal (A) et subtidal (B) au mois d'octobre 2006.

Analyses statistiques

Les valeurs de longueur des naissains et leur comptage sur les collecteurs ostréicoles suivant une loi normale, une ANOVA a été réalisée afin de mettre en évidence des différences significatives entre les différents traitements. L'hypothèse de normalité ayant été rejetée pour les comptages des naissains sur les collecteurs 'parpaings', des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont été appliqués.

2. Résultats

2.1. Effet de la bathymétrie sur le recrutement

Sur les 355 naissains récoltés sur les collecteurs subtidaux, 270 se sont révélés être des *Ostrea edulis* (Linné, 1758), un était de l'espèce *Anomia ephippium* (Linné, 1758) et 64 étaient probablement des *Heteranomia squamula* (Linné, 1758) et/ou *Monia patelliformis* (Linné, 1773). Aucun naissain n'a été identifié comme étant de l'espèce *C. gigas*.

Ces résultats ont fait l'objet d'une note soumise dans le journal « Molecular Ecology Resources » et présentée ci-dessous.

Discrimination between the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, and European oyster, *Ostrea edulis*, at an early developmental stage using Taqman real-time PCR

Morgane Lejart ¹, Anne Leila Meistertzheim ¹ and Christian Hily ¹

¹Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, UMR CNRS 6539, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, 29280 Plouzané, France

Correspondence

M. Lejart, Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, UMR CNRS 6539, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

Tel : +33 2 98 49 88 18

Fax : +33 2 98 49 86 45

E-mail : morgane.lejart@gmail.com

Abstract

Considering the difficulty to identify oyster larvae and spat by morphological examination, we developed a simple molecular genetic method to identify European oyster, *Ostrea edulis* (L., 1758) and Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (T., 1793) spats using real-time polymerase chain reaction (qPCR) assay. qPCR was undertaken using Taqman technology on 18S rDNA sequences. Taqman qPCR method was successful in identifying species and can be applied in the management of oyster aquaculture, invasive species and conservation.

Crassostrea gigas was intentionally introduced in France at the end of the 1960s to replace cultivated oyster stocks that suffered catastrophic declines due to disease outbreaks (Grizel and Heral 1991). Subsequent global warming facilitated the propagation of wild *C. gigas* populations (Diederich et al. 2005) along the French coastline. Recently, *C. gigas* has colonized a wide range of intertidal habitats. Its invasive properties can induce strong modifications in native communities (Reise 1998; Cognie et al. 2006; Kelly et al. 2008).

However, except in polyhaline estuaries (Smaal et al. 2009), settlement of *C.gigas* has never been described on subtidal substrata (Escapa et al. 2004). Various hypotheses could explain this repartition as the nature of the available surface, usually dominated by a dense cover of macroalgae and crust algae, or higher predation rate on spat (Diederich et al. 2005; Ruesink 2007). In this study we aimed to investigate the influence of substrate and predation on *C. gigas* settlement in the Bay of Brest, Brittany (France). Because the native species, *Ostrea edulis*, has a subtidal distribution, a diagnostic tool is required to identify different oyster species on spat collectors. Considering the difficulty of morphological identification of newly settled bivalves (Hu et al. 1993), we took advantage of DNA sequence polymorphism among species to develop molecular methods allowing the identification of the different oyster species (Livi et al. 2006; Wight et al. 2009). Three species within the family Anomiidae (*Anomia ephippium*, *Heteranomia squamula* and *Monia patelliformis*) are also found in the Bay of Brest and could be misidentified as oysters, at an early developmental stage, due to similarities in morphology. Therefore, the study also aims to detect them. Taqman probe is a qPCR method that uses fluorescent probes in the PCR reaction allowing two levels of specificity. First, specific primers are used for the initial amplification. The subsequent probe binding to complementary sequences generates a specific amplification signal. Previous studies demonstrated that Taqman qPCR method is faster and more specific for species identification than conventional PCR or time consuming morphological identification techniques (Valasek and Repa 2005).

To investigate the influence of substrate and predation on *C. gigas* settlement, different spat collectors were installed in the subtidal zone. Rock plates with all epibionts removed (R) and others covered with red algae (A), or living oysters (O) were cemented onto 0.1 m² concrete blocks and placed just under the mean lower low water (MLLW) line. Three oyster spat collectors were employed: two lacked predator protection coverings (NP1 and NP2) and one was placed in an oyster bag with a mesh of 6 mm to protect it from predators (P). The latter collected spat that settled directly on the inner surface of the bag protected from predators (B). On collection date (02 May 2007), oyster spat size was 12.33 mm (SD 6.3). Finally, adult specimens were collected and used as positive controls.

A reference collection of consensus sequences of the 18S rDNA gene available on Genbank was created using adult specimens of three species (*C. gigas*, *O. edulis* and *A. ephippium*), because the two other species of Anomiidae (*Heteranomia squamula* and *Monia patelliformis*) are unidentified in GenBank database. Three species-specific TaqMan®–MGB

probes and one common set of primers were designed using the Primer Express Version 2.0 software (Applied Biosystems). DNA was extracted from whole spat and adults using phenol/chloroform/isoamyl alcohol (25:24:1). Real-time PCRs consisted in 5.0 µL Taqman universal PCR Master Mix (Applied Biosystems); 600 nM of forward primer common for *C. gigas* and *O. edulis* (5'-CCC TTG GTG CTC TTG ACT GAG-3') and forward primer for *A. ephippium* (5'- CCC TTG GTG CTC TTG GTT GA-3') and reverse primer (5'- GGT CCT ATT CCA TTA TTC CAT GCA-3'); 100 nM of *C. gigas* probe (FAMTM dye-5'-AGG CGC TTC GCC TGT A-3'), *O. edulis* probe (VICTM dye-5'- CAG ACG AAT CGC C-3') and *A. ephippium* (NEDTM dye-5'-CTT TGC GCC TGA ATA A-3'); and 50 ng of sample DNA in a total volume of 10 µL. All amplifications were performed using a 7300 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA). After the initial DNA denaturation and an AmpliTaq Gold DNA polymerase activation step at 95 °C for 10 min, the amplification of the target DNAs was undertaken (40 cycles of: denaturation at 95 °C for 15 s, annealing and extension at 60 °C for 1 min). Runs included positive controls (three adults per species) and a negative control for contamination (water) DNA.

When no Taqman fluorescence signal was observed, real-time PCR analysis was performed with 50 ng DNA and 1X Absolute QPCR SYBR Green ROX Mix (ABgene, UK) and 70nM of each primer, in a total volume of 10 µL. Reactions conditions were the same as listed above with the exception that the initial activation step of 95 °C was performed for 15 min and followed with 45 cycles of amplification. To observe the peak characteristics of amplified DNA, a melting curve decreasing by 0.5°C every 10 sec was used, from 95 to 70°C. DNA was then separated on 1% agarose gels, and bands were extracted using Quiax II Gel extraction kit (Promega) according to the manufacturer's instructions. Sequencing was performed on extracted PCR products using BigDye sequencing reagents (Applied Biosystems). Sequences analyses of extracted DNA were determined by an automated sequencer (ABI 3130).

The real-time PCR assays developed in this study accurately identified all known adult control specimens. No *C. gigas* spat was found on collectors (Table 1). Between 52 to 96 % of the collected spat were identified as *O. edulis*; a single *A. ephippium* was found on bare rock plates. Of the 335 bivalves collected among the spat collectors, 64 (19.1%) could not be identified using our species-specific Taqman probes. The unknown bivalves constituted two supplementary haplotypes with more similarity with *A. ephippium* reference of 18S rDNA (Fig. 1).

Table.1. Proportion of each bivalve species (%) on the different collectors. Total number of spat collected on each collector is indicated.

	Number individuals collected	<i>O. edulis</i> (%)	<i>A. ephippium</i> (%)	<i>C. gigas</i> (%)	Unknown
Non-protected collector 1 (NP1)	53	96,3	0	0	3,7
Non-protected collector 2 (NP2)	36	88,9	0	0	11,1
Protected collector (P)	24	70,8	0	0	29,2
Oyster bag (B)	75	80,0	0	0	20,0
Rock (R)	81	79,0	1,2	0	19,8
Living oysters (O)	32	87,5	0	0	12,5
Red algae (A)	34	52,9	0	0	47,1

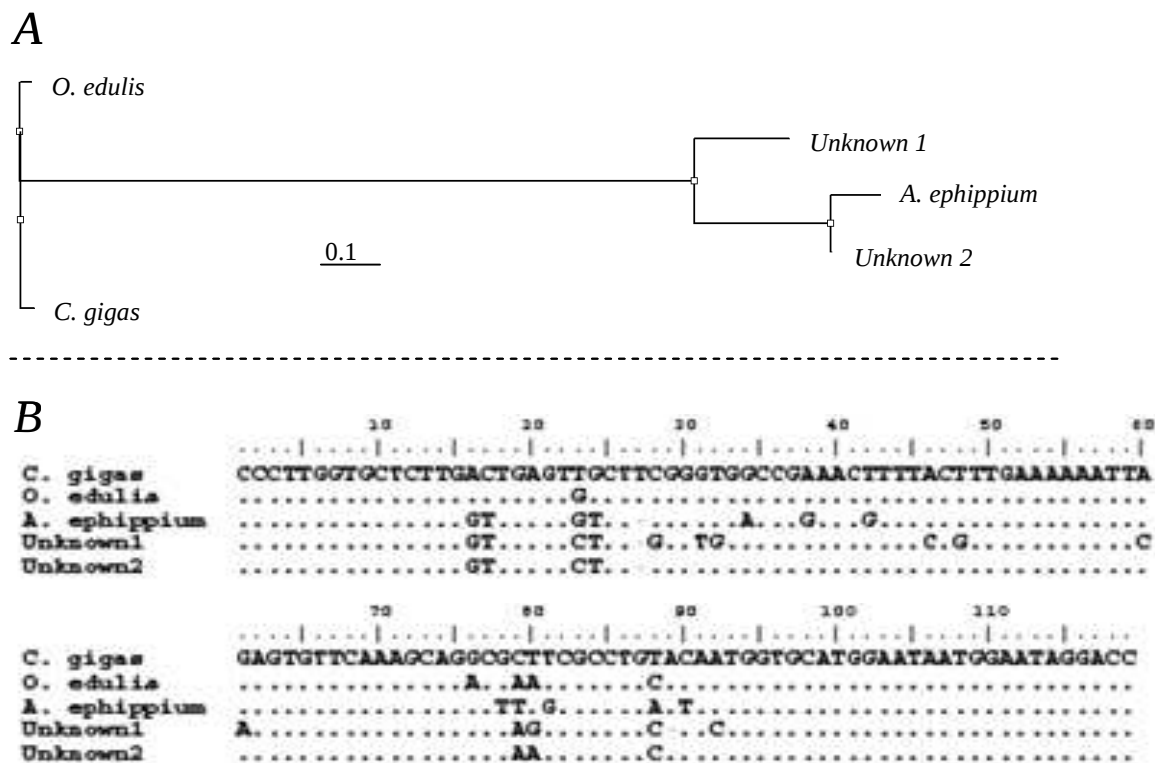


Figure 1. Phylogenetic tree based on Neighbor-Joining/UPGMA method (A) constructed with aligned sequences (B) of partial 18S mitochondrial ribosomal gene of *Crassostrea gigas*, *Ostrea edulis* and *Anomia ephippium* associated with two others haplotypes detected.

In this study, we developed molecular tools to accurately identify spat of three different bivalve species. The two uncharacterized species of bivalves observed on the spat

may correspond to the two other species of Anomiidae, *Heteranomia squamula* and *Monia patelliformis*, which are also found in the Bay of Brest.

The method has proven to be a straightforward, highly sensitive, cost-effective way to identify bivalve larvae and spat compared to other methods, such as determination of allozymes, conventional PCR or microscopy observations. In previous studies it allowed the identification and/or quantification of marine parasites (Audemard et al. 2004) and shellfish (Boudry et al. 1998; Vadopalas et al. 2006; Dias et al. 2008).

Even though we thoroughly prepared collector spat organised on different substratum and with or without protection from predation, no *C. gigas* spat was found. *C. gigas* appears to be a physiological intrinsically intertidal species as was suggested by Buroker (1985). Although some French cultivated *C. gigas* stocks are present in subtidal area, our data demonstrate that this species do not settle naturally there. The dynamic of *C. gigas* invasive process appears to be limited to the intertidal shore. The limited repartition of *C. gigas* prevents spatial competition with the European oyster on the subtidal area.

Acknowledgements

This research program was financially supported by the national program PROGIG (Prolifération de *Crassostrea gigas*, LITEAU II). Sincere thanks are due to C.S. Friedman for her helpful suggestions and English corrections.

2.2. Effets de la prédation sur le recrutement intertidal

La prédation a une influence significative sur l'abondance des naissains présents sur les collecteurs (figure II.18). En octobre 2006, il y avait une différence significative entre les collecteurs protégés et les collecteurs non protégés (ANOVA, $p < 0,05$). En février 2007, la densité des naissains était significativement supérieure sur les collecteurs protégés (dès le début ou depuis octobre 2006) par rapport au mois d'octobre et par rapport aux collecteurs non protégés (ANOVA, $p < 0,05$).

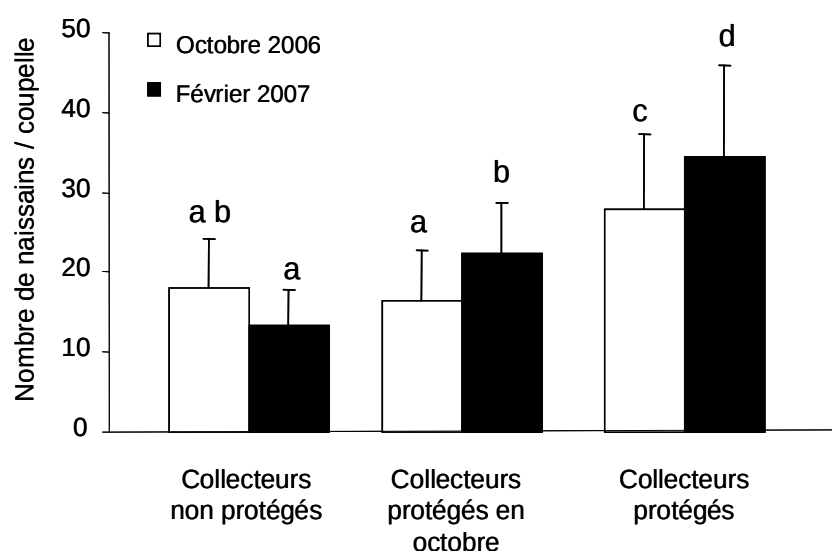


Figure II.18 : Nombre moyen de naissains par coupelles, des collecteurs ostréicoles intertidaux, en fonction de la date et de la protection face à la prédation. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les valeurs ($p < 0,05$).

La prédation n'a pas d'influence significative sur la croissance des naissains (figure II.19). Aux mois d'octobre 2006 et février 2007, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre la longueur des naissains présents sur les collecteurs protégés ou non protégés (ANOVA, $p > 0,05$).

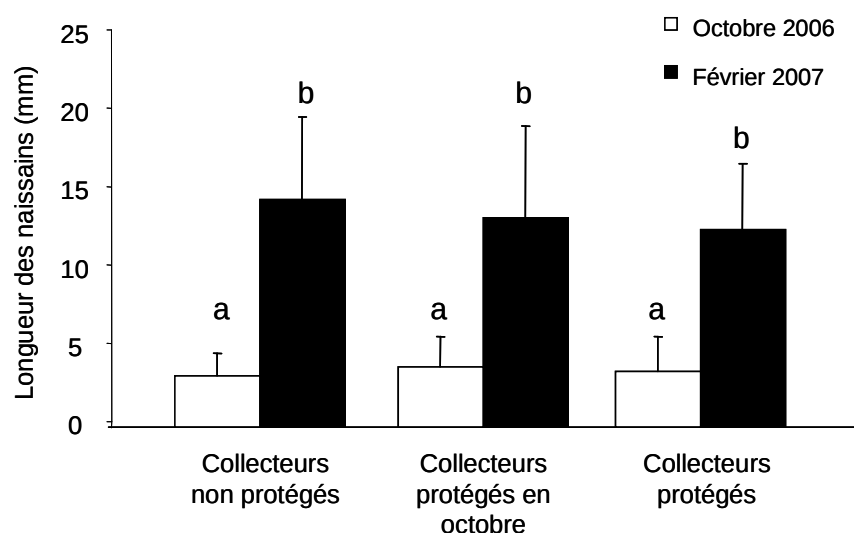


Figure II.19 : Longueur moyenne des naissains sur les collecteurs ostréicoles intertidaux en fonction de la date et de la protection face à la prédation. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les valeurs ($p < 0,05$)

2.3. Effets du substrat sur le recrutement intertidal

Le substrat a une influence significative sur la densité des naissains présents sur les collecteurs (figure II.20). Au mois de février 2007, le nombre de naissains présents sur les huîtres vivantes était significativement supérieur à tous les autres substrats (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Les recrutements ont été nuls sur la roche colonisée par des fuciales et les valves supérieures d'huîtres. En mai 2008, le nombre de naissains présents sur les valves inférieures d'huîtres était significativement supérieur à tous les autres substrats (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les autres substrats testés (test de Kruskal-Wallis, $p > 0,05$).

Le comptage des naissains sur les collecteurs non protégés en automne n'a révélé aucune différence significative entre les deux années (ANOVA, $p > 0,05$). Le nombre moyen de naissains par coupelle était de $17,2 (\pm 6,3)$ en octobre 2006 et de $18,4 (\pm 6,4)$ en novembre 2007. Cette absence de différence nous permet de comparer le recrutement sur les différents substrats entre les deux années (figure II.20). Il n'y a pas eu de différence significative entre les deux années sur la roche sans épibionte et la roche colonisée par des balanes (test U de Mann-Whitney, $p > 0,05$). Le nombre des naissains était deux fois supérieur sur les huîtres vivantes en février 2007 par rapport à mai 2008 mais le test U de Mann-Whitney ne met pas de différence significative en évidence ($p > 0,05$). Des densités de $32 (\pm 38,7)$ et $16 (\pm 13,5)$

naissains. m^{-2} ont été mesurées en mai 2008, respectivement sur la roche colonisée par des fucales et les valves supérieures d'huîtres, alors que le recrutement avait été nul sur ces substrats l'année précédente. Le nombre de naissains présents sur les valves inférieures d'huîtres était significativement plus élevé en mai 2008 qu'en février 2007 (test U de Mann-Whitney, $p = 0,01$).

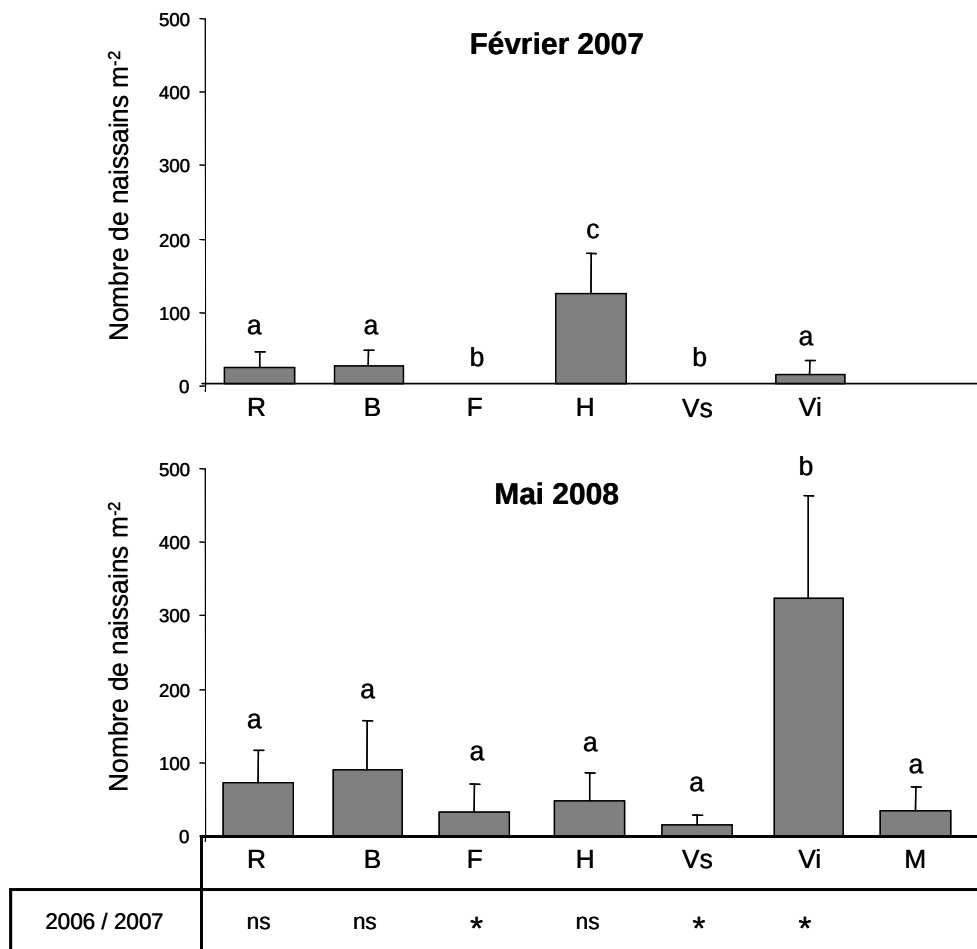


Figure II.20 : Nombre moyen de naissains par m^2 en fonction du substrat (R : roche, B : roche colonisée par des balanes, F : roche colonisée par des fucales, H : huîtres vivantes, Vs : valves supérieures d'huîtres, Vi : valves inférieures d'huîtres et M : moules). Les barres d'erreur représentent l'écart-type. Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les substrats ($p < 0,05$) pour chaque date. La comparaison entre le recrutement des deux années pour chaque substrat est indiquée en bas de la figure : * $p < 0,05$; ns : non significatif

Le substrat a une influence significative sur la croissance des naissains présents sur les collecteurs (figure II.21). Au mois de février 2007, la longueur des naissains présents sur les huîtres vivantes était significativement supérieure à tous les autres substrats (ANOVA, $p < 0,05$). En mai 2008, la longueur des naissains présents sur les moules vivantes était significativement supérieure à tous les autres substrats (ANOVA, $p < 0,05$). Les naissains présents sur les huîtres vivantes étaient significativement plus grands que ceux qui ont colonisé la roche sans épibionte et la roche colonisée par des fuciales (ANOVA, $p < 0,05$).

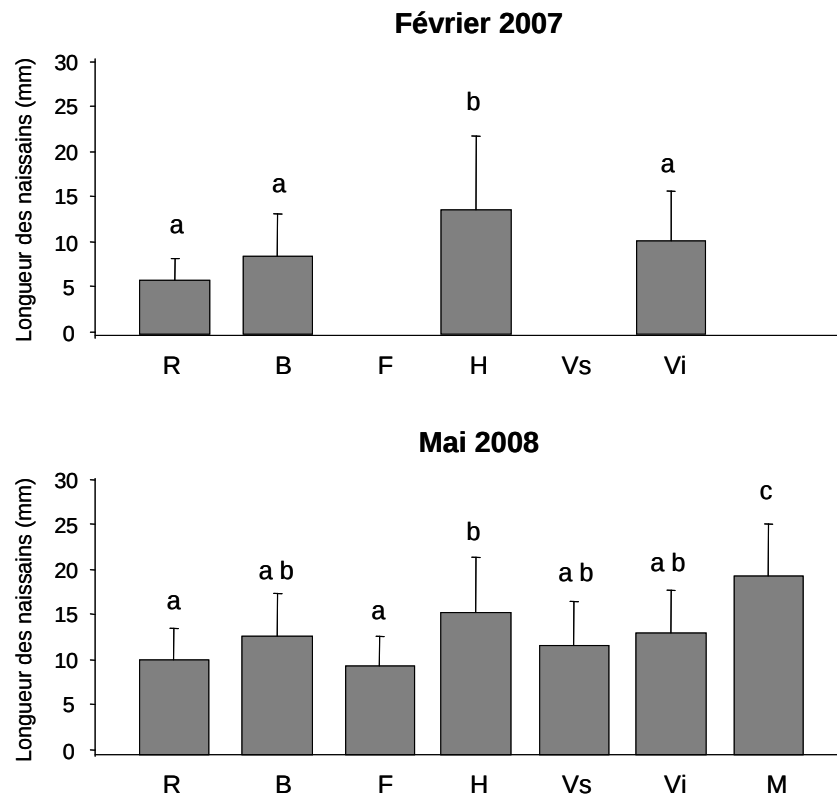


Figure II.21 : Longueur moyenne des naissains en fonction du substrat (R : roche, B : roche colonisée par des balanes, F : roche colonisée par des fuciales, H : huîtres vivantes, Vs : valves supérieures d'huîtres, Vi : valves inférieures d'huîtres et M : moules). Les barres d'erreur représentent l'écart-type. Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les substrats ($p < 0,05$) pour chaque date.

3. Discussion

Le recrutement a été faible en 2006 et 2007 avec une moyenne d'environ 18 naissains par coupelle, et un maximum de 324 naissains m⁻² sur les valves inférieures d'huîtres, dénombrés en mai 2008. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles observées lors des mauvaises années de captage sur les tuiles placées dans le bassin d'Arcachon. En 2005 et 2007 par exemple, le nombre de naissains par tuile (1 500 cm²) a été estimé à 58 et 65, respectivement, alors qu'il peut dépasser 5 000 les bonnes années (Auby et al. 2005). Pour une surface équivalente, le nombre de naissains, dans notre étude, sur les coupelles et sur les valves inférieures d'huîtres est de 76 (±26) et 49 (±20), respectivement. Ce faible recrutement s'explique en 2006 par l'absence de ponte estivale massive et donc une production de larves limitée (Partie II, chapitre 1). En 2007, une ponte massive s'est produite au début du mois d'août mais les températures de l'eau sont ensuite restées inférieures à 19°C jusqu'à la fin du mois d'août et inférieures à 18°C au début du mois de septembre. Or, la température est connue pour influencer la durée de vie larvaire (Bayne 1983). Rico-Villa et al. (2009) ont montré que si pour une température optimale de 27°C, 87% d'une population de larves de *C. gigas* se fixent sur le substrat en moins de deux semaines, à 17°C, seulement 16% des larves de cette même population sont fixées après 31 jours. Au mois d'août 2007, les températures de l'eau n'ont probablement pas permis un développement rapide des larves, et une partie pourrait avoir été évacuée de la Rade de Brest au regard du temps moyen de résidence des eaux de l'ordre de 26 jours (Karleskind 2004).

3.1. Effets de la prédation sur le recrutement

Les prédateurs de *C. gigas* sont assez peu nombreux : crabes (principalement *Carcinus maenas*), étoiles de mer, bigorneaux perceurs (*Ocenebra erinacea* et occasionnellement *Nucella lapillus*) et quelques espèces de poissons (Hinard et Lambert 1928), et auraient un impact uniquement sur les premières années de sa vie. Notre étude montre effectivement que la prédation exerce un contrôle sur les naissains de *C. gigas*. La pression de prédation est forte dès les premières semaines après la fixation des larves sur le substrat. Le nombre des naissains comptés en octobre 2006 sur les coupelles des collecteurs protégés était, en effet, presque deux fois supérieur à celui mesuré sur les collecteurs non protégés. Notre étude a montré que le nombre des naissains sur les collecteurs protégés (depuis le début ou en

octobre) était supérieur, en février 2007, à celui qui avait été mesuré en octobre 2006. Il s'agit vraisemblablement d'un biais dans la mesure et non pas d'une réalité biologique. En effet, avec des températures inférieures à 15°C dès la mi-octobre (Partie II, chapitre 1) le recrutement additionnel de larves semble peu probable (Rico-Villa et al. 2009; His et al. 1989). L'hypothèse retenue est que, lors des comptages réalisés en octobre, une partie du naissain qui venait de se fixer n'a pas été prise en compte car sa taille était encore trop petite pour le déceler. Notre étude a révélé un impact significatif de la prédation entre octobre 2006 et février 2007. Malgré le fait qu'une partie des naissains n'ait pas été détectée en octobre, leur nombre a diminué d'environ 25% sur les collecteurs non protégés (résultat similaire à Ruesink et al. 2005) tandis qu'il y a eu une augmentation significative sur les collecteurs protégés. Par ailleurs, ces résultats écartent l'attribution de la mortalité des naissains à des paramètres environnementaux puisque leur nombre n'a pas diminué sur les collecteurs protégés.

Les prédateurs n'ont pas d'effet significatif sur la croissance des naissains de *C. gigas*, aussi bien dans les premières semaines, que dans les mois qui suivent la fixation sur le substrat. Ruesink (2007) a décrit un résultat identique sur des estrans de Colombie Britannique au Canada.

3.2. Effets du substrat sur le recrutement

En février 2007, le recrutement des larves de *C. gigas* a été plus fort sur les adultes vivants que sur tous les autres substrats testés. Ces résultats confirment le phénomène de recrutement de type grégaire des larves d'huîtres, dirigé vers les individus de la même espèce (Fitt et Coon 1992; Pascual et Zampatti 1995). Le processus conduisant à la fixation des larves est induit chimiquement par les adultes et le biofilm situé sur leur coquille (Coon et al. 1990; Tamburri et al. 1992; 1996). Le nombre plus important de naissains sur les huîtres vivantes au mois de février pourrait également indiquer une mortalité post-fixation plus faible sur ce substrat. La limitation de la mortalité due aux stress thermique et hydrique ainsi qu'à la pression de prédation a été démontrée dans les récifs d'huîtres (O'Beirn et al. 1998; Bartol et al. 1999) et les massifs de moules (Stephens et Bertness 1991). En mai 2008, le recrutement sur les huîtres vivantes n'a pas été significativement plus fort que sur les autres substrats. Ce résultat s'expliquerait par un recrutement important de *Fucus vesiculosus*, mesuré au printemps 2007 sur les huîtres vivantes ($660 \pm 380 \text{ .m}^{-2}$, contre 0 sur la roche nue), qui aurait limité le recrutement des larves d'huîtres. La présence des fucaltes réduit en effet le succès de

recrutement de *C. gigas* (Reise 1998; Diederich 2005). Les nombres de naissains les plus faibles ont d'ailleurs été observés sur la roche colonisée par des fucales et les valves supérieures d'huîtres pour les deux années consécutives. Le recrutement sur les moules est moins important que sur les huîtres vivantes non colonisées par *F. vesiculosus*. Ainsi, les larves d'huîtres préféreraient se fixer sur des surfaces irrégulières plutôt que sur des surfaces lisses telles que les coquilles des moules comme cela a été suggéré par Diederich (2005) et Kochmann et al. (2008). Cette tendance expliquerait la différence de recrutement entre février 2007 et mai 2008 sur les valves inférieures d'huîtres. Lorsque les coquilles ont été fixées sur les parpaings, en juillet 2006, la nacre des valves était propre mais sa texture s'est progressivement modifiée pour devenir plus rugueuse et permettre un recrutement maximal l'année suivante. Le très faible recrutement sur les valves supérieures des huîtres semble contredire cette théorie. Cependant, lors des deux étés 2006 et 2007, ces valves ont été plus colonisées par des entéromorphes que tous les autres substrats, malgré le nettoyage bimensuel. Ce feutrage dense d'algues a empêché la fixation des larves sur les coquilles. Par ailleurs, la forme concave des valves inférieures d'huîtres limite la mortalité des naissains, due aux stress thermique et hydrique lors de la phase d'émersion, en faisant obstacle à une partie de la lumière incidente qui atteint le substrat et en retenant un peu d'eau de mer au fond de la coquille.

La colonisation de la roche intertidale par les balanes n'a pas d'influence sur le recrutement de *C. gigas*. Des résultats similaires ont été trouvés en Mer de Wadden où seul le recrutement des moules est augmenté par la présence de balanes sur le substrat (Diederich 2005). Les balanes pourraient avoir un impact à plus long terme sur la colonisation du substrat rocheux par *C. gigas*. Lorsqu'une huître fixée sur une roche colonisée par des balanes se développe, elle recouvre ces dernières. Les balanes recouvertes meurent, et la dissolution progressive de leur carapace peut déloger l'huître de son substrat. Nous avons fréquemment observé ce phénomène sur les estrans bretons et Diederich (2005) l'a également signalé en Mer de Wadden.

La croissance supérieure des naissains sur les huîtres adultes et les moules serait due à la protection face aux stress thermique et hydrique induite par le relief de ces substrats (Bartol et al. 1999). La limitation de la croissance des naissains de *C. gigas*, par les compétiteurs trophiques potentiels (Troost et al. 2009), décrite par Ruesink et al. (2007) ne s'appliquerait qu'à des structures de substrat planes. Dès qu'une structure en trois dimensions est créée par une espèce 'ingénieur' (Jones et al. 1994; 1997), la protection physique induite par le relief

aurait donc l'avantage sur la limitation trophique par les compétiteurs, concernant la croissance des naissains d'huîtres.

Les interactions biotiques et abiotiques interviennent après la fixation du naissain mais elles affectent la distribution de l'espèce dans une moindre mesure que le choix du substrat par les larves avant leur fixation (Bushek 1988). Le meilleur recrutement des huîtres sur les individus de la même espèce suggère un phénomène d'agrégation qui par rétroaction positive augmentera d'autant plus le recrutement et pourra conduire, à plus ou moins long terme, à la création de récifs compacts. Ces structures s'observent d'ailleurs dans certaines zones abritées de la Rade de Brest. En Bretagne, la colonisation fréquente de la zone intertidale par les fucales pourrait néanmoins ralentir la prolifération de *C. gigas*.

3.3. Effet de la bathymétrie sur le recrutement

C. gigas ne colonise pas la zone subtidale en condition euhaline (salinité supérieure à 30), indépendamment de la nature du substrat ou de la pression de prédation. Escapa et al. (2004) ont montré le même résultat en Argentine. En Rade de Brest, dans la rivière de l'Aulne, des huîtres situées dans la zone subtidale ont cependant été observées. On ne sait pas si elles se sont détachées de leur substrat intertidal et ont été emportées à ce niveau ou si elles s'y sont fixées à la fin de leur vie planctonique. Une relation semble toutefois exister entre la capacité de *C. gigas* à coloniser le niveau subtidal et la salinité. En Europe, la colonisation avérée de ce niveau a été démontrée sur les côtes de la Mer du Nord dans l'Osterschelde (Pays-Bas) et en Mer de Wadden (Allemagne) où les conditions de salinité sont polyhalines (comprises entre 18 et 30) (Diederich 2005; Smaal et al. 2009).

Si l'on commence à comprendre, d'une part les paramètres biotiques et abiotiques déterminant le succès du recrutement de *C. gigas* sur l'estran, et d'autre part les mécanismes conduisant l'importance des pontes (Partie II, chapitre 1), ceux qui déterminent la survie des cohortes larvaires sont encore peu connus. Il s'agit pourtant d'un facteur essentiel expliquant l'amplitude du recrutement. Il semble qu'une grande part de la variabilité du développement larvaire soit d'origine bio-climatique : température, régime de vent, salinité et abondance phytoplanctonique, mais la part relative de ces facteurs nécessite d'être précisée (Programme VeLyGer, Ifremer).

Conclusion et discussion sur le phénomène des mortalités estivales

La troisième étape du processus invasif est la phase d'installation (figure i.1), c'est-à-dire l'établissement d'une population viable et permanente (Williamson 1996). Le premier chapitre de cette partie a montré que l'augmentation nette des températures de surface, ces quinze dernières années, était probablement le facteur principal ayant permis la reproduction des huîtres cultivées et donc l'installation de l'espèce sur les estrans bretons. Les conditions thermiques, ne permettant pas une reproduction annuelle régulière de *C. gigas* sur l'ensemble des côtes bretonnes, ni la colonisation de la zone des Abers, limitent encore l'expansion généralisée, dernière étape du processus invasif d'une espèce.

Dans le second chapitre de cette partie, l'influence de trois paramètres a été testée sur le recrutement, étape du cycle de vie de *C. gigas* déterminante dans la phase d'expansion de l'espèce. Les résultats ont montré, tout d'abord, que la bathymétrie jouait un rôle majeur dans la répartition de l'espèce sur les estrans puisque la colonisation du niveau subtidal par *C. gigas* semble impossible, tout du moins en conditions euhalines. Dans un second temps, les résultats ont montré que la prédation diminuait de 25% le stock de naissains dans les premiers mois après la fixation mais n'influe pas sur leur croissance, et enfin, que la nature du substrat conditionnait l'expansion de *C. gigas* sur les estrans en limitant le recrutement sur les zones colonisées par des algues et en le favorisant sur les zones déjà colonisée par l'espèce.

Au même titre que des températures de l'eau trop basses pour permettre la reproduction ou un substrat inadapté pour la fixation des larves, la mortalité des huîtres est un facteur important de régulation du processus invasif de *C. gigas*. Les premiers épisodes exceptionnels de mortalité estivale significative (supérieures à 30%) d'huîtres cultivées ont été signalés à Marennes-Oléron en 1976 et 1977 (Samain et McCombie 2007). Le phénomène s'est ensuite répandu et, depuis le début des années 90, la majorité des bassins ostréicoles français est régulièrement touchée, à l'exception de l'ouest du Cotentin, de la Baie de Bourgneuf et de l'Etang de Thau qui restent relativement épargnés (Samain et McCombie 2007). Ces mortalités estivales ont également été observées en Irlande (Malham et al. 2009). Les causes de cette mortalité sont multifactorielles. Paramètres environnementaux

(température de l'eau, pluviométrie, ressource trophique, proximité du sédiment), pathogènes viraux et bactériens, état interne de l'animal (gamétogenèse) sont en effet associés dans un schéma d'interactions complexe de mieux en mieux défini (Samain et McCombie 2007). Malgré ces mortalités régulières dans les stocks d'huîtres cultivées, aucune mortalité significative des huîtres sauvages n'a jamais été signalée. Les nombreuses études réalisées en Mer du Nord montrent d'ailleurs que leur taux de survie est particulièrement élevé (Reise 1998; Diederich 2006; Schmidt et al. 2008).

Au cours de l'été 2008, une mortalité massive (de 40 à 80%) des huîtres juvéniles cultivées, n'épargnant aucun bassin ostréicole, a constitué la crise la plus importante pour la culture de cette espèce depuis son introduction en France à la fin des années 60 (Ifremer).

Afin de savoir si les huîtres sauvages avaient été touchées par cet épisode sans précédent, la réalisation d'un bilan précis en février 2009 a été décidée après des prospections ponctuelles effectuées en période estivale. Cette étude a été réalisée dans le cadre du programme PROGIG avec l'appui financier du Comité National de la Conchyliculture (PROGIG 2009). Vingt-quatre sites répartis sur l'ensemble des côtes bretonnes ont été choisis car ils présentaient des densités supérieures à 10 individus par mètre carré (à l'exception de Dinard et Arradon) permettant d'obtenir le taux de mortalité le plus représentatif possible (figure II.22). Sur chaque site, le nombre d'huîtres adultes et juvéniles, vivantes et mortes a été mesuré dans trois radiales de cinq quadrats, positionnées aléatoirement dans la bande de densité d'huîtres maximale (figure II.22). Seules les huîtres mortes dont les deux valves étaient encore reliées par le ligament ou dont la nacre de la valve creuse, encore en place, était parfaitement blanche, ont été prises en compte comme étant des individus victimes de l'épisode de mortalité massive de l'été 2008, afin d'éviter de comptabiliser des mortalités antérieures à cet épisode dans le bilan.

En ce qui concerne les huîtres sauvages adultes, les taux de mortalité sont faibles sur l'ensemble des côtes bretonnes (figure II.23). En effet, les taux les plus forts observés en Rade de Brest ne dépassent pas 12% de la population. Les taux de mortalité des huîtres juvéniles sont encore plus faibles (figure II.24). A l'exception de Dinard (4%), Erquy, la Rade de Brest et Damgan (entre 1 et 3%), la mortalité observée des juvéniles sur les sites bretons est presque nulle.

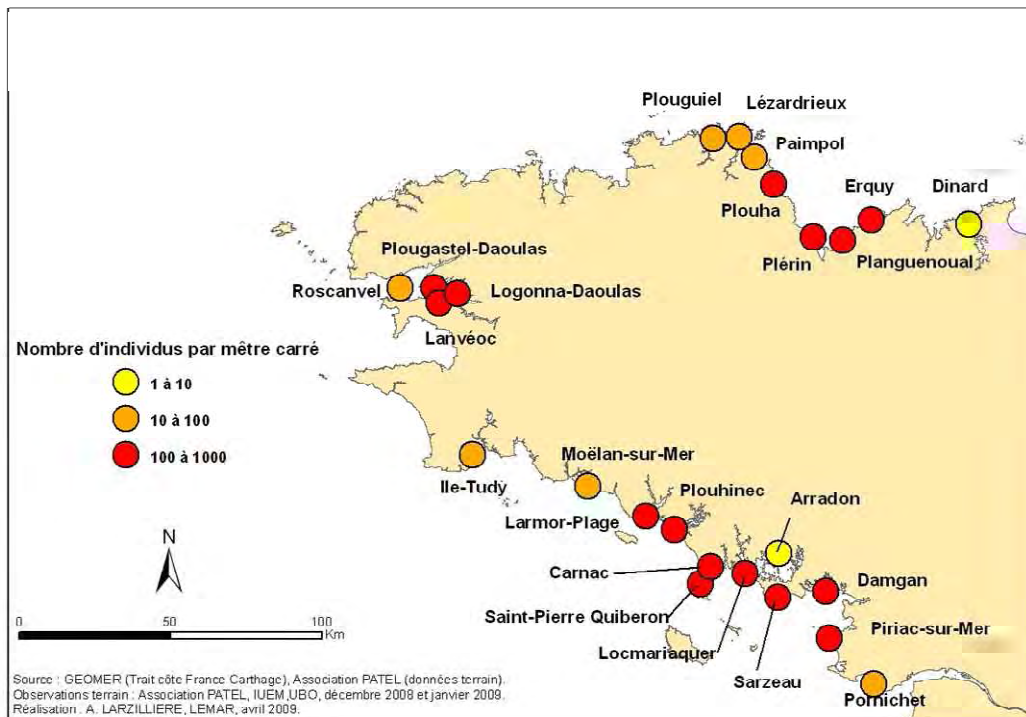


Figure II.22 : Localisation géographique et densités d'huîtres des 24 sites de l'étude de la mortalité des huîtres sauvages en Bretagne

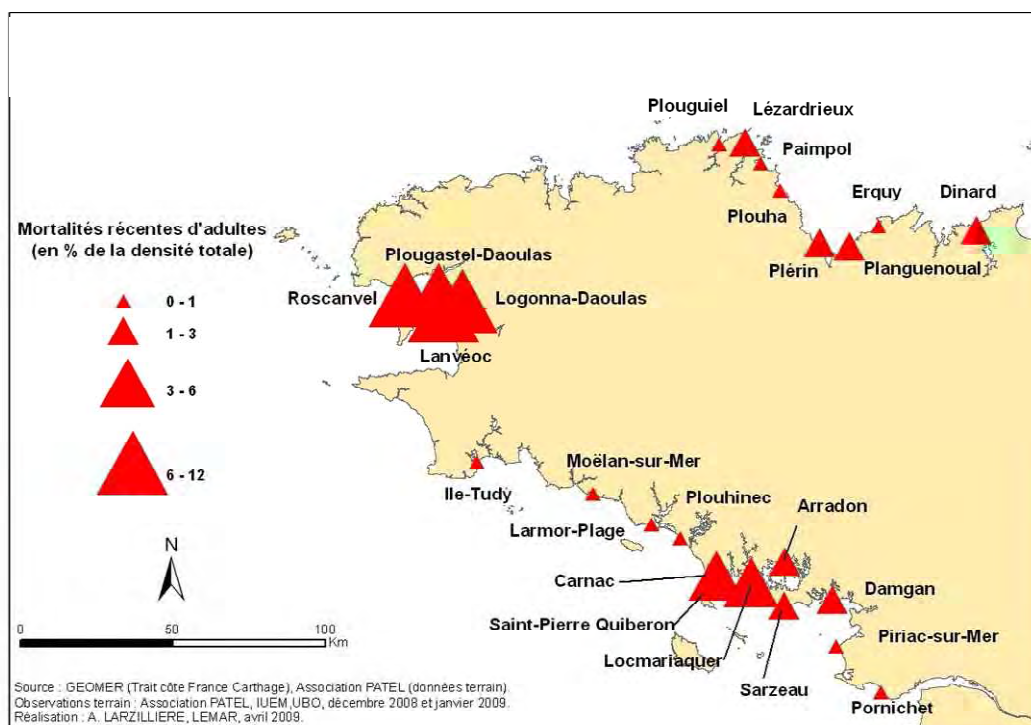


Figure II.23 : Taux de mortalité récente des huîtres creuses sauvages adultes sur 24 sites bretons.

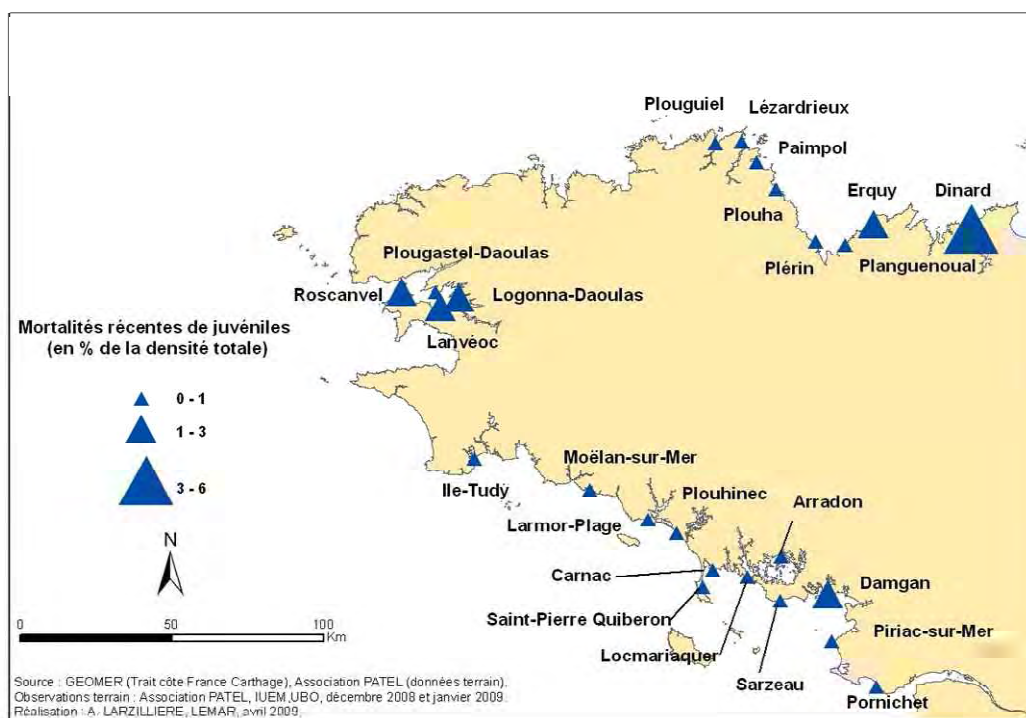


Figure II.24 : Taux de mortalité récente des huîtres creuses sauvages juvéniles sur 24 sites bretons.

L'étude a montré toutefois que dans des zones très localisées, une synergie de trois paramètres provoquerait des mortalités significatives des huîtres sauvages. Il s'agit de la proximité immédiate de parcs ostréicoles, couplée à un hydrodynamisme et un niveau de bathymétrie faibles sur l'estran. Sur des blocs de roche situés en bas de la zone intertidale de sites peu exposés abritant des parcs ostréicoles, des taux de mortalité des d'huîtres sauvages pouvant atteindre 75% ont en effet été observés en Rade de Brest.

Nonobstant ces conditions particulières, les mortalités massives décrites depuis mai 2008 dans les bassins ostréicoles n'ont pas été observées dans les populations d'huîtres sauvages. La régulation, par des épisodes de mortalité estivale, du processus invasif engagé par *C. gigas* en Bretagne n'est donc pas envisagée.

Cet épisode n'étant survenu que très tardivement dans le déroulement du programme de recherche, l'investigation des causes d'une 'résistance' des huîtres sauvages n'a pas été mise en place dans cette étude. Cependant, ces nouveaux éléments ouvrent des perspectives pour de futures phases de travail sur l'huître creuse sauvage.

PARTIE III :

Quels sont les impacts écologiques de
Crassostrea gigas sur son écosystème hôte ?

Introduction

La deuxième partie de ces travaux de thèse a permis de mettre en évidence l'influence des facteurs biotiques et abiotiques du milieu sur *C. gigas*. Dans cette dernière partie, nous étudierons l'impact de *C. gigas* sur le milieu, présenté en deux chapitres.

L'impact de la colonisation de *C. gigas* sur les communautés intertidales a été étudié dans le premier chapitre. Dans un premier temps, nous avons testé l'impact du recouvrement progressif du substrat rocheux par *C. gigas* sur l'abondance et la richesse spécifique de la macrofaune associée. Ce travail a été réalisé à deux échelles spatiales et temporelles différentes.

Dans un second temps nous nous sommes interrogés sur la responsabilité de cette colonisation sur la régression des fucales observée en Bretagne depuis une vingtaine d'années. L'étude du recrutement (Partie II, chapitre 2) a montré que *Fucus vesiculosus* limitait la fixation de *C. gigas* sur le substrat rocheux. Dans cette partie nous avons testé l'impact de *C. gigas* sur le recrutement de deux espèces de fucales, *Fucus vesiculosus* et *Ascophyllum nodosum*.

Enfin, les résultats de l'étude de l'impact du dernier stade de colonisation de l'estran par *C. gigas*, correspondant au récif, sur les communautés rocheuses et de substrat meuble seront présentés dans la dernière partie de ce sous-chapitre.

Dans le second chapitre, nous nous sommes interrogés sur la contribution de *C. gigas* aux flux de CO₂ d'un écosystème côtier tempéré envahi par cette espèce. Le but de la première partie de ce travail était de quantifier la production spécifique de carbone et de carbonate de calcium due aux activités de respiration et de calcification de *C. gigas* en Rade de Brest.

La seconde partie de ce chapitre a été de quantifier l'impact de *C. gigas* sur les processus de respiration, de photosynthèse et de calcification de la communauté benthique intertidale rocheuse, lorsque les huîtres colonisent l'estran.

Chapitre 1 : Quels sont les impacts de *Crassostrea gigas* sur les communautés intertidales ?

Introduction

Malgré l'ampleur de la colonisation des estrans par *C. gigas* au niveau mondial, et le fait qu'elle s'installe préférentiellement sur les substrats durs, à ce jour, une seule étude de l'impact de cette espèce sur les communautés intertidales rocheuses, a été recensée (Escapa et al. 2004). Le sujet reste donc encore largement méconnu, d'autant plus que cette étude, réalisée en Argentine, traitait des récifs d'huîtres, qui correspondent au stade ultime de la colonisation du substrat rocheux par *C. gigas*. D'après nos nombreuses observations sur le terrain, *C. gigas* colonise progressivement les surfaces rocheuses et lorsque le substrat est entièrement recouvert, ou presque, des structures en trois dimensions apparaissent jusqu'à la formation de récifs compacts pouvant atteindre plusieurs dizaines de centimètres d'épaisseur dans les sites abrités. Le processus est différent sur substrat meuble. Du fait de la rareté des supports appropriés pour la fixation de *C. gigas*, les quelques coquilles ou cailloutis échoués sur les vasières sont tout d'abord colonisés par une ou quelques huîtres, puis ce sont ces huîtres qui deviennent le support du recrutement et de la formation rapide de récifs.

L'objectif de cette partie de l'étude était d'étudier les impacts de *C. gigas* sur les communautés intertidales à tous les stades de la colonisation. Ce travail a été réalisé en trois étapes présentées ci-dessous :

Les résultats de l'étude de l'impact du recouvrement progressif du substrat rocheux par *C. gigas* sur la macrofaune associée sont présentés dans la première partie de ce chapitre. Cette étude a été réalisée à deux échelles différentes. La première analyse, ponctuelle, a été réalisée en Rade de Brest, et la seconde est un suivi, sur trois années, de la macrofaune associée aux huîtres dans huit sites répartis sur les côtes bretonnes.

Les résultats de l'étude de l'impact de la colonisation des substrats rocheux par *C. gigas* sur les fucales intertidales sont présentés dans la deuxième partie de ce chapitre. La prolifération de *C. gigas* sur les estrans rocheux est en effet accusée d'être responsable de la régression des fucales observée depuis une vingtaine d'année en Bretagne (Perrot et al. 2006). Cette étude avait pour objectif d'apporter des réponses quant à cette responsabilité.

Enfin, dans la troisième partie de ce chapitre, sont présentés les résultats de l'impact de la dernière phase de la colonisation du substrat par les huîtres, le récif, sur les communautés intertidales de substrats rocheux et meuble en Rade de Brest.

1. Impact du taux de recouvrement du substrat rocheux par *C. gigas* sur la macrofaune

1.1. Matériel et méthode

1.1.1. Etude en Rade de Brest

L'étude a été réalisée en février 2005 sur le site de Squiffiec en Rade de Brest (figure III.1) où la densité de colonisation de *C. gigas* atteint un indice 4 (100-1 000 huîtres. m⁻²). Dans la bande de densité d'huîtres maximale, sur un linéaire d'une centaine de mètres environ, parallèle au trait de côte, un cadre de 0,1 m² en inox a été placé aléatoirement jusqu'à obtenir trois réplicats de 5 surfaces de recouvrement par les huîtres d'environ 0, 25, 50, 75 et 100%. Dans chaque quadrat, les espèces associées aux huîtres sont prélevées (macrofaune > 1 mm) et ensuite déterminées et dénombrées au laboratoire. Chaque quadrat est ensuite découpé en 25 sous-quadrats, qui sont de petits carrés de 0,004 m² de surface, grâce à un maillage réalisé par un grillage de fils de fer. Cinq sous-quadrats sont tirés au hasard et photographiés afin de dénombrer les balanes au laboratoire (Protocole REBENT).

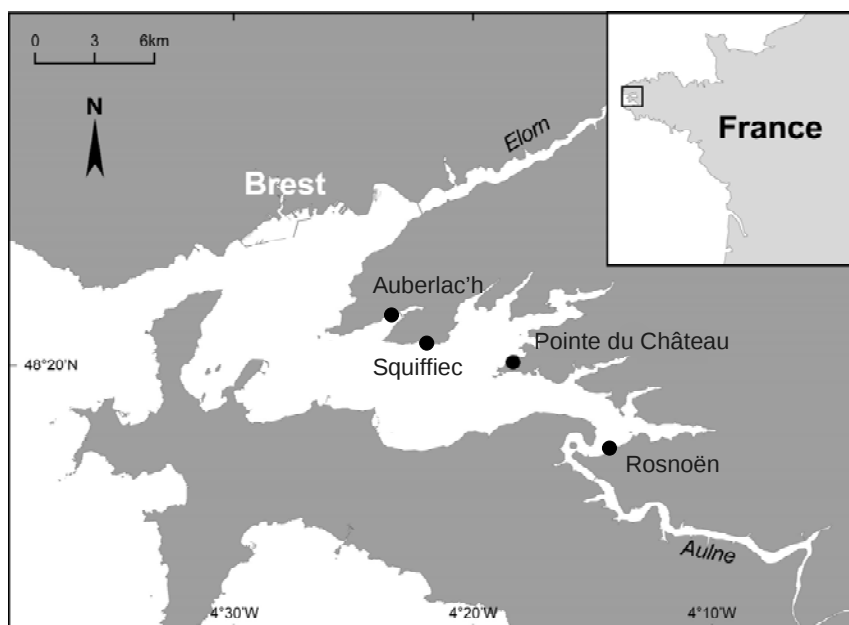


Figure III.1 : Localisation des sites d'étude de l'impact de *C. gigas* sur la macrofaune et les fucales en Rade de Brest.

1.1.2. Etude dynamique à l'échelle régionale

Cette étude a été réalisée sur 8 sites répartis du nord au sud des côtes bretonnes (figure III.2), et suivis dans le cadre du programme PROGIG. Les sites de l'Arcouest et du Dellec présentent un indice de colonisation de *C. gigas* de 3 (10-100 huîtres. m⁻²) tandis que tous les autres sites présentent un indice 4 (100-1 000 huîtres. m⁻²). L'habitat colonisé par *C. gigas* dans l'ensemble des sites correspond à de la roche couverte de balanes en situation semi-exposée (code A1.212 classification EUNIS, Davies et al. 2004) à l'exception du site de la Cotentin où la roche est couverte par une moulière (code A1.221 classification EUNIS, (Davies et al. 2004)).

Le suivi des sites a débuté en juillet 2005 à raison de deux relevés par an, au début de l'hiver et au début de l'été, à l'exception des sites de la Cotentin et de Damgan pour lesquels le suivi a débuté en été 2006 et hiver 2006-2007, respectivement. Sur chaque site, six quadrats permanents de 0,1 m² ont été installés sur la zone de densité d'huîtres maximale. Trois quadrats sont laissés en l'état (QNG) et le substrat des trois autres est débarrassé de tous les épibiontes par grattage (QG) chaque année au début de l'été. Les quadrats dits 'grattés' servaient à comparer le recrutement de *C. gigas* entre un substrat colonisé par une communauté intertidale et un substrat nu.

Dans les quadrats intacts (NG), toutes les huîtres ont été identifiées (figure III.3) et mesurées à chaque retour sur le site selon leurs plus grandes longueur et largeur. Nous avons fait le choix, de par leurs formes très irrégulières, d'obtenir la surface approximative des huîtres en multipliant les valeurs de leur longueur et de leur largeur. La surface de tous les individus du quadrat est ensuite additionnée pour suivre l'évolution de la surface totale recouverte par les huîtres dans chaque quadrat. Chaque naissain qui s'est fixé dans les quadrats, au cours du suivi, a été identifié l'hiver suivant son recrutement, et mesuré pour être intégré dans la surface totale des huîtres du quadrat. Le suivi de la faune associée a été réalisé suivant le même protocole que dans l'étude statique en Rade de Brest.

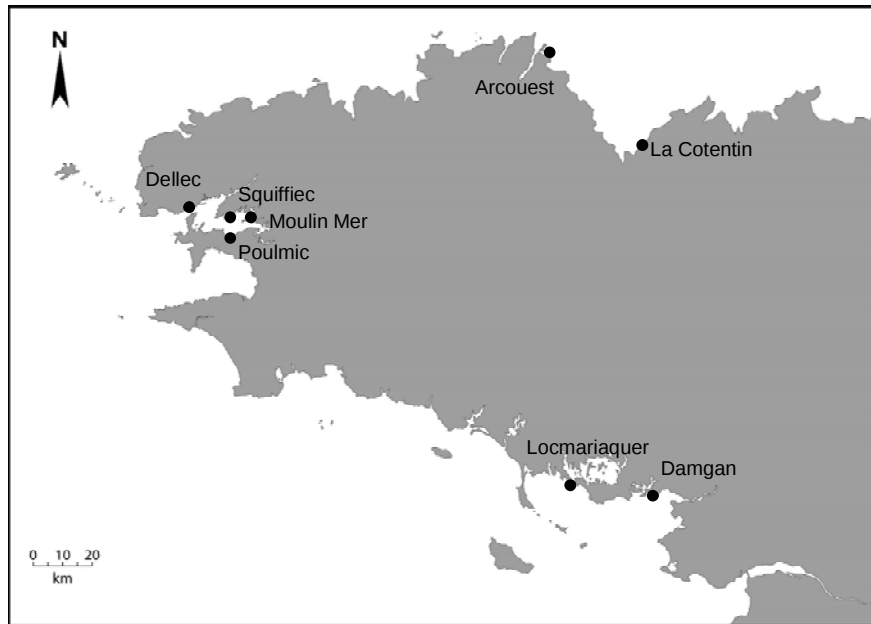


Figure III.2 : Localisation des sites d'étude de l'impact de *C. gigas* sur la macrofaune en Bretagne.

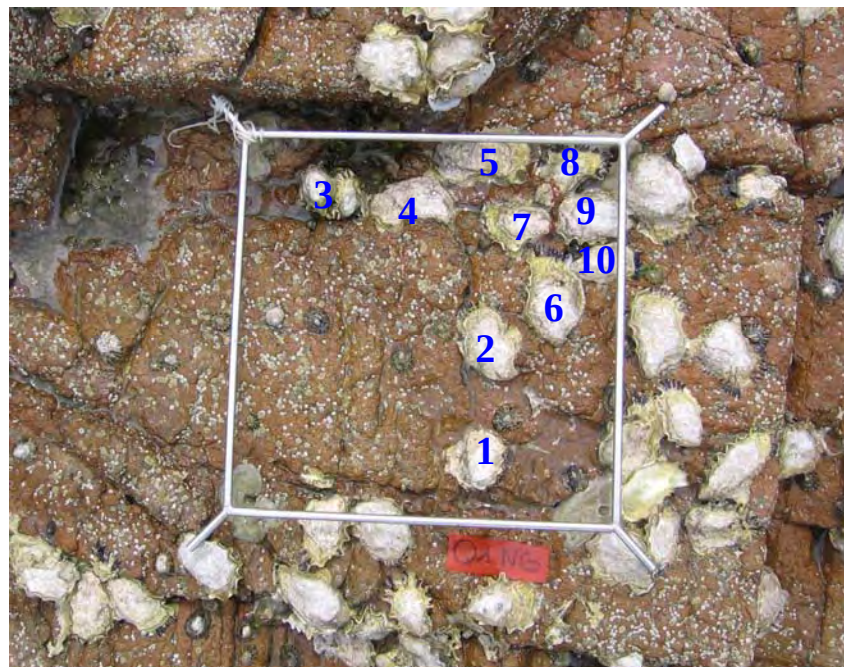


Figure III.3 : Exemple de l'identification des huîtres sur le quadrat intact Q1NG à l'Arcouest.

1.1.3. Analyses statistiques

L'hypothèse de normalité ayant été rejetée pour les valeurs d'abondance et de richesse spécifique à Squiffiec, des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont été appliqués pour tester l'influence de la surface de recouvrement des huîtres sur la biodiversité.

L'hypothèse de normalité ayant été rejetée pour les valeurs d'abondance et de richesse spécifique à l'échelle régionale, des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont été appliqués pour tester l'influence de la saison sur la biodiversité.

Deux analyses de régression simple entre les deux paramètres de la biodiversité (abondance et richesse spécifique) et la surface de recouvrement des huîtres ont ensuite été réalisées.

1.2. Résultats

1.2.1. Etude en Rade de Brest

De 0 à 75% de recouvrement du substrat rocheux par les huîtres, aucune différence significative (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$) de l'abondance totale de la macrofaune associée aux huîtres n'est observée (Figure III.4 A). Une fois que les huîtres atteignent un pourcentage de recouvrement du substrat de 100%, l'abondance augmente significativement d'un facteur 5 (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Lorsque l'analyse est réalisée en retirant du jeu de données les balanes, qui représentent environ 80% de l'abondance totale (Tableau III.1), les résultats des tests statistiques sont inchangés (Figure III.4B).

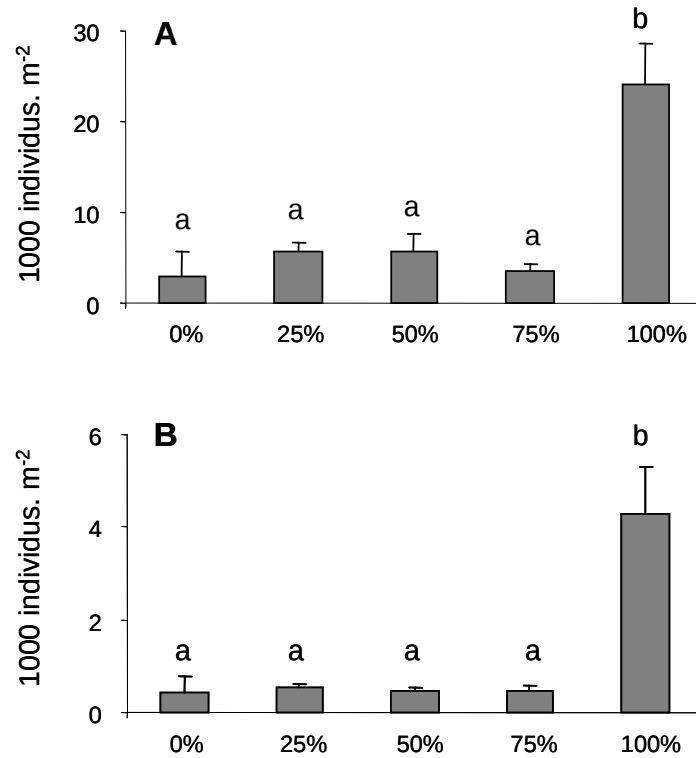


Figure III.4 : Abondance de la macrofaune associée aux huîtres en fonction du pourcentage de recouvrement des huîtres. (A) Abondance totale et (B) Abondance sans les balanes. Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les valeurs (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

Tableau III.1 : Détail de l'abondance et de la richesse spécifique moyennes par m² de la macrofaune associée aux huîtres en fonction du pourcentage de recouvrement des huîtres. L'écart-type est indiqué entre parenthèses.

Taxons	Espèces	0	25%	50%	75%	100%
Gastéropodes	<i>Cingula trifasciata</i>	6,7 (9,4)	16,7 (17)	-	-	600 (297,1)
	<i>Gibbula cineraria</i>	-	6,7 (9,4)	26,7 (18,9)	-	166,7 (138,9)
	<i>Gibbula umbilicalis</i>	73,3 (89,6)	123,3 (65,5)	26,7 (37,7)	40 (16,3)	690 (144,4)
	<i>Littorina compressa</i>	40 (43,2)	86,7 (49,2)	-	-	410 (302,3)
	<i>Littorina littorea</i>	16,7 (23,6)	-	133,3 (34)	120 (16,3)	-
	<i>Littorina obtusata</i>	-	-	6,7 (9,4)	-	-
	<i>Littorina saxatilis</i>	-	-	80 (28,3)	73,3 (57,3)	-
	<i>Osilinus lineatus</i>	-	6,7 (9,4)	6,7 (9,4)	-	16,7 (4,7)
	<i>Nucella lapillus</i>	26,7 (4,7)	10 (14,1)	-	-	96,7 (33)
	<i>Patella vulgata</i>	146,7 (55,6)	83,3 (20,5)	113,3 (18,9)	113,3 (34)	153,3 (24,9)
Bivalves	<i>Lasaea adensoni</i>	33,3 (47,1)	43,3 (20,5)	20 (28,3)	13,3 (18,9)	1066,7 (237,9)
	<i>Modiolus barbatus</i>	66,7 (94,3)	126,7 (28,7)	20 (16,3)	33,3 (9,4)	650 (330,8)
	<i>Mytilus edulis</i>	-	13,3 (9,4)	20 (0)	40 (16,3)	233,3 (160,28)
Polyplacophores	<i>Acanthochitona crinita</i>	3,3 (4,7)	13,3 (12,5)	6,7 (9,4)	6,7 (9,4)	110 (64,8)
Cirripèdes	<i>Balanus perforatus</i>	-	3,3 (4,7)	-	-	-
	<i>Elminius modestus</i>	2476,8 (2513,1)	5107 (980,5)	5307,3 (1920,8)	3011,4 (717,1)	19925,1 (3415,7)
Malacostracés	<i>Carcinus maenas</i>	-	10 (8,2)	6,7 (9,4)	13,3 (9,4)	76,7 (59,1)
Richesse spécifique		6,3 (2,6)	11 (0,8)	9,3 (1,9)	9 (1,6)	13,7 (0,5)

Au total, dix-sept espèces, dont une majorité de gastéropodes, ont été répertoriées dans l'ensemble des quadrats (Tableau III.1). De 0 à 75% de recouvrement du substrat rocheux par les huîtres, aucune différence significative (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$) de la richesse spécifique de la macrofaune associée aux huîtres n'est observée (Figure III.5). Une fois que les huîtres atteignent un pourcentage de recouvrement du substrat de 100%, la richesse spécifique est significativement supérieure (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$) à celle observée sur les quadrats non colonisés par *C. gigas* mais il n'y a pas de différence avec les taux de 25 à 75% (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$).

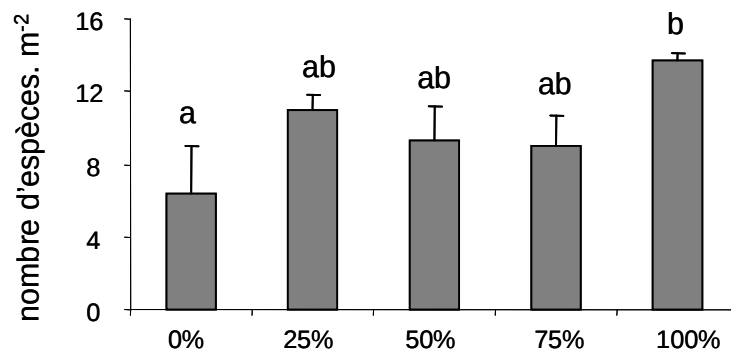


Figure III.5 : Richesse spécifique de la macrofaune associée aux huîtres en fonction du pourcentage de recouvrement des huîtres. Les lettres différentes indiquent une différence significative entre les valeurs (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

1.2.2. Etude dynamique à l'échelle régionale

Le pourcentage de recouvrement des huîtres sur le substrat augmente sur l'ensemble des quadrats des 8 sites (Figure III.6). On peut toutefois remarquer deux 'accidents' : une diminution du recouvrement sur le quadrat 3 du site de la Cotentin entre juillet 2007 et janvier 2008, et une augmentation brutale sur le quadrat 1 à Moulin Mer entre juin 2006 et décembre 2006. La diminution s'explique par le fait qu'une partie des huîtres présentes sur le quadrat ont été pêchées, le site de la Cotentin étant particulièrement fréquenté par les pêcheurs à pied. L'augmentation sur le site de Moulin Mer est due au recrutement de 12 naissains sur le quadrat au cours de l'été 2006. Pour remarque, le recrutement a été très faible sur l'ensemble

de nos sites, puisqu'en trois ans, en plus du recrutement sur le site de Moulin Mer, seuls trois naissains (deux sur le site de Poulmic et un à l'Arcouest) ont été recensés. L'augmentation progressive des surfaces de recouvrement des huîtres dans les quadrats est donc uniquement liée à la croissance des huîtres et à l'étalement de leur coquille sur le substrat.

Au total, quatorze espèces, dont une majorité de gastéropodes, ont été répertoriées sur l'ensemble des sites (Tableau III.2). Les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$) de l'abondance et de la richesse spécifique entre les relevés effectués en hiver et en été pour l'ensemble des sites à l'exception de Locmariaquer où l'abondance était significativement plus forte en hiver qu'en été (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Pour ce site, l'analyse de la régression entre l'abondance de la macrofaune associée et la surface de recouvrement des huîtres n'a donc été effectuée qu'avec les données hivernales.

L'analyse de la régression entre l'abondance de la macrofaune et la surface de recouvrement des huîtres ne montre une relation significative ($p < 0,001$) et positive que pour le site de Moulin Mer (Tableau III.3). Par ailleurs, aucune relation significative ($p > 0,05$) n'a pu être mise en évidence entre la richesse spécifique et la surface de recouvrement des huîtres (Tableau III.4).

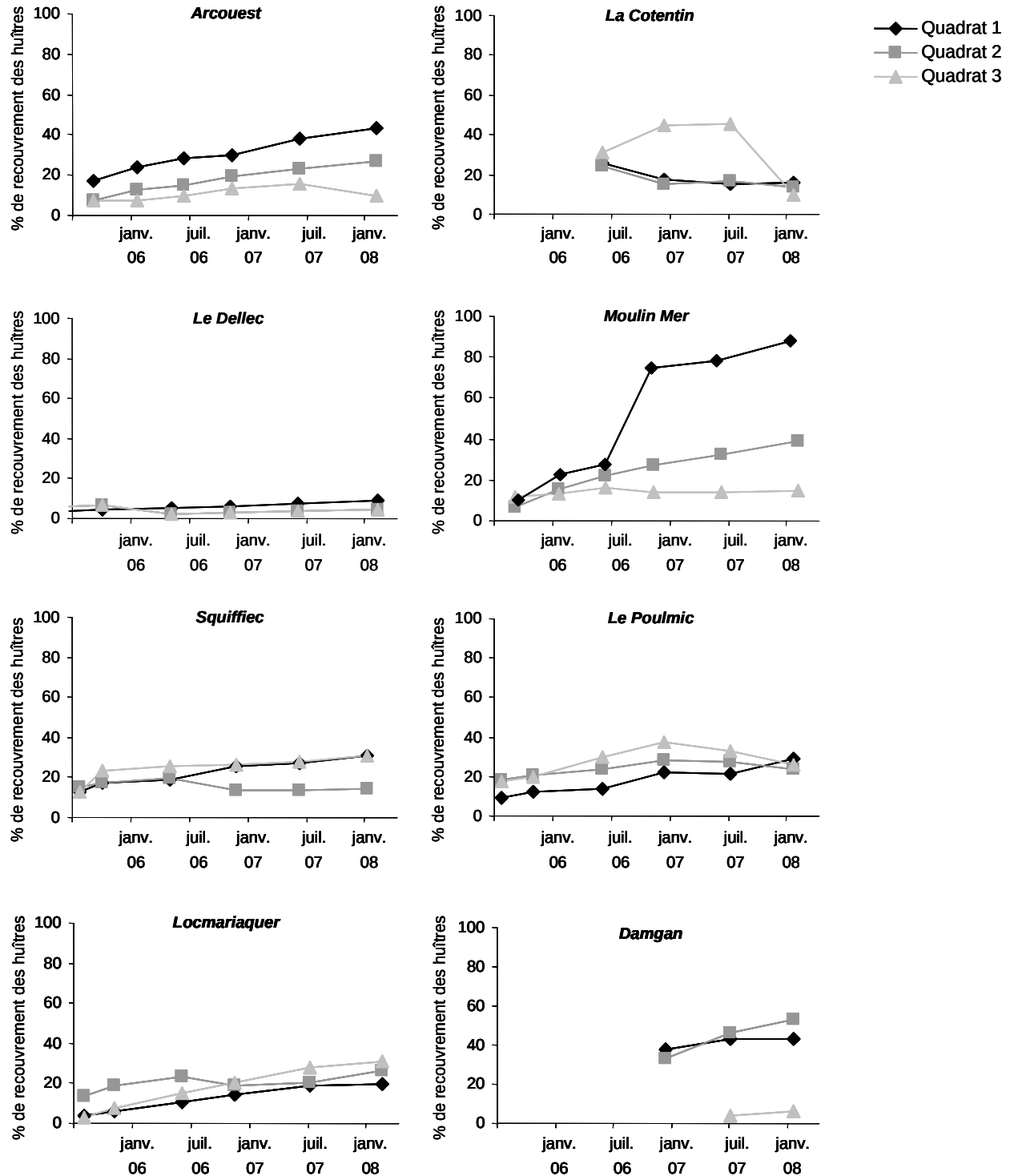


Figure III.6 : Evolution du taux de recouvrement des huîtres dans les quadrats des 8 sites étudiées.

Tableau III.2 : Synthèse de la biodiversité observée dans les quadrats des 8 sites étudiés. La présence d'une espèce est signalée par le symbole X.

Taxons	Espèces	Arcouest	La Cotentin	Dellec	Moulin Mer	Squiffiec	Poulmic	Locmariaquer	Damgan
Gastéropodes	<i>Patella vulgata</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
	<i>Nucella lapillus</i>		x			x		x	x
	<i>Gibbula cineraria</i>		x			x	x	x	
	<i>Gibbula umbilicalis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
	<i>Osilinus lineatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
	<i>Littorina littorea</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
	<i>Littorina obtusata</i>			x					
	<i>Littorina saxatilis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
Bivalves	<i>Onchidella celtica</i>			x		x			
	<i>Mytilus edulis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
Cirripèdes	<i>Ruditapes decussatus</i>								x
	<i>Balanes</i> sp	x	x	x	x	x	x	x	x
Malacostracés	<i>Carcinus maenas</i>				x				
Anthozoaires	<i>Actinia equina</i>		x						

Tableau III.3 : Résumé de l'analyse de la régression entre l'abondance et le taux de recouvrement des huîtres. *** signale une différence significative ($p < 0,001$).

Sites	Probabilité	Pente	Coefficient
Le Dellec	0.958	0.005	0.021
Moulin Mer	0.0002***	0.183	0.814
Squiffiec	0.097	0.051	0.444
Le Poulmic	0.958	0.005	0.021
Arcouest	0,287	0,197	0,430
La Cotentin	0.128	- 0.929	- 0.464
Locmariaquer	0.614	0.052	0.118
Damgan	0.110	0.094	0.610

Tableau III.4 : Résumé de l'analyse de la régression entre la richesse spécifique et le taux de recouvrement des huîtres.

Sites	Probabilité	Pente	Coefficient
Le Dellec	0.199	- 0,025	- 0.318
Moulin Mer	0.103	0.005	0.437
Squiffiec	0.174	0.005	0.370
Le Poulmic	0.900	- 0.001	- 0.049
Arcouest	0.342	0.003	0.238
La Cotentin	0.689	0.013	0.129
Locmariaquer	0.102	0.005	0.397
Damgan	0.585	0.002	0.229

1.3. Discussion

On peut remarquer que les augmentations des taux de recouvrement par les huîtres restent modérées sur la majorité des sites suivis. Cette augmentation correspond en réalité à la résultante combinée de la croissance des individus et des pertes de surfaces, liées à la mortalité naturelle et au prélèvement de quelques individus par les pêcheurs.

La colonisation du substrat rocheux par *C. gigas* n'a d'impact sur l'abondance de la macrofaune associée qu'une fois le substrat entièrement recouvert, ou presque (85% à Moulin Mer), par les huîtres. *C. gigas* en se fixant sur la roche augmente l'hétérogénéité du substrat, or plusieurs études ont montré l'influence de l'hétérogénéité du substrat sur l'abondance des communautés intertidales (Bourget et al. 1994; Archambault et Bourget 1996; Pech et al. 2002). La relation négative entre la surface recouverte par les huîtres et l'abondance de la macrofaune sur le site de moulière de la Cotentin confirme ce résultat. L'abondance de la macrofaune est en effet conditionnée par l'hétérogénéité créée par les moules. Dans ce site, la contribution des huîtres à l'hétérogénéité du substrat est donc limitée et leur disparition, du fait de la pêche, n'a pas d'influence sur l'abondance. Le seuil de l'impact de la surface de recouvrement de 100% sur l'abondance pourrait être dû à la formation de crevasses entre les huîtres qui n'apparaissent qu'une fois les huîtres jointives. En plus d'augmenter l'hétérogénéité, *C. gigas* augmente la surface développée totale du substrat disponible pour la fixation des espèces sessiles, ici les balanes, et par conséquent leur abondance.

La colonisation du substrat rocheux par *C. gigas* a peu d'impact sur la richesse spécifique de la macrofaune intertidale. Une dizaine d'espèces est présente sur chaque site, et si lors de l'étude ponctuelle réalisée en Rade de Brest, il y avait une différence entre le substrat non colonisé et le substrat recouvert à 100% par *C. gigas*, l'augmentation de la surface de recouvrement sur un même quadrat, au fil des années, n'influe pas sur la richesse spécifique. A l'échelle d'un site, les zones fortement colonisées par les huîtres pourraient concentrer la biodiversité aux dépens des zones non colonisées, mais à l'échelle d'un quadrat la colonisation progressive du substrat n'augmente pas la diversité de la macrofaune. *C. gigas* augmente l'hétérogénéité et la surface du substrat mais, tant qu'aucune structure en trois dimensions n'est formée, elle ne crée pas de nouveaux microhabitats, responsables de la présence de nouvelles espèces. On peut toutefois noter que dès l'apparition de *C. gigas* dans les quadrats du site de Squiffiec, *Mytilus edulis* et *Carcinus maenas* qui consomme cette espèce, entre autres, sont présents.

2. *Crassostrea gigas*, responsable de la régression des fucales ?

2.1. Matériel et méthodes

L'étude a été réalisée en février 2007 sur les sites de l'Auberlac'h, de la Pointe du Château et de Rosnoën en Rade de Brest (figure III.1). Dans les trois sites, la densité de colonisation de *C. gigas* atteint un indice 4 (100-1 000 huîtres. m⁻²) sur la roche. Dans la bande de densité d'huîtres maximale, les fucales se répartissent en mosaïque de zones dont la couverture algale est proche de 100% et de zones dont la couverture algale est presque nulle. Dans cette étude on retient les termes de substrat 'roche nue' et substrat 'sous algues' pour définir les deux types de substrat où ont été réalisés les échantillonnages. Dans chaque site, dix quadrats de 0,1 m² sont échantillonnés sur chaque substrat. Dans tous les quadrats, sur roche nue et sous algues, les huîtres adultes, juvéniles et les naissains ont été comptés et mesurés. De plus, dans les quadrats du substrat sous algues, les pieds de fucus, adultes et juvéniles, sont comptés et le substrat de fixation des juvéniles, c'est-à-dire soit la roche soit les huîtres, est répertorié. Les valeurs de longueur et largeur et largeur des huîtres ont été multipliées pour obtenir la surface de recouvrement des huîtres dans les quadrats du substrat sous algues.

Analyses statistiques

L'hypothèse de normalité ayant été rejetée pour les densités d'algues et d'huîtres adultes, juvéniles et naissains, des tests non paramétriques U de Mann-Whitney ont été appliqués pour tester l'influence du substrat sur l'abondance des espèces.

Une analyse de régression simple entre la densité des huîtres et des pieds adultes de fucales a également été réalisée.

2.2. Résultats

Les fucales majoritaires sur les sites sont le *Fucus vesiculosus* à l'Auberlac'h et à la Pointe du Château et l'*Ascophyllum nodosum* à Rosnoën.

La densité des huîtres adultes, juvéniles et des naissains est significativement supérieure (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,001$) sur la roche nue en comparaison avec le substrat sous la couverture de fucales pour les trois sites (Figure III.7 et 8).

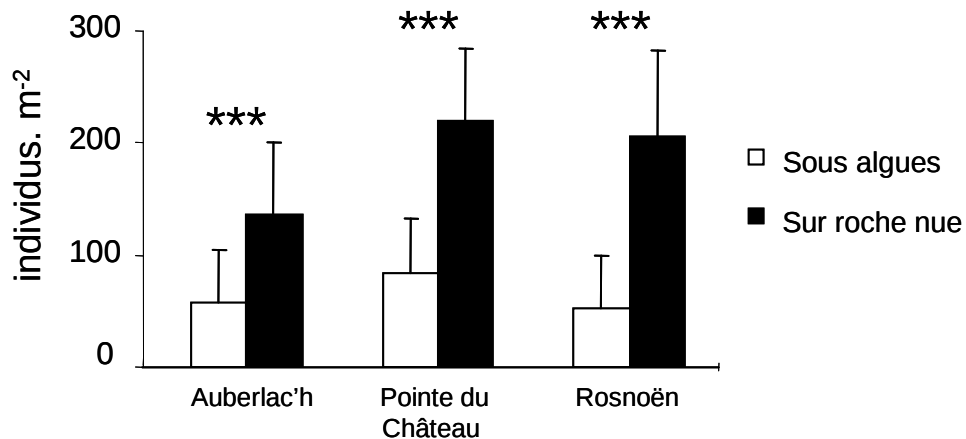


Figure III.7 : Densité moyenne des huîtres adultes en fonction du substrat sur trois sites en Rade de Brest. *** signale une différence significative ($p < 0,001$). Les barres d'erreur représentent l'écart type.

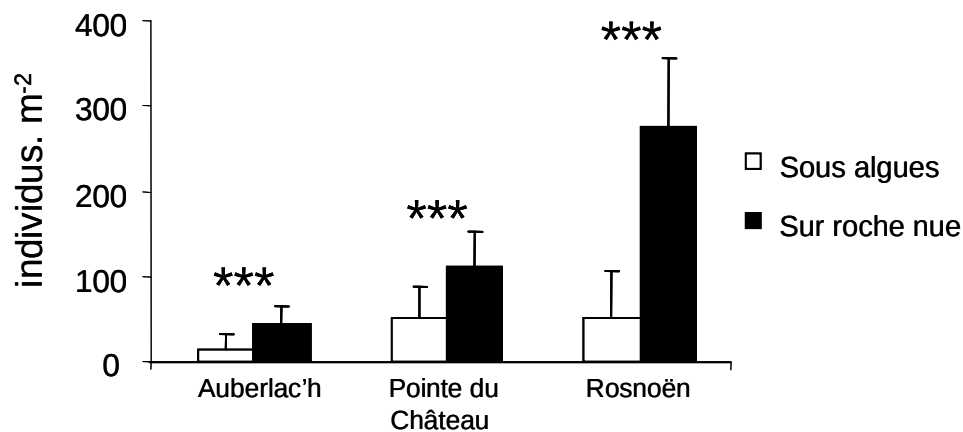


Figure III.8 : Densité moyenne des huîtres juvéniles et naissains en fonction du substrat sur trois sites en Rade de Brest. *** signale une différence significative ($p < 0,001$). Les barres d'erreur représentent l'écart type.

Il n'y a pas de différence significative (Test U de Mann-Whitney, $p > 0,05$) entre la densité des fucales juvéniles fixées sur la roche ou sur les huîtres à l'Auberlac'h (Figure III.9).

La densité des fucales juvéniles est significativement supérieure (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,001$) sur les huîtres à la Pointe du Château et sur la roche à Rosnoën (Figure III.9). Le recrutement des *A. nodosum* est entre trois et six fois plus faible que celui des *F. vesiculosus*. Seul le site de la Pointe du Château présente une relation significative ($p < 0,05$) et positive entre la densité des huîtres adultes et juvéniles et des fucales adultes (Tableau III.5).

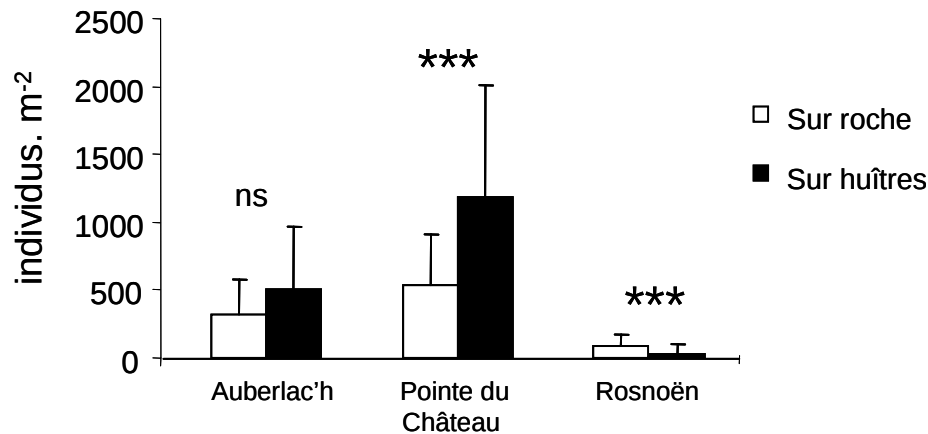


Figure III.9 : Densité moyenne des fucales juvéniles en fonction du substrat sur trois sites en Rade de Brest. *** signale une différence significative ($p < 0,001$) et ns une différence non-significative. Les barres d'erreur représentent l'écart type.

Tableau III.5 : Résumé de l'analyse de la régression entre la densité des fucales et des huîtres adultes et juvéniles. * signale une différence significative ($p < 0,05$).

Sites	Probabilité	Pente	Coefficient
Auberlac'h	0,237	0,701	0,277
Pointe du Château	0,015 *	1,241	0,547
Rosnoën	0,605	0,052	0,167

2.3. Discussion

Les fucales réduisent significativement la colonisation du substrat par *C. gigas*. L'impact de *C. gigas* sur les fucales est quant à lui dépendant du site et de l'espèce. Le recrutement de *F. vesiculosus* est similaire voire supérieur sur les huîtres alors que celui d' *A. nodosum* est plus faible sur les huîtres par rapport à la roche adjacente. La densité des pieds

adultes n'est corrélée significativement à la densité des huîtres qu'à la Pointe du Château. Dans le site de Rosnoën, bien que le succès de recrutement d' *A. nodosum* soit plus faible sur les huîtres, la densité moyenne actuelle de *C. gigas*, qui est d'environ 100 individus. m⁻² sous les algues, ne semble pas avoir d'influence sur la densité de l'algue.

A plus long terme, *C. gigas* pourrait avoir un impact différentiel sur les populations de fucales. La durée de vie de *F. vesiculosus* est de trois à cinq ans environ alors que celle d'*A. nodosum* est estimée entre onze et vingt ans environ (MarLIN). Le suivi réalisé depuis 2005 sur les sites bretons révèle que les huîtres sauvages fixées sur de la roche, où la densité de balanes n'est pas trop importante, y restent au moins trois ans. Les pieds de *F. vesiculosus* fixées sur les huîtres peuvent donc y effectuer leur cycle entier. En ce qui concerne *A. nodosum*, les huîtres pourraient se détacher du substrat et être emportées vers des zones moins favorables à la survie des algues en diminuant la densité de la population d'origine, alors que le recrutement de cette espèce est plus faible que celui des *Fucus* sp. *C. gigas* représente un substrat plus instable que la roche sous-jacente, à la manière d'un tapis roulant, dont le renouvellement, d'autant plus fréquent que la densité des balanes sur la roche est forte, impacte plus ou moins les populations de fucales en fonction de leur taux de recrutement et de la durée de leur cycle de vie.

D'autres expérimentations doivent cependant être réalisées sur d'autres sites que la rade de Brest pour tester la robustesse de ces résultats à l'échelle régionale.

Quid de la responsabilité de *C. gigas* dans la régression des fucales en Bretagne ?

Nos résultats montrent que l'impact de *C. gigas* sur les populations de *F. vesiculosus* est assez limité mais pourrait être plus prononcé sur celles d'*A. nodosum*. Les travaux réalisés dans le cadre du réseau REBENT portent sur l'ensemble des fucales de l'estran, c'est-à-dire *F. vesiculosus* et *A. nodosum* mais également *Fucus spiralis* et *Fucus serratus* dont les niveaux de répartition sont situés, respectivement, au dessus et en bas de la bande de densité maximale d'huîtres, donc pour lesquelles l'impact de *C. gigas* est limité. De plus, sur le linéaire côtier s'étendant de Perros-Guirec au sud de Paimpol, l'analyse du différentiel d'évolution de la couverture en fucales montre une nette tendance à la régression (23 %) entre 1989 et 1998 (Perrot et al. 2006), alors que la densité des huîtres y est assez faible aujourd'hui et a fortiori encore plus faible à cette époque (figure I.2). Ces résultats confortent l'hypothèse

que la prolifération de *C. gigas* et la régression des fucales seraient des phénomènes qui se produisent en parallèle plutôt qu'en relation de cause à effet. Le réchauffement net des eaux de surface responsable de la prolifération de *C. gigas* depuis le milieu des années 90 en Bretagne, pourrait être la cause de la régression des fucales. Cette hypothèse est appuyée par l'accélération de la régression des fucales sur la zone de Perros-Guirec au sud de Paimpol depuis 1998, et la régression la plus faible observée en Bretagne (6%) entre 1987 et 2003 se situe dans la région des Abers, où la température de l'eau trop froide empêche la reproduction de *C. gigas* (Perrot et al. 2006). On peut cependant remarquer que le recul des fucales a un impact sur la prolifération de *C. gigas* en facilitant le recrutement des naissains sur un substrat devenu plus accessible.

3. Impacts écologiques d'un nouvel habitat, le récif d'huîtres (*Crassostrea gigas*, Thunberg), sur les communautés intertidales de la Rade de Brest, France

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication soumise dans le journal 'Journal of Sea Research', et présentée ci-dessous.

Ecological impacts of a new habitat, oyster reef (*Crassostrea gigas*, Thunberg), on the intertidal communities of the Bay of Brest, France

Morgane Lejart ^{1*}, Christian Hily ¹

¹ *Laboratoire des sciences de l'Environnement MARin, CNRS UMR 6539, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université Occidentale de Bretagne, 29280 Plouzané, France*

* Corresponding author. E-mail : morgane.lejart@univ-brest.fr

Tel: + 33 2 98 49 88 18

Fax: + 33 2 98 49 86 45

ABSTRACT

When introduced into France for aquaculture in the mid-sixties, the Pacific oyster, (*Crassostrea gigas*, Thunberg), was initially confined to the sites where it was farmed. Subsequent global warming has facilitated the propagation of wild populations the length of the French coastline. This phenomenon of proliferation has become so great that oyster reefs have recently appeared in sheltered estuaries, on both soft and hard substrata. The present study examines two such sites in the Bay of Brest, Brittany, and is the first to investigate the impacts of this new substratum on the biocenosis of intertidal habitats in France. Results reveal that abundance and specific richness of intertidal macrofauna are significantly increased by oyster reefs on both mud and rock. Analysis of trophic group composition showed that oyster reefs change trophic dominance in muddy sediment macrofauna from suspension feeders dominance in bare substrata to carnivore dominance on reefs and underlying sediment. On rock, trophic group composition remains unchanged between bare rock and oyster reef. Calculation of biotic coefficient (BC) reveals no marked organic enrichment. This result is underlined by the fact that organic and silt composition in the sediment beneath oyster reefs was not significantly different from bare sites. Despite a local enhancement of the biodiversity, *C. gigas* is suspected to cause a homogenisation of coastal habitats with an impoverishment of overall quality. Our results show that it is not the case because there were only 11 species in common between reefs on mud and on rock.

Keywords: *Crassostrea gigas*, invasive species, oyster reefs, habitat, intertidal communities

INTRODUCTION

Introduced species are known to have an impact on marine ecosystems, especially on very productive systems like coastal regions and estuaries that have high biodiversity (Ruiz et al. 1997; Cohen and Carlton 1998; Ruiz et al. 1999; Wasson et al. 2005). Although only a few introduced species (10-15 %) are considered as pests (Williamson and Fitter 1996; Ruiz et al. 1997), most studies show undesirable effects of invasive species on native biodiversity, community structure and function, genetic diversity, population dynamics, the economy, and even human health (Ruiz et al. 1997; Parker et al. 1999; Mack et al. 2000; Grosholz 2002). However, although it cannot be denied that introduced species can have dramatic damaging effects on the ecosystems they invade, some studies show that invaders are not always as bad as they might seem (Thieltges et al. 2006). This ambivalence is illustrated by the example of the American slipper limpet *Crepidula fornicata* (Thieltges et al. 2006), which was accidentally introduced in Europe from the Eastern American coast at the end of the nineteenth century and now extends along European coasts from Spain to Norway (Blanchard 1997). In localised areas, like some of the places it has colonized in France, populations reach very high densities (1000 individuals m⁻²) that can have detrimental ecological impacts: increased siltation related to pseudofaeces and faeces production (Erhold et al. 1998), lowering of native species recruitment by spatial competition processes (Thouzeau et al. 2000), and alteration of benthic community structure (Thouzeau et al. 2000; Chauvaud et al. 2003a; Chauvaud et al. 2003b). However, in certain situations, this invasion has had positive effects. One study showed that *Crepidula fornicata* protects the Bay of Brest (France) from toxic algal blooms by changing plankton composition and food web structure (Chauvaud et al. 2000). The extensive spread of *Crepidula fornicata* has increased suspension feeders biomass and therefore increased biodeposition, which has then enhanced biogenic silica retention in the bay. Recycling of biogenic silica through the summer maintains diatom populations and limits chronic toxic algal blooms occurring in eutrophic conditions (Chauvaud et al. 2000; Ragueneau et al. 2002; 2005).

In the present study we examined ecological impacts of another introduced species, the Pacific oyster *C. gigas*, in intertidal communities of the coastal ecosystem of the Bay of Brest (France). Pacific oyster has been intentionally introduced into 66 countries for aquaculture (Ruesink et al. 2005) and self-sustaining populations have today become established in 17 of these. Similarly to *C. fornicata*, studies on the ecological impacts of *C. gigas* show contradictory effects implying either detriments or benefits resulting from its

introduction. On one hand, Reise (1998) and Diederich (Diederich 2005; 2006) showed that native mussel beds in the Wadden Sea had become overgrown by Pacific oysters. On the other hand, in Willapa Bay, the comparison of native intertidal mudflat and oyster habitats showed that oysters harboured a higher diversity of epifauna (Hosack et al. 2006). Despite these results, the full ecological consequences of oyster introductions for intertidal communities have been little examined as yet.

C. gigas was intentionally introduced into France at the end of the 1960s to replace cultivated oyster stocks of *Ostrea edulis* and *Crassostrea angulata* decimated by disease (Grizel and Heral 1991). For more than twenty years *C. gigas* did not reproduce in Brittany. Because *C. gigas* is a subtropical species, its minimal temperature requirement for spawning is above 18°C (Mann 1979) and the water was simply not warm enough on this part of the French coast. However, with the rise in temperature that has occurred over recent decades, environmental conditions became favourable for spawning and *C. gigas* started to reproduce in Brittany in the 1990s, as had been seen in the Wadden Sea (Diederich et al. 2005). Today, wild sustainable populations have become established in the intertidal zone all along the Brittany coast. Although populations are found on exposed oceanic shores, the highest densities, with more than 1000 individuals m⁻² (Lejart and Hily 2005), are reached in estuarine and sheltered situations. Over the last few years, particularly on soft sediment but more recently even on rocks, oysters have become so abundant that one can observe the formation of true oyster reefs. That is particularly the case in the Bay of Brest where the total stock of wild oysters was estimated at 10 000 tons in 2005 (Lejart and Hily 2005). Although the presence of oysters on the Brittany shore is now common, oyster reef is a new biogenic structure that has never been previously observed on these coasts. We are therefore witnessing a drastic change in the intertidal landscape. Well known in the United States, oyster reefs of *Crassostrea virginica*, are seen as a valuable habitat that needs to be restored and protected from overfishing (Coen and Luckenbach 2000; Peterson et al. 2003; Rodney and Paynter 2006). The situation is however very different in France as the new oyster reefs are not indigenous, but the result of the proliferation of an invasive species. The present study is the first to investigate the influences of this species on intertidal communities in France. The observation of this impressive new phenomenon has led questions to be asked about their effects on native communities. The goal of our study was therefore to examine the oyster reefs formed by invasive *C. gigas* in Brittany by answering four basic questions: 1) What are the physical characteristics of *C. gigas* reefs? 2) Can we consider these reefs as a new

biogenic habitat? 3) Does this new habitat induce perturbations in intertidal communities? 4) Does this new habitat induce a homogenization of intertidal biocenosis?

MATERIALS AND METHODS

Field Sampling

The study was carried out in the Bay of Brest, in western Brittany (France) in January 2006. This shallow semi-enclosed coastal bay covers 180 km² and is connected to the Atlantic Ocean by a small strait (1.8 km wide, 50m deep). Freshwater entering the bay is mostly (80 %) brought in by two rivers, namely the Elorn in the north of the bay and the Aulne in the south.

The Bay of Brest is a shallow (mean depth 8 m) macrotidal coastal system. Indeed, less than 50% of the bay is deeper than 5 m and, as the tide can rise and fall by as much as 8 m, a very large intertidal surface of substratum can potentially be colonized by oysters. In 2005, this colonized surface was estimated at 3 km² with a mean oyster density of 84 m⁻² (Lejart and Hily 2005).

Two sampling sites were chosen in a sheltered area in the south-east of the bay, near the Aulne estuary, where oyster reefs have formed on natural rocks and soft substratum (Fig. 1) at the same tidal elevation, with a mean exposure time at low tide of about 4 hours per tidal cycle. In the Bay of Brest, rocks are dominated by barnacles, mussels are present in very few abundance.

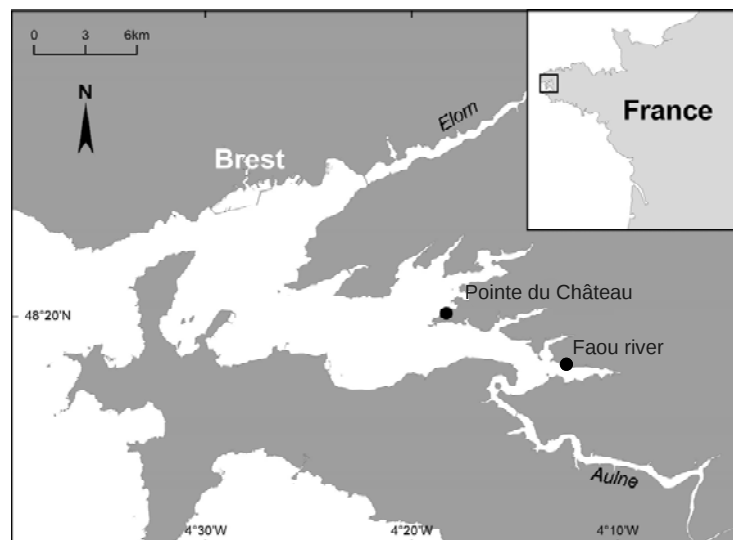


Figure 1: Study area in the west of Brittany (France) and location of experimental sites: Pointe du Chateau and Faou river.

Five soft substratum 1 000 cm² samples were taken randomly on the mudflat of the Faou river (Fig. 2). For each 1 000 cm² sample, the matter composing the reef was collected and placed in plastic bags separate from the underlying sediment. For each 1 000 cm² sample, the sediment itself was collected down to a depth of 10 cm, sieved on 1 mm mesh and then placed in plastic bags for later infaunal species analysis. Two cores (6 cm diameter) were also taken per 1 000 cm² sample, to analyse organic matter content and the sediment particle size. For comparison with the native habitat, five 1 000 cm² samples of bare sediment close to the reef (2-3 m) were randomly sampled using the same protocol and analysed for sediment and macrofaunal characteristics.

Hard substratum samples were taken on the rocky shore at the Pointe du Château (Fig. 2). Five 1 000 cm² samples of oyster reef were collected and five 1 000 cm² samples from rocky substratum without oysters. For each sample, all epifaunal organisms were collected in plastic bags and then frozen. A total of 45 samples were analysed.

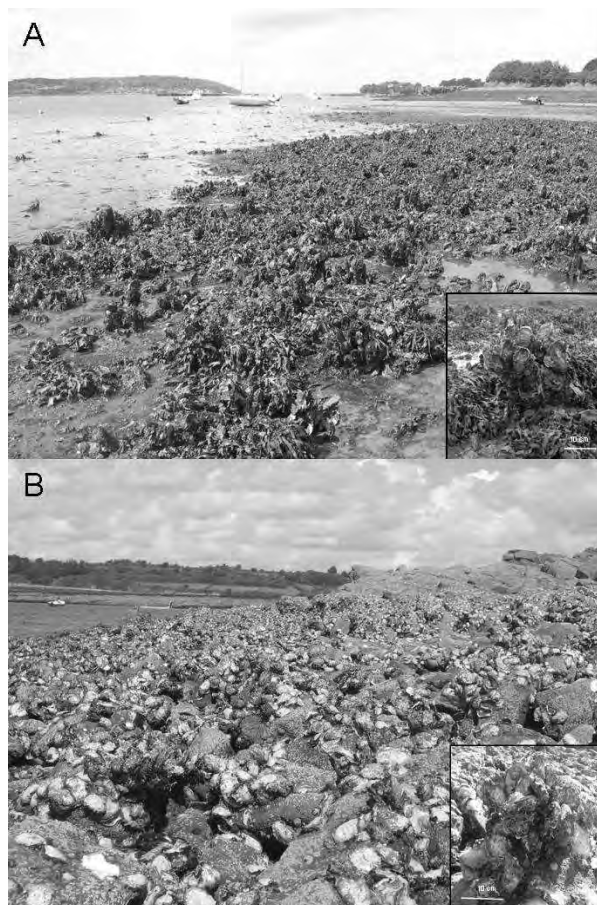


Figure 2: Oyster reefs on mud at Faou river site (A) and on rock at Pointe du Chateau site (B)

Laboratory measurements

To characterize the reef habitat structure, we measured the following parameters for each reef sample: wet weight, water displacement volume and developed surface. Developed surface was quantified by covering the whole surface of the reef sample, including the interior surfaces of the larger crevices, with pieces of fine paper of known area. This parameter is an expression of the surface available for epibenthic species. All individuals of this group found in the samples were identified to the species level (except nemerteans and oligochaeta). Encrusting animals (sponges, bryozoans and colonial ascidians) were not considered in this study because they could neither be individually counted and weighted, nor identified to the species level. For each sample, individuals were pooled by trophic group and weighed (Ash Free Dry Weight; AFDW). For sediment samples, where biomass was low, the five replicates were pooled. Organic matter content (%) was calculated from the differences between dry weight (48h at 60°C) and AFDW in each core sample of soft substratum. Particle size analysis was made on a 13 Afnor sieve series (10 000 to 63 μ).

Data analysis

Statistical analysis:

ANOVA was used to compare macrofaunal abundance between muddy and rocky substrata and between substrata and reefs. Student *t*-tests were used to compare surface, volume, wet weight and trophic group biomass between reefs on the two substrata, and organic matter content. A Kolmogorov-Smirnov test was used to compare particle size distribution between bare sediment and sediment under reef. These analyses were performed using Statgraphics Plus 5.1 statistics software.

Multivariate analysis was performed to compare reef communities between the two substrata, using PRIMER v6 software. Bray-Curtis similarity coefficients between macrofaunal samples were calculated based on fourth-root transformed data. Coefficients were then used to classify samples by similarity in a hierarchical cluster analysis.

Biotic Coefficient

As stated in Hily (1984), soft-bottom macrofauna can be classified into five groups, according to their sensitivity to an increasing stress gradient of organic matter enrichment. These groups are defined below:

Group I. Very sensitive species

Group II. Indifferent species

Group III. Tolerant species

Group IV. Second-order opportunistic species

Group V. First-order opportunistic species

Here we use the percentages of abundance of each ecological group, to obtain the biotic coefficient (BC or AMBI) as defined by Borja et al (Borja et al. 2000). This continuous index was used in the present study to compare patterns of macrofauna between sediment under reefs and neighbouring sediment without any reef development.

RESULTS

Physical characteristics of oyster reefs

In terms of surface, volume and total fresh biomass, results showed no significant difference between the reefs that had developed on soft and hard substrata (Fig.3; t-test $p > 0.1$). The surface available for epibenthic species was increased by a factor of 4 when a reef had colonized the substratum (Fig. 3A). Indeed for 1 m² of colonized substrata, the reef added 3.87 m² (SD = 0.94) on soft sediment and 3.97 m² (SD = 1.89) on rock. Reef volumes were 21.62 L m⁻² (SD = 4.66) on soft sediment and 25.93 L m⁻² (SD = 6.67) on rock (Fig. 3B) and corresponded to 33.65 kg m⁻² (SD = 5.34) and 39.51 kg m⁻² (SD = 7.96), respectively (Fig 3C), including shells of dead and living oysters.

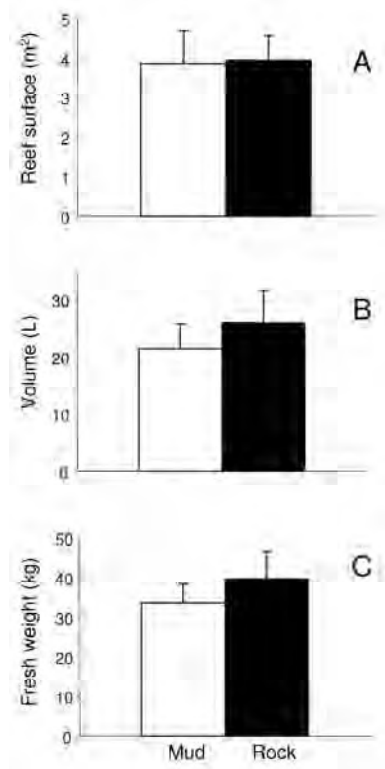


Figure 3: Mean surface (A), volume (B) and total fresh weight (C) of oyster reefs on 1 m² of mud (Faou river) and rock (Pointe du Chateau). T-tests revealed no significant difference between oyster reefs on the two subjacent substrata for these 3 parameters. Error bars represent one standard deviation.

Impacts on indigenous intertidal communities

(nb: *C. gigas* is excluded from the analysis of the associated macrofauna)

Abundance

Infaunal abundance was 3 times higher in the sediment under oyster reefs than in uncolonized sediment (Fig. 4). This ratio reached 20 when we compared the abundance of total macrofauna of the new habitat, including both the reef and the sediment beneath it, with the original mud infaunal species. On the hard substratum, the colonization by oyster reefs increased abundance by a factor of 5 (Fig. 4). Macrofaunal abundance on bare rocks was more than 15 times higher than in bare mud. This difference is explained by barnacles, the most abundant species on this hard substratum community, that can reach densities of 10 000 m⁻² (Tab. 1) on bare rocks but do not occur on mud.

On the reefs, the trend between hard and soft substrata was the same but less pronounced. Macrofaunal abundance was more than 3 times higher in reefs present on rocks than those on mud. Barnacles were the most abundant species on reefs on both rock and mud.

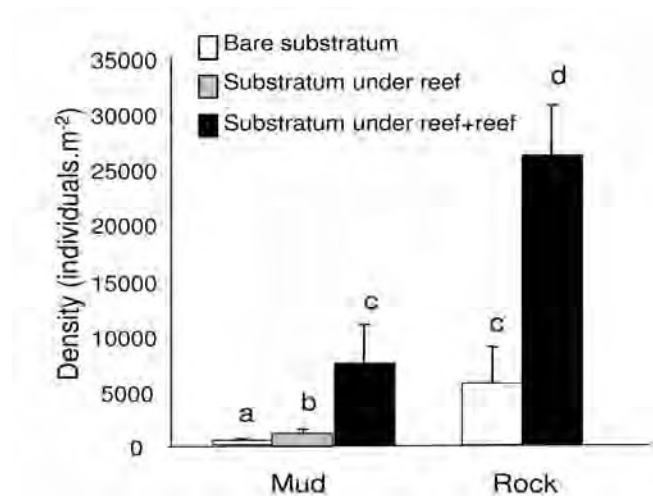


Figure 4: Mean macrofaunal abundance by habitat on mud (Faou river) and rock (Pointe du Chateau). Bars with different lower case letters are significantly different ($P < 0.05$). Error bars represent one standard deviation.

*Table 1: Mean abundance (individuals m⁻²) of associated macrofauna species.
For native habitat, S: soft substratum, R: rocky substratum, I: indifferent and O: oysters*

Taxa	Species	Native habitat	Mud shore			Rocky shore	
			Non-colonized soft sediment	Sediment under reef	Reef	Non-colonized substrata	Reef
Bivalves	<i>Abra alba</i>	S	7	7	12		
	<i>Abra nitida</i>	S		20	2		
	<i>Aequipecten opercularis</i>	S			2		
	<i>Anomia ephippium</i>	S			38		
	<i>Anomiidae sp</i>	R					8
	<i>Cerastoderma edule</i>	S		7			
	<i>Chlamys varia</i>	R			28		
	<i>Corbula gibba</i>	S			2		
	<i>Hiatella arctica</i>	R			2		
	<i>Lasaea adansoni</i>	R					8
	<i>Modiolarca subpicta</i>	R			2		4
	<i>Modiolus barbatus</i>	R	7	27	106		20
	<i>Mytilus edulis</i>	R			14		286
	<i>Ostrea edulis</i>	R					2
	<i>Parvicardium exiguum</i>	S			4		
	<i>Ruditapes philippinarum</i>	S	7		2		
	<i>Timoclea ovata</i>	S		7			
	<i>Venerupis senegalensis</i>	S			10		
Gastropods	<i>Bittium reticulatum</i>	R		7	6		
	<i>Crepidula fornicata</i>	S	7	34	112		
	<i>Discodoris millegrana</i>	R			4		
	<i>Gibbula umbilicalis</i>	R					162
	<i>Littorina littorea</i>	R					16
	<i>Littorina obtusata</i>	R			2		6
	<i>Nucella lapillus</i>	R				4	34
	<i>Ocenebra erinacea</i>	R					6
	<i>Osilinus lineatus</i>	R				2	4
	<i>Patella depressa</i>	R				52	38
	<i>Patella ulyssiponensis</i>	R					10
	<i>Patella vulgata</i>	R				20	38
	<i>Rissoa parva</i>	R			10		
	<i>Turbonilla lactea</i>	R			26		
Polyplacophores	<i>Acanthochitona crinita</i>	R			30	2	172
	<i>Lepidochitona cinerea</i>	R			2		
	<i>Leptochiton asellus</i>	R					18
Amphipods	<i>Corophium lacustre</i>	R					2
	<i>Gammarus finmarchicus</i>	S			6		
	<i>Gammarus marinus</i>	R					2
	<i>Gammarus obtusatus</i>	R					6
	<i>Gammarus salinus</i>	S		27	20		
	<i>Hyale perieri</i>	R					32
	<i>Maera grossimana</i>	R					6
	<i>Melita palmata</i>	S	27	41	546		32
	<i>Microdeutopus sp</i>	S			4		
	<i>Microdeutopus chelifer</i>	S			44		
Cirripeds	<i>Balane sp</i>	R			48		
	<i>Balanus perforatus</i>	R				2	664
	<i>Elminius modestus</i>	R			3062	5580	21378
	<i>Semibalanus balanoides</i>	R			20		
Decapods	<i>Athanas nitescens</i>	S		27	4		
	<i>Carcinus maenas</i>	I	7	34	142		36
Isopods	<i>Dynamene bidentatus</i>	R					42
	<i>Gnathia maxillaris</i>	R					2
	<i>Gnathia vorax</i>	R					28
	<i>Gnathiidae sp</i>	R					56
	<i>Idotea chelipes</i>	S			4		
	<i>Jaera albifrons</i>	R			8		32
	<i>Jaera forsmanni</i>	R					12
	<i>Paragnathia formica</i>	R					2
	<i>Sphaeroma serratum</i>	R					6

Table 1: continued

Taxa	Species	Native habitat	Mud shore			Rocky shore	
			Non-colonized soft sediment	Sediment under reef	Reef	Non-colonized substrata	Reef
Errant polychaetes	<i>Eulalia viridis</i>	R				4	100
	<i>Eumida punctifera</i>	R					2
	<i>Glycera convoluta</i>	S	14	14			
	<i>Glycera rouxii</i>	S	20	7			
	<i>Lepidonotus clava</i>	R					2
	<i>Malmgreniella arenicolae</i>	R					10
	<i>Malmgrenia sp</i>	R					2
	<i>Nematonereis unicornis</i>	S			4		4
	<i>Nephtys ciliata</i>	S			2		
	<i>Nephtys hombergii</i>	S	135	47	4		
	<i>Perinereis cultrifera</i>	S			2		
	<i>Perinereis marionii</i>	R					34
	<i>Pholoe minuta</i>	S			2		
	<i>Phyllodoce laminosa</i>	R	7				
	<i>Phyllodoce maculata</i>	R	7				
	<i>Phyllodoce mucosa</i>	R					6
	<i>Platynereis dumerilii</i>	S			88		
	<i>Poecilochaetus serpens</i>	S		7			
	<i>Sthenelais boa</i>	S		7	6		2
<i>Syllis amica</i>	R				2	40	
Sedentary polychaetes	<i>Amaeana trilobata</i>	S					2
	<i>Aphelochaeta filiformis</i>	S			8		
	<i>Aphelochaeta marioni</i>	S	20	34	4		
	<i>Boccardia polybranchia</i>	R					10
	<i>Capitella capitata</i>	S		14			
	<i>Capitellidae sp</i>	S		14			
	<i>Capitomastus minimus</i>	S		20			
	<i>Caulleriella bioculata</i>	R	7	7			
	<i>Chaetozone setosa</i>	S					2
	<i>Cirratulus cirratus</i>	S	7	14	2		
	<i>Cirriformia tentaculata</i>	S	7	521	20		
	<i>Dexiospira pagenstecheri</i>	R			394		
	<i>Euclymene oerstedii</i>	S		20			
	<i>Eupolymnia nebulosa</i>	S					4
	<i>Heteromastus filiformis</i>	S	20	14			
	<i>Magelona alleni</i>	S	7				
	<i>Maldanidae sp</i>	S		7			
	<i>Neodexiospira pseudocorru</i>	R				18	2346
	<i>Notomastus latericeus</i>	S		20			
	<i>Polydora caeca</i>	O			10		
	<i>Polydora ciliata</i>	R			2		
	<i>Polydora hoplura</i>	O			2		
	<i>Polydora sp</i>	O					4
	<i>Pomatoceros triqueter</i>	R			126		
	<i>Prionospio malmgreni</i>	S		27	14		
	<i>Spionidae sp.</i>	S			4		
	<i>Terebella lapidaria</i>	S					320
Oligochaetes	<i>Olygochaetea sp</i>	S		47	150		
Ascidians	<i>Ascidia mentula</i>	R		14	88		
	<i>Styela clava</i>	I			8		2
Cnidaria	<i>Anemonia sp 1</i>	R			244		
	<i>Anemonia sp 2</i>	R	7	14	22		
	<i>Anemonia sp 3</i>	R	14		34		
	<i>Anemonia viridis</i>	R					
	<i>Halcapma sp</i>	S	34	7			
Echinodermata	<i>Amphipholis squamata</i>	S		61	178		
	<i>Asterina gibbosa</i>	R					2
	<i>Holothuria sp</i>	S		7			
Fishes	<i>Lumpenus lumpretaeformis</i>	S					2
Nemertea	<i>Cephalothrix linearis</i>	S			4		
	<i>Nemertea sp</i>	S			6		8

Species richness

On the mud shore, the presence of an oyster reef significantly increased species richness in the sediment ($p < 0.0001$). Indeed, 20 (Mean = 7.2, SD = 3.4) species were found in the bare sediment samples while 33 (Mean = 13.4, SD = 4.9) were found in sediment below the oyster reef (Tab. 1). In the reef samples themselves, 58 (Mean = 39.6, SD = 4) epifaunal species were found. This trend is reflected at a higher level of classification: sediment under oyster reefs contained a larger number of different taxonomic groups than uncolonized sediment. Species richness (number of species) was higher in the sediment under reefs compared with bare sediment, but proportions of molluscs (21 % and 21 % respectively), crustaceans (12 % and 10 % respectively) and annelids (57 % and 54 % respectively) remained unchanged. On the reefs, 14 taxonomic groups were found, and proportions of molluscs (36 %) crustaceans (19 %) and annelids (32 %) were different from those found in the sediment.

On the rocky substratum, 10 (Mean = 5.4, SD = 1.7) species were found on bare rocks while 55 (Mean = 33, SD = 2.3) species were found on the reef (Tab. 1). Higher taxa were also more diverse on the reef than on bare rocks. In a similar way as on the mud shore, proportions of molluscs (50%), crustaceans (20%), and annelids (30%) on bare rocks were different from those found on the reef, where each group represented 31%. It can be noted that these percentages are quite similar between reefs on mud and rocky substrata.

Trophic groups

In bare sediment, the most abundant trophic groups in term of biomass were suspension feeders, then carnivores and micrograzers (Tab. 2). As for abundance and species richness, the biomass was almost double in the sediment beneath a reef compared with bare sediment. In the sediment under a reef, carnivores were dominant, then came micrograzers and deposit feeders; the biomass of suspension feeders was, however, hugely reduced. Carnivores were also dominant on the reef, followed by deposit feeders. Suspension feeders, micrograzers and detritus feeders were also present on the reef, but in lesser biomass than the two precedent trophic groups.

On bare rocks, micrograzers were largely dominant with some suspension feeders and carnivores also present. Biomass was significantly higher on oyster reef over hard substrate than on bare rocks, but micrograzers were still the highly dominant trophic group (Tab. 2). Deposit and detritus feeders occurred only on oyster reefs.

Table 2: Biomass ($g.m^{-2}$) of trophic groups. SD given in parentheses.

	Mud (Faou River)			Rock (Pointe du Château)	
	Bare sediment	Sediment under reef	Reef	Bare rock	Reef
Suspension feeders	2,16	0,25	1,68 (1,63)	1,58 (1,40)	3,87 (1,22)
Micro-grazer	0,78	1,81	1,35 (0,74)	13,80 (3,95)	13,67 (4,28)
Deposit feeders	0,01	0,73	4,49 (2,89)	0,00	1,77 (1,17)
Detritic feeders	0,00	0,01	0,92 (0,51)	0,00	1,71 (1,35)
Carnivore	1,22	5,03	13,81 (8,82)	0,51 (0,57)	3,12 (1,48)
Total	4,16	7,84	22,25 $\pm$ 4,84	15,89 (5,34)	24,15 (4,50)

Ecological groups

In bare sediment, the most abundant group was group II (Fig. 5), followed by group I and IV. Biotic coefficient (BC) was 1.5 (SD = 0.4), a value which corresponds to a slightly polluted level with an unbalanced benthic community. Under the reef, group IV was largely dominant but group I was still present in a higher proportion than groups II and III. Group V was present on the reef, corresponding to the presence of the polychaete *Capitella capitata* (Tab. 1). Under the reef, BC was 3.3 (SD = 0.2) and therefore higher than in bare sediment; the increase in coefficient corresponds to an increase in organic enrichment but remains at only the slightly polluted level.

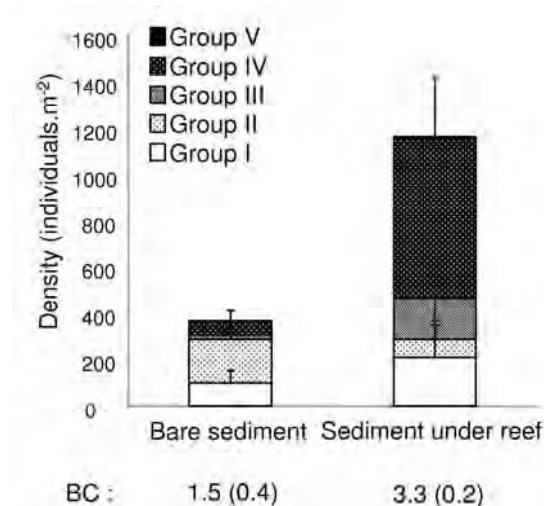


Figure 5: Mean abundance of ecological groups and biotic coefficient (BC) for bare sediment and sediment under the reef at the Faou river site. Error bars represent one standard deviation. BC: Biotic Coefficient or AMBI.

Sediment organic matter content and particle size analysis

Previous results on fauna were confirmed by sediment organic matter analysis. There was no significant difference between the level of organic matter in bare sediment (4.9 %, SD = 0.5) and in sediment under oyster reefs (5.47 %, SD = 0.47). Particle size analysis also showed no significant difference between bare sediment and sediment under oyster reefs (Fig 6.). Oysters seemed to reduce the proportion of very fine particles (< 63µm) and increase the proportion of very large particles (> 1250µm), but these differences were not statistically significant.

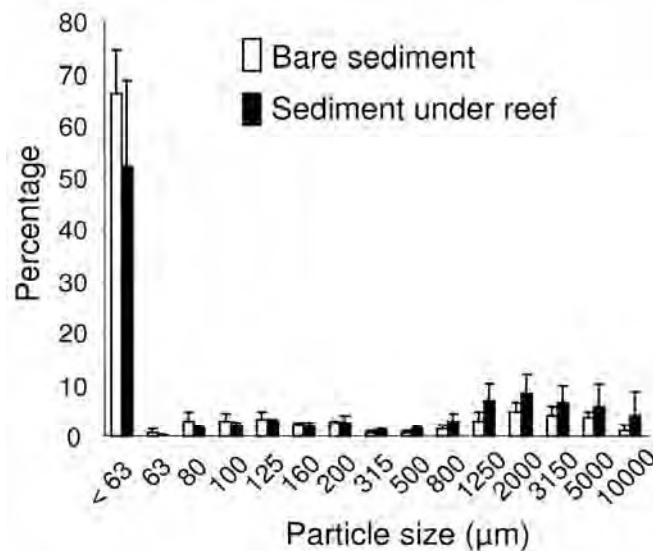


Fig 6. Particle size analysis of bare sediment (in white) and sediment under the reef (in black) at the Faou river site. Error bars represent one standard deviation

Comparison of community composition

Even though the physical characteristics of oyster reefs on soft and hard substrata seem similar, their macrofauna showed only 11 species in common (Tab. 1): 17.5 % and 20 % of the total species present on reefs over mud and rocks respectively. The dendrogram resulting from hierarchical classification analysis (Fig. 7) confirms that macrofaunal assemblages were markedly different between the two reefs. It can also be seen that 41% of the species present in the reefs formed on soft sediment were characteristic of rocky substrate habitat. Conversely, only 16 % of the species present in the reefs on rocky substrate were characteristic of soft sediment habitat (Tab. 1).

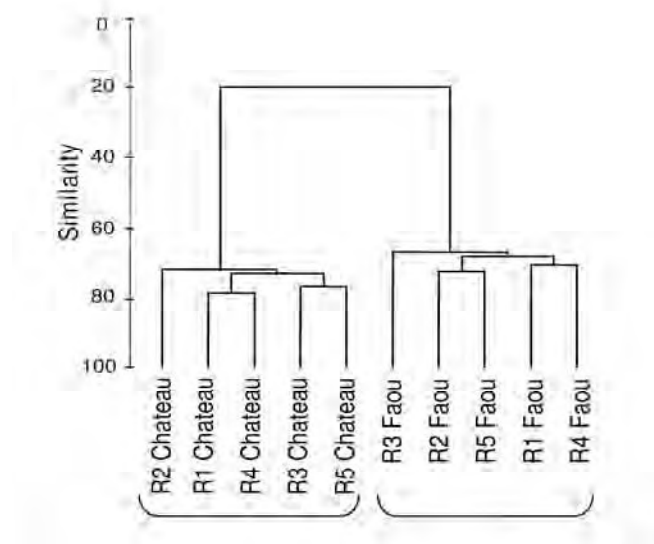


Fig 7. Dendrogram of reef macrofaunal assemblages at the Pointe du Chateau (Reef samples (R)1-5 Château) and Faou river (Reef samples (R)1-5 Faou) sites. The Bray-Curtis association measure was used to determine multivariate similarity between sites.

DISCUSSION

Impacts of a new biogenic habitat on intertidal communities

Oysters drastically change the physical characteristics of the native habitat on both soft and hard substrata when colonization results in reef formation. *C. gigas* creates a more complex 3D habitat structure on these substrata and increases the surface available for epifauna and algae by a factor of 4. By modifying the initial physical environment and creating a new habitat that can be used by other species, *C. gigas* can be defined as an ecosystem engineer (Kochmann et al. 2008, Markert et al. 2009) as described by Jones et al. (1994; 1997): “physical ecosystem engineers are organisms that directly or indirectly control the availability of resources to other organisms by causing physical state changes in biotic or abiotic materials. Physical ecosystem engineering by organisms is the physical modification, maintenance, or creation of habitats. The ecological effects of engineering on other species occur because the physical state changes directly or indirectly control resources used by other species”. Crooks (2002) showed that many ecosystem engineers today are exotic species like *C. gigas*. The role of the Pacific oyster as an ecosystem engineer is much more pronounced on soft sediment because hard substrate is built where it was initially rare. The physical characteristics of oyster reefs tend to be the same whatever the underlying substratum, as though the physical structure of *C. gigas* reef was intrinsically determined. *C. gigas* can also

be defined as an autogenic engineer, as the organisms themselves are part of the engineered habitat (Jones et al. 1994; 1997). By creating their own reefs, *C. gigas* shell aggregations introduce complexity and heterogeneity into benthic environments and are thus important elements of habitat structure that affect community- and ecosystem-level processes (Simenstad and Fresh 1995; Gutierrez et al. 2003).

Macrofaunal analysis showed that abundance and species richness are higher on reefs than on bare substratum. Equivalent patterns have already been found on natural oyster beds (Escapa et al. 2004, Kochmann et al. 2008) , on cultivated oyster beds (Hosack et al 2006, Kelly et al 2008), and are well known in *Crassostrea virginica* reefs (Coen and Luckenbach 2000; Meyer and Townsend 2000; Grabowski et al. 2005; Shervette and Gelwick 2008). Increases in abundance can partly be explained by the increased available surface on which macrofauna can attach (Dumbauld et al. 2001). This effect is further enhanced by the fact that *C. gigas* produces large ornamented shells that are known to support more individuals of fouling species than do small shells (Creed 2000; Gutierrez et al. 2003). The fact that overall macrofaunal abundance is more than 3 times higher in reefs present on rocks than those on mud can be explained by barnacle sensitivity. Barnacles are the most abundant species on reefs both over rock and mud, but studies show that the proximity of muddy sediment reduces barnacle settlement and survival (Silina 2002). Another hypothesis is that when oysters colonize the tidal zone, they can be considered as a clean substrate, free from epibiotic macrofauna. To colonize this new habitat, epibionts can either spread from the substrate around or under the reef or their larvae can settle on the reef. This is probably why abundance is higher on reefs formed on a rock substrate than those formed on a mud substrate. Indeed, as species that live on reefs are mostly those characteristic of a rocky substrate, to colonize reefs on rock they arrive by migration and settlement whereas to colonize reefs on mud they rely exclusively on larvae settlement. This phenomenon is much more pronounced for young reefs, such as those in the Bay of Brest, than it is for older ones.

Species richness is higher in soft sediment under reefs than in bare sediment, and higher on reefs than on bare substratum for the two types of substrata. There is also greater diversity at a higher level of classification, which confirms a real biodiversification. Reefs provide an increased surface for macrofauna and, as abundance studies have shown, illustrate that large shells support a greater species richness than smaller ones (Gutierrez et al. 2003) and also provide various microhabitats that are different from native habitat, bare mud and rocks (Lohse 1993). The provision of diversified microhabitats and sediment caught up

among *C. gigas* shells, explains the presence of mud species like *Amaena trilobata* or *Chaetozona setosa* (infaunal polychaetes) in the reefs that colonized rocks.

These results clearly show that *C. gigas*, by creating a new complex habitat, increases the main global structure parameters (i.e. species richness, abundance, biomass) for macrofaunal communities of native habitats.

An important result is that infaunal abundance increases under reefs compared with bare soft sediment. In the case of cultivated oyster beds, Castel et al.(1989) suggested that this increase is due to oyster biodeposits, which provide increased food resources for fauna.

A way to detect organic enrichment in soft sediment communities is to use ecological groups (Hily 1984) and Biotic Coefficient (Borja et al. 2000). In the uncolonized sediment, the BC value of 1.5 (SD = 0.4) corresponds to slightly polluted conditions with an unbalanced benthic community. This value is the most common value found in European estuarine and coastal environments (Borja et al. 2000). Even though oyster reefs increase BC in the sediment (3.3; SD = 0.2), it still corresponds to only slightly enriched conditions. This increase in BC may indicate lower oxygenation conditions rather than an organic enrichment. Indeed, sediment under a reef is more confined than in bare mud, and water circulation and therefore oxygenation is probably reduced. This hypothesis is supported by organic matter and particle size analysis. No organic or silt enrichment was measured in the sediment beneath the reef. We know that oysters produce a large amount of biodeposits (Haven and Morales-Alamo 1966; Razet et al. 1990; Hayakawa et al. 2001), but these are probably washed away from the area every day by the powerful tide, currents and waves. Therefore at this step of the invasion, effects of organic enrichment by oyster biodeposits on intertidal communities remain weak in the vicinity of the oyster reefs. The mass of biodeposits washed away from the reefs could sediment in areas further away and, on a larger scale, contribute to the overall increase of the mud fraction in coastal sediments.

Phyla representation gives another kind of information on the impact of *C. gigas* on intertidal communities. In soft sediment, reefs have no effect on infaunal taxa composition. Indeed proportions of molluscs, crustaceans and annelids remain the same whether or not a reef has developed above them. However the new habitat is composed of both the sediment and the reef above, and proportions of higher taxa in the reef are quite different from those of the sediment. Indeed the proportion of annelids is lower, with relatively more molluscs and crustaceans. Proportions of taxa in the new ecosystem as a whole are, therefore, not exactly the same as in the native one. On rocky shore, substrate without oyster reef development is largely dominated by other molluscs, while in oyster reefs the proportion of molluscs is less

and there are more crustaceans. The proportion of annelids is the same between native rocky substrate communities and oyster reefs. Therefore reefs have an effect on the taxonomic composition of the community.

Impacts of oyster reefs can also be studied from a more functional point of view, for example in terms of community trophic group analysis. On soft sediment, native infaunal species is dominated by suspension feeders and to a small degree by carnivores. When mud is colonized by oyster reefs, biomass increases but carnivores become largely dominant and the proportion of micrograzers increases. In the reef itself, sediment carnivores are also largely dominant, followed by selective depositores. Reef building therefore modifies trophic composition of the intertidal communities overall by increasing the proportion of carnivores. On rocky shore, reefs increase macrofaunal biomass but proportions of the trophic groups remain unchanged. Micrograzers are dominant on bare rocks as well as on reef. This can be explained by the fact that even though mud specific species can colonize reefs on rocky shores, this new habitat is in fact a more complex hard substratum. Micrograzers that live on bare rocks can therefore easily colonize oyster reefs while, on soft sediment, suspension feeders that live in mud rarely colonize reefs. This is the reason why macrofaunal trophic composition is much more greatly impacted by the formation of oyster reefs on mud than on rocks.

These results should be considered cautiously because they only concern macrofauna. We also must not lose sight of the fact that the majority of the new biocenosis biomass consists of oysters, meaning that this new biocenosis is in fact dominated by suspension feeders on both substrata.

The larger spatial scale

Our last question was, were the whole of the intertidal shore of both soft and hard substrata to become colonized by oyster reefs, should we fear a uniformisation of biodiversity (even if augmented by the reefs) on a larger scale? Indeed we saw previously that mud specific species can colonize reef on rocky shore where they are initially absent and that rock specific species colonize reef on soft sediment. Our results show that 41% of the species present in the reefs on soft sediment are characteristic of rocky substrate habitat and only 16 % of the species present in the reefs on rocky substrate are characteristic of soft sediment habitat (Tab. 1). So the majority of the muddy reef community is composed of mud specific species and the majority of the rocky reef community is composed of hard substrate specific species. Furthermore, even though physical characteristics of oyster reefs on soft and hard

substrata seem to be similar, they have only 11 species in common (out of 123 identified, Tab. 1). The dendrogram confirms that macrofauna assemblages are markedly different between the two reefs. This difference may decrease as these reefs age, because colonization of the reefs on mud by species characteristic of rocky substrate takes longer and is much more difficult than for reefs on rock because migration from adjacent substrate is not possible. On a more functional level, analysis of trophic groups also showed that the rocky reef community is dominated by micrograzers, while the community of reefs on mud is dominated by carnivores. Reefs can colonize the intertidal shore and, for the moment, their communities seem to conserve characteristics of the original native habitat. On a larger scale, because oyster reefs act mainly as a habitat creating shelter and substrate for the local species, the species composition of the associated communities will vary according to the variability of the local set of species present in the environment. Consequently there is no reason (and our personal observations confirm this) that the β biodiversity should change when oyster reefs develop.

Management aspects

Today, the invasion of the coasts of Brittany by *C. gigas* is a very complex problem. On one hand, like all invasive species, *C. gigas* can have undesirable effects on native intertidal communities. Previous studies have shown major effects on native valuable habitats like mussel beds in the Wadden Sea (Reise 1998; Diederich et al. 2005), seagrass (Kelly et al. 2008) or *Sabellaria alveolata* reefs (Dubois et al. 2006). On the other hand, our study shows that *C. gigas* increases intertidal biodiversity of more simple communities. In addition, *C. gigas* has become a common species on Brittany coasts. The situation is exactly the opposite to that of *C. virginica* reefs in estuaries on the Atlantic Coast of the United States. Oyster reefs of *C. virginica*, are recognised as a valuable habitat that should be restored and protected from overfishing (Coen and Luckenbach 2000; Peterson et al. 2003; Rodney and Paynter 2006). *C. virginica* reefs are a native habitat exploited by man and are known to play multiple roles in the estuarine ecosystem (Ruesink et al. 2005): as a habitat for sessile and mobile invertebrates because they provide refuge, attachment surfaces and populations of prey; by influencing the flow of water within estuaries; by modifying patterns of sedimentation deposition, consolidation and stabilization; and by filtering large volumes of water. Although it has been degraded and reduced in size by destructive harvesting practices, the value of this habitat is now recognised, leading to protection and restoration programs. The first difference with the situation in France is that *C. gigas* is an exotic species. The

second is that, even though it is a cultivated species, the reefs are not exploited. *C. gigas* reefs therefore seem to be drastically changing the landscape of the Brittany shoreline, but do not yet have any commercial value. However, this situation will probably change following a mass mortality episode of cultivated oysters in summer 2008. Survival rate of wild oysters was found to be better than exploited stocks, so a decree was made to protect wild populations from potential non-professional exploitation to supply spat for cultivation.

Wild populations are therefore progressively becoming a valuable resource as well as a new habitat. Overall, more studies will be needed to fully assess the impact that these reefs can have on native ecosystems and particularly on sites of nature conservation interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Julie Gard-Baholet for her field and laboratory assistance. We also thank Benjamin Guyonnet, Jacques Grall and Michel Le Duff for their taxonomic expertise. This study was supported by the 'Région Bretagne' and the 'Ministère de l'Ecologie et du Développement durable'.

Chapitre 2 : Quelle est la contribution de *Crassostrea gigas* aux flux de CO₂ d'un écosystème côtier ?

1. Production spécifique de carbone et de carbonate de calcium par les activités de respiration et de calcification de *Crassostrea gigas*.

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication soumise dans le journal 'Journal of Experimental Marine Biology and Ecology', et présentée ci-dessous.

Respiration and calcification of *Crassostrea gigas*: contribution of an intertidal invasive species to coastal ecosystem CO₂ fluxes

Morgane Lejart ^{1*}, Jacques Clavier ¹, Laurent Chauvaud ¹, Christian Hily ¹

¹ *Laboratoire des sciences de l'Environnement MARin, CNRS UMR 6539, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université Occidentale de Bretagne, 29280 Plouzané, France*

* Corresponding author. E-mail : morgane.lejart@univ-brest.fr

Tel: + 33 2 98 49 88 18

Fax: + 33 2 98 49 86 45

Abstract

Respiration and calcification of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* T., were measured both in the air and underwater, considering seasonal variations and individual size, to estimate the effects of this exotic species on annual budgets of carbon in the Bay of Brest (France). Respiration and calcification rates changed significantly with season and size. Mean underwater respiration, determined from changes in dissolved inorganic carbon (DIC), were $9.76 \mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ and $31.99 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ for adults and juveniles, respectively. The mean daily contribution of *C. gigas* population-wide underwater respiration to DIC during immersion (14 h per day) was $6.13 \text{ mmol m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (SD 7.09). Mean aerial CO₂ respiration, estimated using an infrared gas analyser, was $0.71 \mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$ for adults and nil for juveniles, corresponding to a daily population-wide contribution of $0.27 \text{ mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (SD 0.32) when the mean daily emersion time is 10 h. Mean CaCO₃ uptake rates for adults and juveniles were $3.16 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{h}^{-1}$ and $45.22 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectively. The mean daily contribution of net calcification in the Bay of Brest *C. gigas* population to CO₂ fluxes during immersion (14 h a day) was estimated to be $1.99 \text{ mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (SD 2.30). Total carbon release by the Bay of Brest *C. gigas* population was $36.23 \text{ g C m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ and reached $327.22 \text{ g C m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ for densely colonized areas with relative contributions by underwater respiration, net calcification and aerial respiration of 74, 22.5 and 3.5%, respectively. These results emphasize the substantial influence this invasive species has on the carbon cycle, including biogenic carbonate production, in coastal ecosystems.

Keywords: CO₂, invasive species, *Crassostrea gigas*, respiration, calcification, intertidal.

Introduction

In the current context of global warming and the associated greenhouse gas concentration in the atmosphere, increasing attention has recently been given to CO₂ fluxes in marine ecosystems. Indeed, the ocean represents a sink for a substantial part of anthropogenic CO₂ emissions (Riebesell et al., 2007) and exchanges across the air-sea interface have been modified by increasing atmospheric CO₂ concentration (Wolf-Gladrow et al., 1997). Moreover, marine life also has an impact on aquatic dissolved inorganic carbon (DIC) concentrations (Frankignoulle et al., 1994). Marine organisms alter the concentration of DIC in seawater through the uptake of CO₂ during photosynthesis and its release during respiration. Precipitation and dissolution of calcium carbonate (CaCO₃) also contribute to CO₂ fluxes by inducing shifts in the seawater carbonate equilibrium according to the reaction $\text{Ca}^{2+} + 2 \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{CaCO}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (Frankignoulle et al., 1994).

While the coastal zone represents only 7% of the global ocean surface, it plays a major role in carbon biogeochemical cycles because it accounts for one-third of the total ocean primary production and nearly half of the deposition of calcium carbonate (Mantoura et al., 1991). Gattuso et al. (1998) suggested that temperate coastal ecosystems are net autotrophic, but little attention has been directed to the increasing impact of calcified invasive species on the carbon budget. However, high respiration rates and mineralization of the invasive clam *Potamocorbula amurensis* (Chauvaud et al., 2003) and the invasive slipper limpet *Crepidula fornicata* (Martin et al., 2006) have been shown to increase CO₂ partial pressure in seawater and subsequent CO₂ effluxes to the atmosphere in the San Francisco Bay and in the Bay of Brest, respectively.

In the present study, we examined the contribution of another invasive species, the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg), to the carbon flux in the Bay of Brest (France). *C. gigas* was intentionally introduced into France in the late 1960s to replace cultivated oyster stocks of *Ostrea edulis* and *Crassostrea angulata* decimated by disease (Grizel and Heral, 1991). For more than twenty years, *C. gigas* could not reproduce in Brittany because it requires temperatures greater than 18°C to spawn (Mann, 1979) and, up until recently, the water temperature was too low in this part of the European coast. However, with the rise in temperature that has occurred over the last decades, environmental conditions have become more favourable for spawning, and *C. gigas* started to brood in Brittany, as well as in the Wadden Sea (Diederich et al., 2005), in the 1990s. Today, sustainable wild populations have become established in the intertidal zone along the coast of Brittany. Although populations

are found on exposed shores, the highest densities, with more than 800 individuals m⁻² (Lejart and Hily, 2005), are reached in estuarine and sheltered situations, as in the Bay of Brest where the total stock of wild oysters, distributed over 3 km², was estimated at 10 000 tons in 2005 (Lejart and Hily, 2005).

C. gigas preferentially settles on intertidal rocky substrates that are primarily dominated by barnacles. Some recent studies have estimated that barnacle respiration and calcification is a net source of CO₂ (Gollety et al., 2008; Clavier et al. 2009). Nevertheless, the contribution of entire intertidal rocky community to atmospheric CO₂ remains largely unknown. As a result of the massive *C. gigas* proliferation on rocky shores, it is essential to assess its contribution to atmospheric CO₂. In addition, since *C. gigas* shells are rapidly colonized by barnacles, (Lejart and Hily, 2007), the impact of *C. gigas* on CO₂ fluxes may be all the greater. Furthermore, *C. gigas* undergoes the immersion/emersion cycles of the tides and, while its underwater respiration has been estimated (Gerdes, 1983; Bougrier et al., 1995; Ren et al., 2000; Mao et al., 2006), its aerial respiration has never been measured.

The objective of the present study was (1) to estimate the contribution of this invasive species to atmospheric CO₂ through its respiration and calcification processes, both in the air and underwater, for highly colonised areas and for the whole ecosystem of the Bay of Brest and (2) to test the influence of individual size, tidal-induced variability and season on CO₂ fluxes.

Materials and methods

Oyster sampling and maintenance

Pacific oysters (*C. gigas*) were collected at low tide from the Pointe du Château site in the Bay of Brest (Fig.1) the day before laboratory measurements. At this site, *C. gigas* has an average density of 375 ind. m⁻². The site is flooded twice a day by the tide and the *C. gigas* population is thus submerged for an average of 7 h per tidal cycle. Adults from 80 to 110 mm total length were collected on rocks whereas juveniles were sampled from oyster farming collectors. Samples for the assessment of underwater respiration were collected seasonally in June (spring), October (summer), December (autumn) 2007 (only adults) and February (winter) 2008. Further samples were collected from the same site in October 2007, February and May 2008 to evaluate aerial respiration.

Juveniles are oysters that are younger than one year of age, i.e. oysters that settled in summer 2006 for experiments performed in June 2007, and in summer 2007 for experiments in February 2008 and May 2008. Experiments were performed in October 2007 with juveniles that settled during summer 2006 because those of summer 2007 were too small at that time. In the laboratory, oysters were gently brushed to remove epibionts. Then, both adults and juveniles were placed in polypropylene nets containing 2 to 10 oysters. They were kept in a temperature-controlled room with artificial cycles of immersion and emersion synchronized with the natural tidal cycle. During emersion, the air temperature around the oysters simulated natural conditions, and during immersion, animals were covered by flowing seawater pumped from the Bay of Brest (natural salinity and temperature). The water level in the tank containing oysters was regulated with a timer-controlled water pump located in a lower reservoir as explained by Allen et al. (2008). When the pump was on, the water level remained above the oysters, overflowing into a standpipe to a sump. When the pump turned off, the water drained from the tank into the sump in about 40 min through a small drain at the lower part of the tank, gradually exposing the oysters to the air.

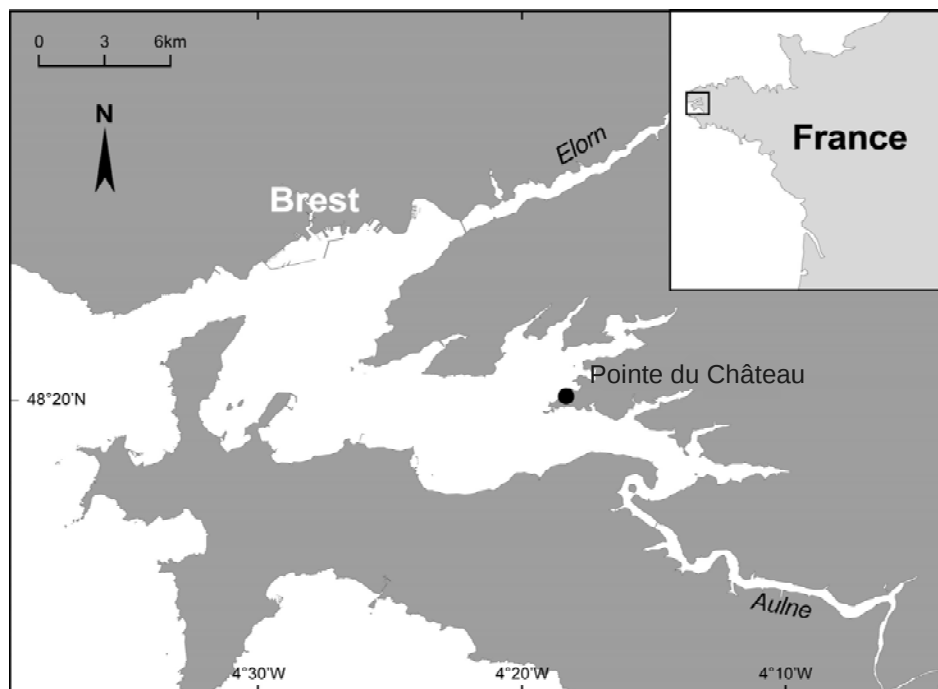


Figure 1: Study area in western Brittany (France) and location of the experimental site, Pointe du Chateau.

Underwater respiration

The day after collection, after 1 h of submersion, oysters were placed into 5.4 L (2-10 adults) or 2.1 L (2-10 juveniles) opaque plastic bottles filled with natural filtered seawater. Bottles were incubated in the dark for a period of 1.5 to 3 h in a 800 L tank with flowing seawater pumped in from the Bay of Brest (natural temperature), together with a reference bottle without any oysters. The water in each bottle was gently stirred with a small propeller to ensure good mixing.

Total alkalinity (TA) and pH measurements were done on water samples taken from each bottle at the beginning and end of incubation. The pH (total scale) was measured immediately, before CO₂ exchange with the air could occur, using a pH probe (Radiometer pHC2401) standardized with Tris-HCl and 2-amminopyridine/HCl buffer solutions (DOE, 1994). TA samples were filtered through 0.7 µm Whatman GF/F filters, poisoned with HgCl₂ and stored in 250 mL bottles in a cool, dark place. Analyses were carried out within one week. TA (meq L⁻¹) was determined on 20 ml sub-samples by automatic potentiometric titration to the second end point (Radiometer, Titrilab TIM 865) using 0.01 mol L⁻¹ HCl. Water temperature was measured at the beginning and end of the incubation. Salinity, phosphate and silicate concentrations were provided by the Marel Iroise Station (IUEM-UBO, Observatoire du Domaine Côtier), located near the pumping station that provided the water for the experiments. The concentration of DIC was calculated from pH, TA, temperature, salinity, phosphate and silicate concentrations (Lewis and Wallace, 1998).

Aerial respiration

To measure aerial respiration, samples were placed on a flat table in a temperature-controlled room. They were covered with a 3.4 L opaque chamber with an airtight rubber seal and connected via a closed circuit to an infrared gas analyser (Li-Cor, LI 820). An adjustable pump (Brailsford, TD22N) maintained an air flow of 0.8 L min⁻¹ into the circuit. A desiccation column filled with anhydrous calcium sulphate (Drierite, USA) was placed at the analyser gas inlet to remove humidity from the air. The CO₂ partial pressure (pCO₂; in parts per million, ppm = µmol CO₂ mol air⁻¹) was displayed on a laptop computer and recorded at 5 s intervals for about 5 min. Aerial respiration during ‘low tide’ was measured in the same way on five sets containing 2, 4, 6, 8 and 10 oysters, both adults and juveniles, and a control without any oysters. CO₂ fluxes were measured every hour during emersion. The experiments

were repeated in a temperature-controlled room with six different levels of air temperature and humidity (4.4°C, 87% (only adults); 4.5°C, 91.3%; 11.9°C, 91%; 16°C, 62.3%; 19.9°C, 50.6%; and 27.2°C, 40.7%) to simulate normal conditions in the natural environment.

Calcification and carbonate dissolution

The oyster shell is produced essentially during immersion periods (Lutz and Rhoads, 1977) because shell growth requires the immediate availability of calcium from seawater (Bourget and Crisp, 1975). Net calcification of *C. gigas* was thus estimated during immersion only, using the alkalinity anomaly technique (Smith and Key, 1975) based on the fact that total alkalinity decreases by 2 eq for each mole of CaCO₃ precipitated. This method has proven successful for measuring calcification on isolated organisms (Martin et al., 2006).

To calculate the contribution of calcification to CO₂ fluxes, we estimated Ψ , the molar ratio of CO₂ released by calcification to calcium carbonate precipitated, as a function of the average temperature at each season, according to Frankignoulle et al. (1994).

Since part of the natural population is composed of dead shells, the rate of carbonate dissolution is needed to estimate the overall contribution of *C. gigas* to CO₂ fluxes in the Bay of Brest. Fifteen adult oysters were collected at the Pointe du Chateau site in February 2007 and shells were placed for 48 h in a 10% hydrogen peroxide solution to eliminate residual organic matter. Shells were then weighed after having been dried at 60°C for 48 h. All the shells were placed in a tank with flowing seawater pumped from the Bay of Brest (natural temperature and salinity conditions). Shells were dried at 60°C for 48 h and weighed every 30 days over 5 months. The carbonate dissolution rate was estimated from the slope of the change in shell weight over time.

Data treatment

Underwater respiration in each bottle was calculated from the difference between initial and final concentrations in DIC:

$$R(\text{DIC}) = \frac{\Delta \text{DIC} \times v}{\Delta t \times 10^3} - G$$

$$G = \frac{\Delta \text{TA} \times v}{2 \times \Delta t}$$

where: R is the respiration in DIC in a bottle (mmol h⁻¹), G, the net calcification in CaCO₃ in a bottle (mmol h⁻¹), v, net bottle volume (L); Δt, incubation time (h); ΔDIC, change in total inorganic carbon concentration (mmol L⁻¹ and ΔTA, change in total alkalinity (meq L⁻¹).

Calcification was corrected from Ψ to calculate their contribution to DIC fluxes.

In the air, the flux of CO₂ (mmol L⁻¹ h⁻¹) corresponds to the slope of the change in CO₂ partial pressure over time during the incubation period, corrected for the net volume of the chamber and incubation time.

The relationship between these fluxes and the ash free dry weight (AFDW) biomass of oysters gives an estimation of flux per gram of biomass (mmol L⁻¹ h⁻¹ g⁻¹). As both flux and biomass are affected by natural variability, their relationship was established using a functional regression.

The mean daily contribution of the Bay of Brest *C. gigas* population to CO₂ flux (Pflux) per surface unit (mmol m⁻² j⁻¹) was calculated as follows:

$$P \text{ flux} = [(AdFlux \times Adbiomass) + (Juvflux \times Juvbiomass)] \times t$$

where AdFlux is the flux for adults (underwater respiration, aerial respiration or calcification, mmol h⁻¹ g⁻¹), Adbiomass is the mean adult biomass per surface unit in the Bay of Brest (g m⁻²), JuvFlux is the flux for juveniles (underwater respiration, aerial respiration or calcification, mmol h⁻¹ g⁻¹), Juvbiomass is the mean juvenile biomass per surface unit in the Bay of Brest (g m⁻²) and t is the duration of immersion (14 h) for underwater respiration, and calcification, and emersion (10 h) for aerial respiration. The daily contribution of the high-density *C. gigas* population was calculated in the same way but using the high-density biomass values.

To estimate CO₂ and DIC fluxes on an annual scale, we established an Arrhenius plot for air and underwater respiration after logarithmic transformation as an inverse function of temperature as follows:

$$\ln Flux = \ln a - \frac{Ea}{k} \times \frac{1}{T}$$

where Flux is *C. gigas* respiration (ΔDIC underwater or ΔCO₂ in the air, μmol g⁻¹ h⁻¹), a is a normalization constant, Ea is the activation energy (J mole⁻¹), k is the Boltzmann's constant (8.31 J K⁻¹ mol⁻¹), and T is the absolute temperature (K). The relationship was adjusted using a least-squares procedure. Average contributions of *C. gigas* to CO₂ fluxes were then calculated both for aerial and underwater mean annual temperatures to test whether

temperature could be used to estimate respiration. Temperature was measured by the Marel Iroise Station (SOMLIT, Service d'Observation en Milieu LITtoral, INSU-CNRS) every 20 min over 4 years (2003-2006), both in the air and under water. Relative humidity (% RH) was recorded every minute by the Naval Academy at Lanveoc (Bay of Brest).

The slopes of the functional regression between CO₂ fluxes regression lines were tested against the null hypothesis of isometry ($b = 1$) using a Z test (Scherrer, 1984). To compare Arrhenius plots for underwater and air respiration linear regressions, the fitting of the data into the linear regression model was estimated by ANOVA (Sokal and Rohlf, 1981).

Results

Population characteristics and environmental parameters

The average oyster density in the Bay of Brest was 84 ind.m⁻² and reached up to 800 ind.m⁻² in the more affected areas (Lejart and Hily, 2005), leading to high biomass and calcimass values (Table 1). Proportions of juveniles and dead shells were estimated at 53% and 16%, respectively. Mean calcimass of dead shells was estimated at 355.37 g m⁻² and 2614.64 g m⁻² in average and high-density areas, respectively.

As recorded at the Marel Iroise station, air temperature was slightly lower than water temperature. The average annual temperature was 13.6°C underwater and 12.5°C in the air. Relative humidity was highly variable at both daily and hourly scales. The average value was 76% with a maximum in winter (82%) and a minimum in summer (70%). A weak, but statistically significant correlation was observed between average monthly relative humidity and temperature ($r^2 = 0.45$, $P = 0.04$).

Table 1: Mean biomass (g AFDW m⁻²) and calcimass (g m⁻²) of *C. gigas* for the whole Bay of Brest and for areas of high density (Lejart and Hily 2005). SD given in parentheses.

		Biomass	Calcimass
Mean Bay of Brest (84 individuals m ⁻²)	Adults	38.73 (44.73)	1694.72 (1957.38)
	Juveniles	1.88 (2.17)	187.80 (216.85)
Areas of high density (~ 800 individuals m ⁻²)	Adults	339.95 (148.90)	14822.69 (6492.42)
	Juveniles	16.43 (7.20)	1642.57 (719.41)

Underwater respiration

Adult *C. gigas* underwater respiration showed a clear seasonal variation, with a three-fold difference between maximum fluxes in June and minimum fluxes in February (Fig. 2). Conversely, juvenile underwater respiration did not show any significant (ANOVA, $P < 0.05$) seasonal variation (Fig. 2). Juvenile respiration rates were more than two times higher than adult rates. Both adult and juvenile respiration rates increased with temperature (Fig. 3 and 4) and were well described by Arrhenius plots. The high percentage of explained variance (Table 2) indicates that temperature can be used as a proxy for underwater respiration. It is probably for this reason that adult respiration rates did not differ significantly between June and October, when seawater temperatures were similar: 15.6°C and 15°C, respectively. Adult and juvenile underwater respiration rates for the mean annual seawater temperature of 13.6°C were 9.76 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and 31.99 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectively. The mean daily contribution of *C. gigas* population-wide underwater respiration to DIC during immersion (14 h a day) was 6.13 mmol DIC $\text{m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (SD 7.09), corresponding to an annual carbon production of 26.87 g C $\text{m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ (SD 31.04). This production reached 235.79 g C $\text{m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ (SD 103.27) where *C. gigas* was found in high density.

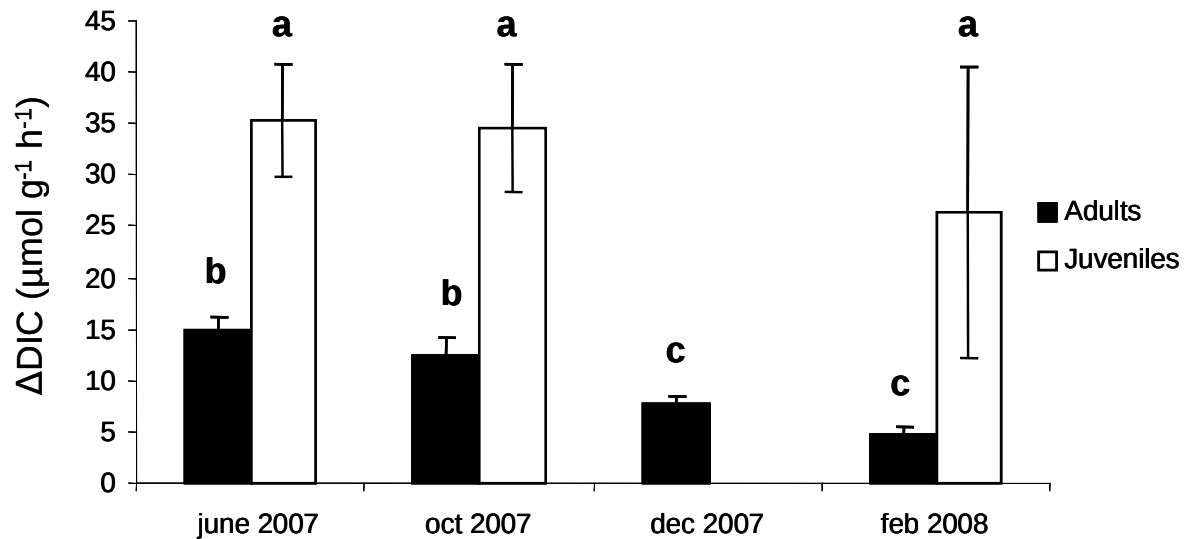


Figure 2: Seasonal variation in hourly adult and juvenile *C. gigas* underwater respiration (dissolved inorganic carbon, DIC) rates per g biomass (AFDW) (mean $\pm$ SD). Bars with different lower case letters are significantly different (ANOVA, $P < 0.05$)

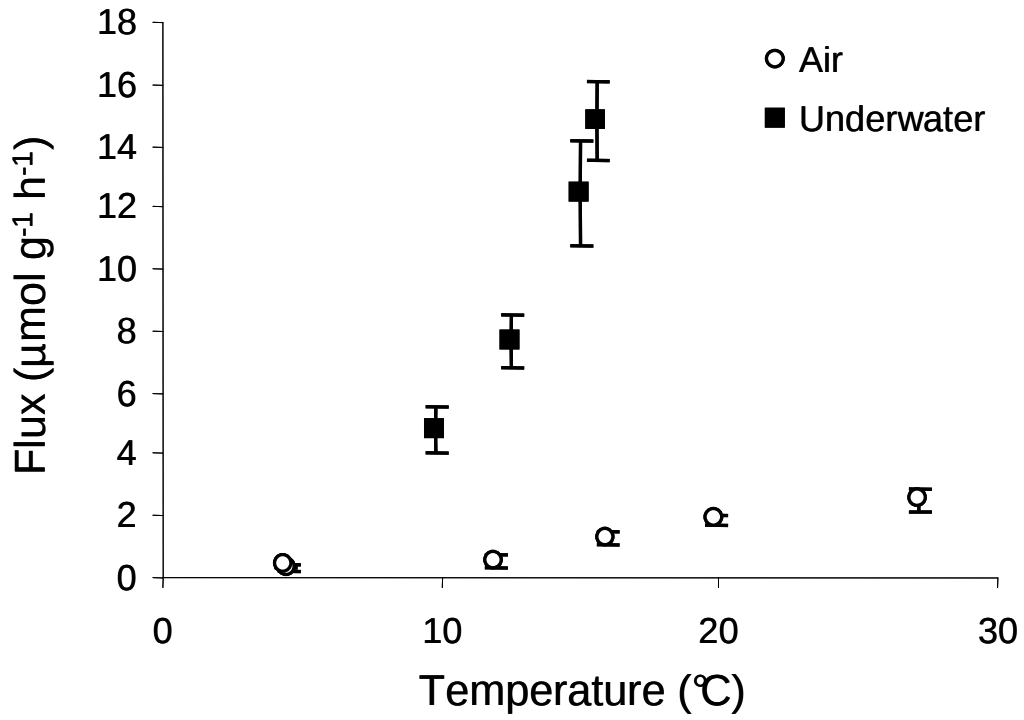


Figure 3: Relationships between hourly underwater (Δ DIC) or aerial (Δ CO₂) respiration rates per g biomass (AFDW) and temperature (mean $\pm$ SD) in *C. gigas* adults.

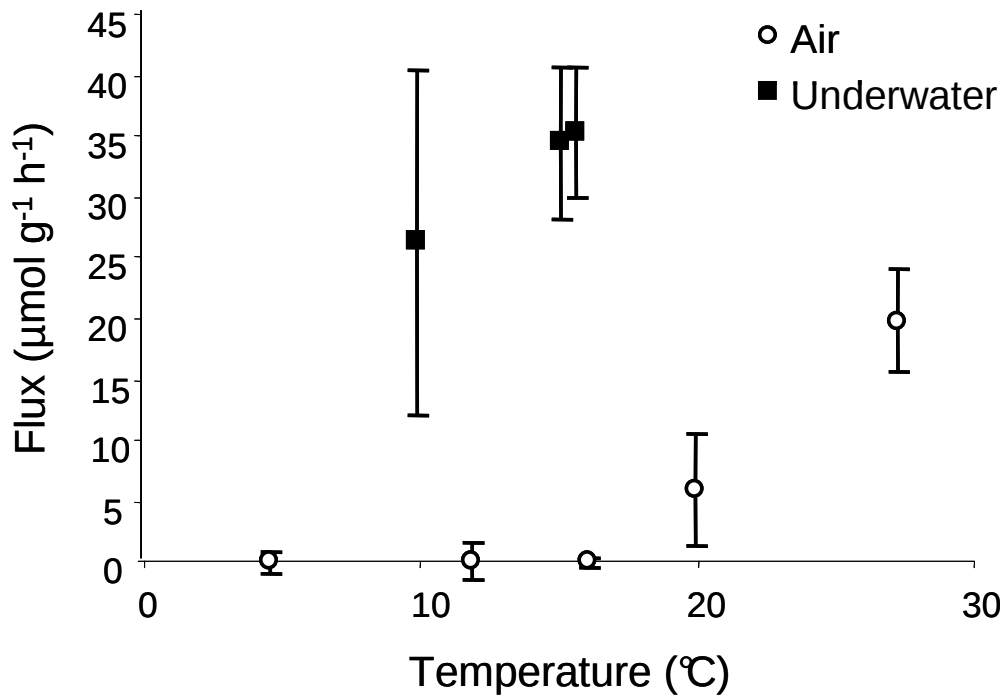


Figure 4: Relationships between hourly underwater (Δ DIC) or aerial (Δ CO₂) respiration rates per g biomass (AFDW) and temperature (mean $\pm$ SD) in *C. gigas* juveniles.

Aerial respiration

One hour after emersion, CO₂ fluxes clearly increased with temperature for temperatures higher than 11.9°C for both adults and juveniles (Fig. 5 and 6). In cool, wet conditions, fluxes remained stable for both adults and juveniles. At 4.5°C, 91.3% RH and 11.9°C, 91% RH conditions, aerial juvenile respiration remained very low during emersion. However, a decline in respiration with time became perceptible at 16°C, 62.3% RH and pronounced at 19.9°C, 50.6% RH and 27.2°C, 40.7% RH for both adults and juveniles. At 27.2°C, 40.7% RH conditions, adult aerial fluxes were three times higher 1 h after emersion than after 5 h of exposure to air. For juveniles, CO₂ fluxes that were 23.15 µmol CO₂ g⁻¹ h⁻¹ 1 h after emersion were practically 0 after 5 h of exposure to air. Temperature controlled the overall magnitude of respiration, whereas the decrease in CO₂ emission during a low tide period varied markedly with atmospheric humidity. Temperature and atmospheric humidity were related in our experiments ($R^2 = 0.82$), as in nature, and our experimental procedure did not allow their respective effects to be examined separately. We therefore only established the relationship between the mean respiration at low tide and temperature, also well described by Arrhenius plots (Fig. 3 and 4). The high percentage of variance explained (Table 2) indicates that temperature is also a good proxy for air respiration. Adult and juvenile aerial respiration for the mean annual air temperature of 12.5°C were 0.71 µmol CO₂ g⁻¹ h⁻¹ and 0 µmol CO₂ g⁻¹ h⁻¹, respectively. The mean daily contribution of population-wide aerial respiration to CO₂ production during immersion (10 h per day) was 0.27 mmol CO₂ m⁻² d⁻¹ (SD 0.32) corresponding to an annual carbon production of 1.20 g C m⁻² y⁻¹ (SD 1.38). This production reached 10.53 g C m⁻² y⁻¹ (SD 4.61) for *C. gigas* in high-density areas.

The Arrhenius plots for underwater and air respiration (Table 2) differed significantly in slope and intercept (Z-test, $p < 0.005$) for both adults and juveniles, indicating different hourly respiration fluxes.

Table 2: Parameters of Arrhenius plots relating the logarithm of hourly underwater or aerial respiration per g AFDW for adults and juveniles to the inverse of absolute temperature. SD given in parentheses.

		Ln <i>a</i>	<i>Ea/k</i>	R ²
Underwater	Adults	56.44 (2.67)	15.53 (0.76)	0.99
	Juveniles	18.00 (0.24)	4.17 (0.07)	0.99
Air	Adults	27.74 (3.28)	8.02 (0.94)	0.93
	Juveniles	61.91 (12.47)	17.74 (3.64)	0.92

Calcification and carbonate dissolution

Calcification of *C. gigas* overcomes CaCO₃ dissolution that corresponds to a positive net CaCO₃ deposition all year long with a clear seasonal pattern and significantly higher values in June for both adults and juveniles (Fig. 7). Mean CaCO₃ uptake for adults and juveniles, calculated from all four seasons were 3.16 $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and 45.22 $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectively (106.02 $\text{g CaCO}_3 \text{ m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$, SD 122.44). The mean daily contribution of the net calcification of the Bay of Brest *C. gigas* population to CO₂ fluxes during immersion (14 h a day) was estimated to be 1.99 $\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (SD 2.30), corresponding to an annual production of 8.74 $\text{g C m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ (SD 10.1). This production reached 76.63 $\text{g C m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ (SD 33.56) in high *C. gigas* density areas.

Mean dissolution of *C. gigas* shells represented $9.298 \times 10^{-5} \text{ g CaCO}_3 \text{ g CaCO}_3^{-1} \text{ d}^{-1}$ (SD 2.7) corresponding to an annual flux of 7.03 $\text{g CaCO}_3 \text{ m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ (SD 2.07). The mean daily DIC uptake due to *C. gigas* population-wide carbonate dissolution during immersion (14 h per day) was estimated to be 0.13 $\text{mmol DIC m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (SD 0.04), corresponding to an annual consumption of 0.58 $\text{g C m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ (SD 0.17). This flux reached 4.27 $\text{g C m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ (SD 1.26) for sites with high densities of *C. gigas*.

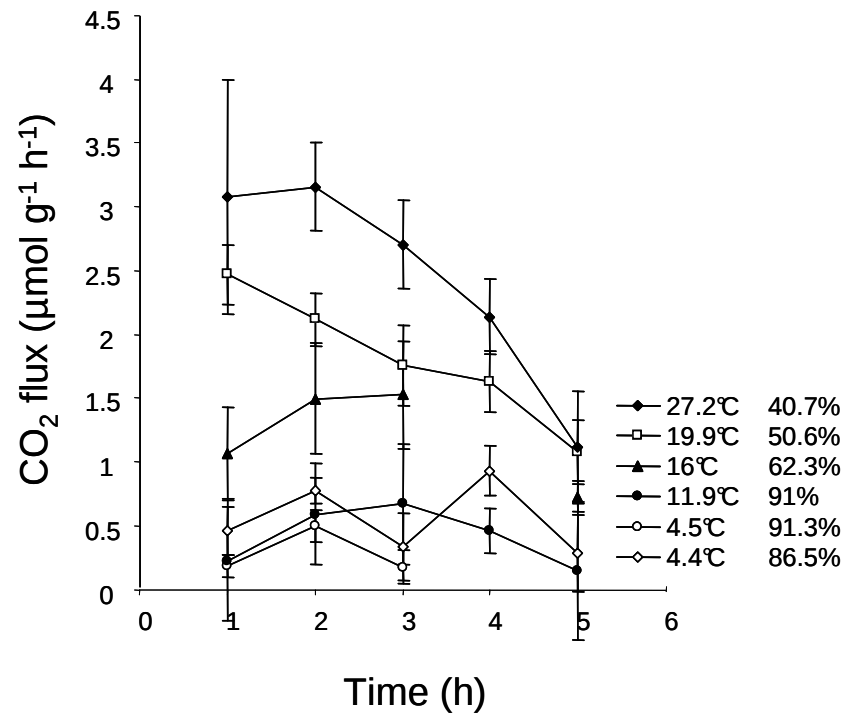


Figure 5: Variation in aerial respiration in *C. gigas* adults during a low tide period, at different temperatures (°C) and relative humidity levels (%), estimated from the variation of CO₂ partial pressure in incubation chambers.

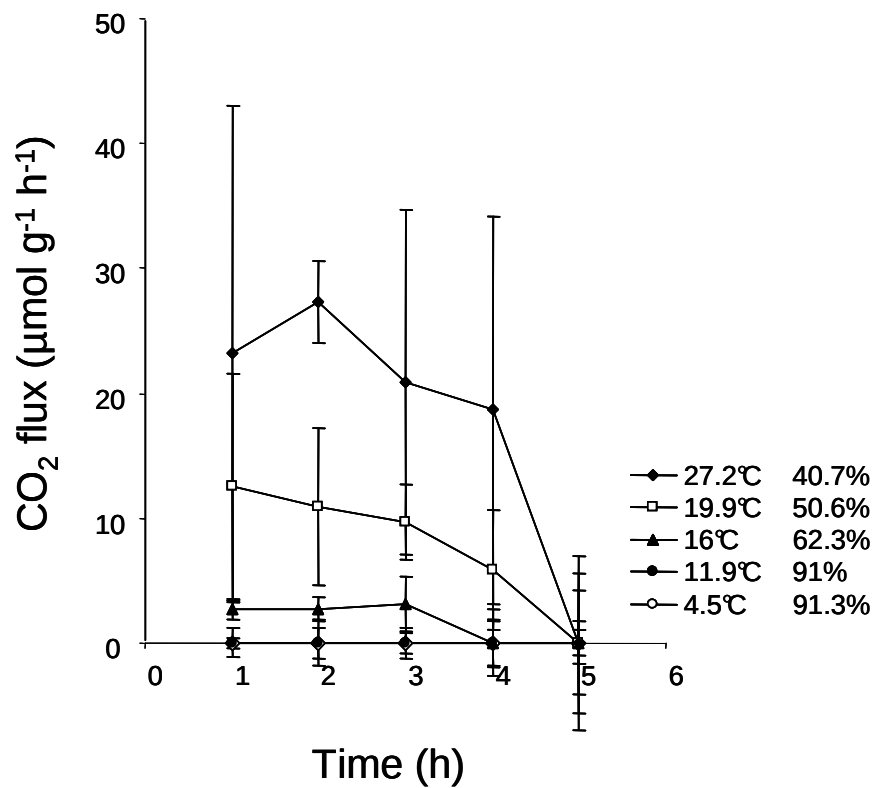


Figure 6: Variation in aerial respiration in *C. gigas* juveniles during a low tide period, at different temperatures (°C) and relative humidity levels (%), estimated from the variation of CO₂ partial pressure in incubation chambers.

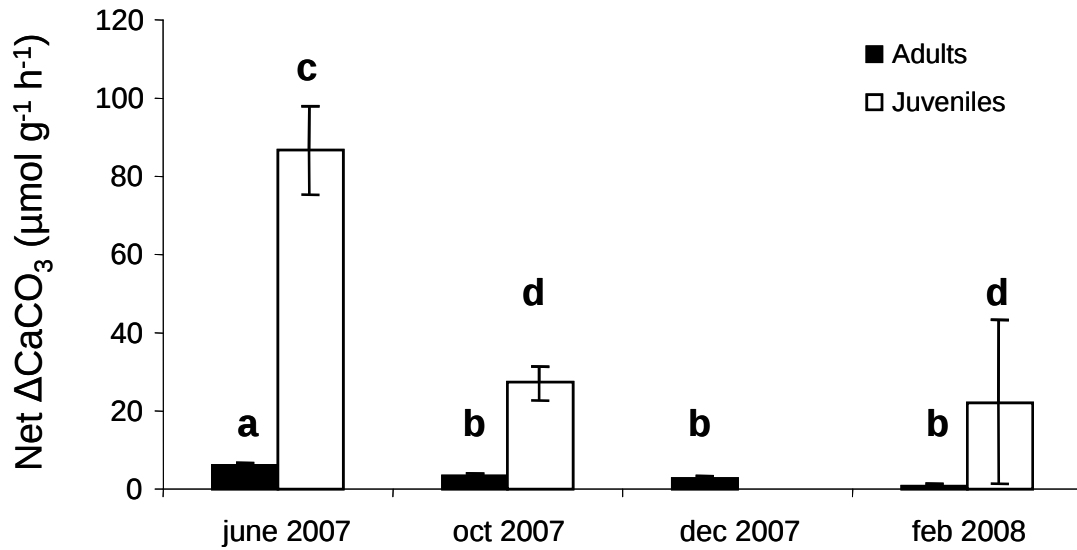


Figure 7: Seasonal variation of net calcification rates (mean $\pm$ SD) in *C.gigas* adults and juveniles estimated from variation in total alkalinity during incubation. Bars with different lower case letters are significantly different (ANOVA, $P < 0.05$).

Carbon fluxes budget

The mean total daily emission of CO₂ by the Bay of Brest *C. gigas* population was estimated at 8.26 mmol CO₂ m⁻² d⁻¹ with contributions of 74%, 3.5% and 22.5 % by underwater respiration, aerial respiration and net calcification, respectively. Mean annual carbon production by the species was 36.23 g C m⁻² yr⁻¹ in the Bay of Brest and reached 327.22 g C m⁻² y⁻¹ for high *C. gigas* density areas.

Discussion

Respiration

Despite the fact that natural populations of *C. gigas* occupy the intertidal zone, our study is the first to assess its aerial respiration. All previous studies focused on underwater O₂ respiration, keeping oysters in constant immersion conditions for the duration of the experiments. Our experimental design made it possible for us to maintain oysters in the same tidal rhythm as in the field and to measure underwater and aerial respiration during immersion and emersion periods, respectively.

Adult underwater respiration clearly showed seasonal variation. The high correlation coefficients of respiration rates in Arrhenius plots suggests that temperature is the major determining factor behind this pattern. While this seasonal trend is less apparent for juvenile

respiration, Arrhenius plots seem to indicate that temperature also controlled juvenile respiration. This influence of temperature on respiration is well known in oysters (Bougrier et al., 1995; Mao et al., 2006) as well as in other temperate marine molluscs (Fanslow et al., 2001; Huang and Newell, 2002; Saucedo et al., 2004; Martin et al., 2006). Internal metabolism and gametogenesis in particular also have an impact on respiration rates. However, this effect was not observed in our study because the most intensive period of gamete production associated with the highest respiration rates (Mao et al., 2006) occurs in July and August in the Bay of Brest.

The mean annual rate per gramme biomass was three-fold higher for juveniles than for adults: for the mean annual seawater temperature of 13.6°C, juveniles showed a rate of 31.99 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ while adults showed a rate of 9.76 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$. A similar result has already been observed for oysters (Gerdes, 1983; Bougrier et al., 1995) and other molluscs (Hamburger et al., 1983; Sukhotin and Portner, 2001; Sukhotin et al., 2003; Martin et al., 2006) and can be explained by the fact that relative growth rates are highest in the first year of juvenile settlement.

If, under the assumptions of the Arrhenius model, we consider that the respiratory quotient is 1, the adult oxygen consumption at 20°C estimated at 32.96 $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ in our study is in the same range as those found in previous studies (18.44 $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, (Ren et al. 2000); 29.06 $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, (Gerdes, 1983); 42.81 $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, (Bougrier et al., 1995); 53.75 $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, (Mao et al., 2006).

For the mean annual air temperature of 12.5°C, adult aerial respiration represented only 6.7% of their underwater respiration and was nil for juveniles. Previous studies have suggested that when *C. gigas* is exposed to air during low tide, its shell closes tightly, thereby inhibiting gas exchange with the external environment (Willson and Burnett, 2000; Allen and Burnett, 2008). Therefore, this low observed value could probably be attributed to biofilm respiration on the surface of the shell. In contrast to some other intertidal species, *C. gigas* does not seem to respire when exposed to air. Numerous studies have shown that several intertidal species are able to obtain oxygen directly from the air. Simpfendorfer et al. (1995) demonstrated that strategies used by these species are largely determined by their position in the intertidal zone. Barnacles, usually found in the upper part of the shore, have high rates of aerial respiration that can reach 100% of their underwater rates (Simpfendorfer et al., 1995; Clavier et al., 2009). Aerial respiration rates of bivalves in the mid-tide zone has been found to range from 30% to 87% of underwater respiration (Simpfendorfer et al., 1995; Marsden and Weatherhead, 1998; Huang and Newell, 2002). During emersion, low-intertidal bivalve

species close their valves and rely primarily on anaerobic pathways for energy production (Simpfendorfer et al., 1995). Although *C. gigas* colonizes the mid-tide zone and can be emerged for more than 6 h during a tidal cycle, it appears to respond like a low-intertidal species living. Allen et al., (2008) suggested that *C. gigas* is able to maintain aerobic metabolism to some degree when the valves are closed before switching to anaerobic metabolic pathways. As a result, the buildup of respiratory CO₂ in the tissues leads to significant acidosis. In response to this stress, *C. gigas* dissolves its shell to mobilize CaCO₃ that buffers the CO₂ (Lutz and Rhoads, 1977; Allen and Burnett, 2008). Intertidal zones are often seen as a stressful environment for resident species. During low tide, intertidal marine species endure low oxygen concentrations in their tissues, low pH, dramatic and rapid changes in temperature. Nonetheless, they have developed adaptations to these extreme conditions. Gillmor (1982) showed that *Crassostrea virginica* and *Geukensia demissa* both exhibit better growth at certain intertidal levels than under subtidal conditions and concluded that periodic air exposure may be necessary to coordinate the cycle of digestive activity.

Calcification and carbonate dissolution

Calcification processes in marine organisms can be assessed in two major ways. The calcimass method (carbonate standing stock) is frequently used (Migné et al., 1998; Chauvaud et al., 2003; Gollety et al., 2008), but the anomaly alkalinity method we used in the present study is considered the most convenient technique for short-term experiments on individual organisms (Gattuso et al., 1999). This latter approach also allows both carbonate deposition and dissolution to be evaluated, so as to obtain net calcification.

Our results demonstrate that calcification overcomes CaCO₃ dissolution throughout the year for both adults and juveniles. For example, the dissolution of a four-year-old oyster shell with a mean weight of 50 g will take 29 years, wave and biological actions excluded. This pattern highlights the influence this species can have on CaCO₃ fluxes in its host ecosystem, particularly because previous studies have provided evidence that other calcified species in the Bay of Brest show a net decalcification in winter (Martin et al., 2006). In our study, CaCO₃ fluxes were highly dependent on season and oyster individual size. CaCO₃ fluxes were more than four times higher in June than in February for both adults and juveniles. These results are consistent with those found by Lartaud (2007) who demonstrated that the most important period of shell growth of *C. gigas* occurs in the spring and early summer. The fact that calcification remains predominant in the winter is probably due to the very low dissolution rate of oyster shells. Juveniles precipitated more CaCO₃ than adults per

gram biomass, which confirmed previous results that showed that juveniles have a more important growth rate in their first year than in the following years. This pattern is similar to that observed in *Crepidula fornicata* (Martin et al., 2006).

CO₂ contribution

Total carbon fluxes were mainly influenced by underwater respiration, but the contribution of calcification is not negligible. Indeed 22.5% of the total carbon production in the Bay of Brest population of *C. gigas* was due to calcification while this proportion, assessed with a method similar to the present study, is 14% for *C. fornicata* (Martin et al., 2006) and only 3% for *Chthamalus montagui* (Clavier et al., 2009) near the Bay of Brest. Using the calcimass method, Chauvaud et al., (2003) found that 33% of the total carbon flux produced by *Potamocorbula amurensis* in the San Francisco Bay, is released by the production of CaCO₃ and 9% is released by *Ophiotrix fragilis* in the eastern English Channel (Migné et al., 1998). The annual carbon production of *C. gigas* (36.23 g C m⁻² yr⁻¹) is similar to the production level of another intertidal species, *C. montagui* (39 g C m⁻² yr⁻¹) (Clavier et al., 2009). Our estimation of the annual carbon production of *C. gigas* is lower than results obtained by Chauvaud et al., (2003) for *P. amurensis* in the San Francisco Bay (55 g C m⁻² yr⁻¹) and by Martin et al., (2006) for *C. fornicata* (44 g C m⁻² yr⁻¹) in the Bay of Brest. We can however point out that neither of these two species are exposed to emersion periods. The CO₂ production of a subtidal population of *C. gigas* would be higher than *P. amurensis* and *C. fornicata* (59.6 g C m⁻² yr⁻¹). Furthermore, Lejart and Hily (2005) demonstrated that the proliferation of *C. gigas* in the Bay of Brest is recent and spreading. Consequently, the contribution of this invasive species to the total carbon production of this ecosystem will probably increase in the near future. This hypothesis is supported by our results of production of *C. gigas* in high-density areas (327.22 g C m⁻² yr⁻¹) that are higher than *C. fornicata* where it is present in high densities (~250 g C m⁻² yr⁻¹), even though *C. gigas* is emerged for nearly half the day.

Unlike *C. montagui*, *C. gigas* can be defined as an ecosystem engineer, modifying the initial physical environment and creating a new habitat that can be used by other species. *C. gigas* increases the abundance and specific richness of intertidal communities (Lejart and Hily, 2007). For example, abundance of barnacles, which are a major component of the intertidal zone, is increased by four-fold on oyster shells compared with oyster-free rocks (Lejart and Hily, 2007). As a result, the real contribution of *C. gigas* to total carbon fluxes would have to be estimated for the whole new associated community and not just for oysters.

Currently, with the rise in temperature over recent decades, climatic change is thought to be the major factor behind the proliferation of *C. gigas* in Brittany and in northern areas such as the Wadden Sea (Diederich et al., 2005). Our results demonstrate that *C. gigas* populations increase CO₂ release to the atmosphere in coastal ecosystems and, consequently, contribute to global warming that facilitates the spread of invasive species.

Acknowledgements. We are grateful to the SOMLIT (Service d'Observation en Milieu Littoral, INSU-CNRS) group for providing data from the MAREL Iroise station. Special thanks to C. Engel-Gautier for her constructive comments to improve the manuscript.

2. Impacts de la prolifération de *Crassostrea gigas* sur le métabolisme des communautés rocheuses intertidales

2.1. Introduction

Si les conséquences écologiques de l'invasion des écosystèmes côtiers tempérés par *Crassostrea gigas* sur les habitats et les populations d'espèces natives sont de plus en plus étudiées à travers le monde (Reise 1998; Ruesink et al. 2005; Diederich 2006; Hosack et al. 2006; Kelly et al. 2008; Markert et al. 2009), l'impact sur le métabolisme des communautés intertidales est encore largement méconnu. Il a pourtant été démontré que des espèces suspensivores invasives telles que *Crepidula fornicata* ou *Potamocorbula amurensis* augmentaient les taux de respiration des communautés impactées, donc la pCO₂ dans l'eau de mer, avec un possible export de CO₂ vers l'atmosphère (Chauvaud et al. 2003; Martin et al. 2007b).

C. gigas colonise préférentiellement les substrats durs, naturels ou construits par l'homme, présentant des densités de macroalgues assez faibles (Partie II, chapitre 2). Or le métabolisme de ces communautés intertidales rocheuses a été très peu étudié contrairement aux substrats meubles (Spilmont et al. 2002; Migne et al. 2004; Davoult et al. 2009), notamment lors de l'immersion (Magalhaes et al. 2003).

Le premier objectif de ce travail était donc de mieux connaître le métabolisme des communautés rocheuses intertidales en Rade de Brest en mesurant les flux de CO₂ produits par les processus de la respiration et de la production primaire aussi bien en émergence qu'en immersion. Le second objectif était d'estimer l'impact de la colonisation de *C. gigas* sur les flux de CO₂ de ces communautés.

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1 Site d'étude

La rade de Brest est un écosystème côtier semi-fermé situé à l'extrême pointe de la Bretagne (figure1). C'est un bassin de 180 km², relié à l'Océan Atlantique par un étroit goulet de 1,8 km de large. La profondeur moyenne de la rade est de 8 mètres et plus de 50% de sa superficie correspond à une profondeur inférieure à 5 mètres. La zone est soumise à un régime

macrotidal où l'amplitude maximale des marées peut atteindre 8 mètres. Par conséquent, les surfaces découvertes à chaque marée et potentiellement colonisables par les huîtres sont relativement importantes. Ces dernières ont été estimées, en 2005, à 3 km² environ, avec une densité moyenne de 86 huîtres m⁻² (Lejart et Hily 2005). Les huîtres creuses colonisent préférentiellement les substrats durs (roche, blocs, cailloutis) mais les vases des estuaires de l'Aulne, de la rivière du Faou et de celle de Daoulas sont également impactées.

Le site d'étude se situe à la Pointe du Château, dans la partie sud-est de la rade (figure III.1). Il a été choisi en raison de sa forte densité moyenne d'huîtres (580 ind m⁻²), ce qui le place parmi les secteurs les plus impactés de la rade de Brest (Lejart et Hily 2005). La population d'huîtres colonise une bande de la zone intertidale rocheuse située entre les niveaux bathymétriques 2,7 m et 4,8 m, qui est émergée en moyenne 10 heures par jour.

2.2.2. Echantillonnage

Les mesures de métabolisme ont été effectuées en août 2007 (du 27 au 31) et en mars 2008 (du 7 au 9 et les 19 et 20). Les échantillons ont été prélevés sur des zones entièrement recouvertes de blocs, dans un secteur colonisé par les huîtres. Chaque jour, en début de matinée, tous les blocs présents dans trois quadrats de 0,1 m² étaient prélevés, au moment où les huîtres découvraient. A chaque saison, les mesures ont été réalisées pendant 3 jours sur des blocs fortement colonisés par des huîtres (situation invasive), et pendant 2 jours sur des zones où les blocs étaient peu ou pas colonisés par les huîtres (situation de référence) (figure III.10). Ces blocs étaient placés, en respectant leur orientation d'origine, sur trois plaques circulaires en PVC fixées dans la roche (figure III.11) au niveau de la zone intertidale colonisée par la population d'huîtres (niveau bathymétrique entre 2,7 et 4,8 m environ). Ces bases ont été recouvertes par des dômes transparents (figure III.12) pour mesurer la production nette (P_{net} : bilan de la production brute et de la respiration) à la lumière, puis par des dômes opaques pour mesurer la respiration de la communauté à l'obscurité. L'étanchéité était assurée par un joint en silicone. L'ensemble du système emprisonne un volume d'environ 36 l.

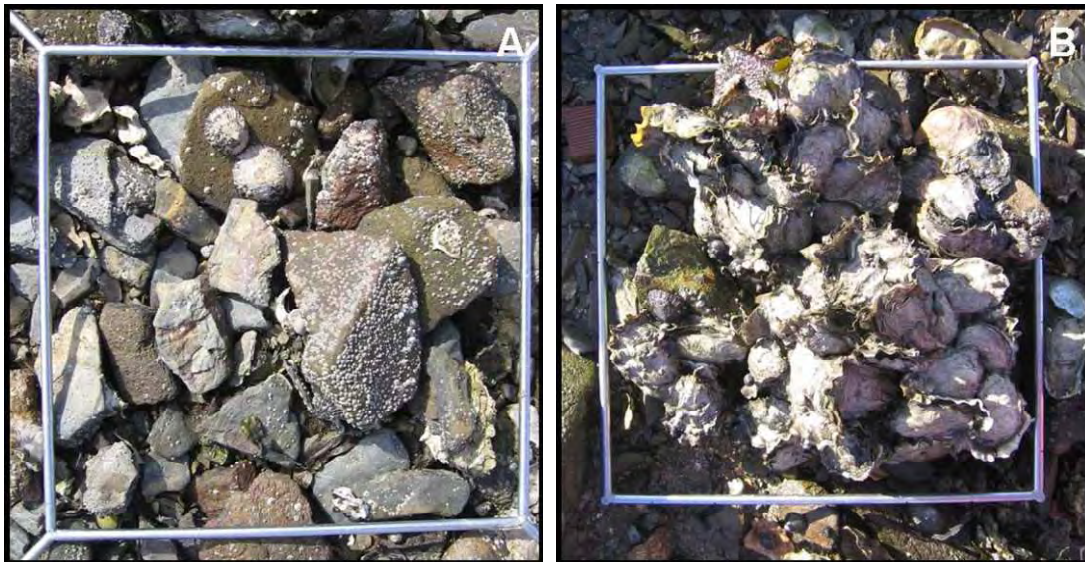


Figure III.10 : Echantillons d'une surface de 0.1 m² de référence (A) ou de blocs colonisés par *C. gigas* (B).



Figure III.11 : Echantillon placé sur les bases en PVC des enceintes benthiques fixées dans la roche au niveau de la zone intertidale.

2.2.3. Respiration aérienne en période d'émersion

A marée basse, les mesures à l'air ont été réalisées dans un circuit fermé relié à un analyseur de gaz à infrarouge (Li-Cor, LI 820). L'air isolé sous les dômes était brassé par un petit ventilateur à piles. Une pompe (Brailsford, TD22N) maintenait un flux d'air stable de

0,8 l min⁻¹ dans le circuit de mesure. Une colonne remplie de sulfate de calcium anhydre (Drierite) était placée avant l'entrée de l'analyseur de gaz pour dessécher l'air (figure III.12). La pression partielle de CO₂ (pCO₂, en partie par million, ppm = μmol CO₂ mol air⁻¹) était affichée en temps réel et enregistrée sur un ordinateur, avec une fréquence d'échantillonnage de 5 s.



Figure III.12 : Les chambres benthiques transparentes sont reliées au dispositif d'analyse en circuit fermé.

Les incubations d'une durée de 5 min ont été effectuées à mi-marée. Après un temps de stabilisation du système de une à deux minutes, l'évolution de la concentration du CO₂ en fonction du temps était linéaire. Entre chaque mesure, les dômes ont été désolidarisés de la base et surélevés pour renouveler l'air. Les cloches en PVC opaque ont été placées au-dessus des bases au moins 15 min avant les incubations à l'obscurité pour assurer un arrêt complet du processus de photosynthèse avant les mesures (Spilmont et al. 2002).

Afin de connaître l'évolution du métabolisme au cours d'une marée basse, nous avons mesuré la respiration de blocs colonisés par *C. gigas* tout au long de la période d'émersion, les 29 août et 9 mars. Les premières mesures ont été effectuées environ 30 minutes après que les échantillons découvrent, délai nécessaire pour installer le matériel de mesure dans des conditions optimales d'utilisation. Elles ont ensuite été répétées périodiquement et se sont terminées peu de temps avant le recouvrement (neuf mesures en août et cinq mesures en mars).

2.2.4. *Respiration et calcification en période d'immersion*

Pendant la marée haute, des incubations ont été effectuées pendant environ une heure à la lumière puis à l'obscurité. Entre chaque série, les dômes ont été retirés pendant une quinzaine de minutes pour restaurer les conditions ambiantes dans les systèmes. Des pompes submersibles connectées à des batteries en caisson étanche ont permis d'homogénéiser l'eau en close pendant les incubations. Le débit des pompes a été ajusté à une valeur de 2 l min⁻¹, ce qui permet une mesure stable par les sondes sans remise en suspension des particules fines.

La concentration en O₂ (mg l⁻¹), la salinité (échelle PSU), la température (°C) et la profondeur (m) ont été enregistrées toutes les minutes dans chaque chambre benthique par des sondes multiparamètres (YSI 6920) placées sur le circuit d'eau. Des échantillons d'eau ont été prélevés avec des seringues de 450 ml au début et à la fin de chaque incubation pour les mesures de pH et d'alcalinité totale (TA). Le pH a été mesuré immédiatement après le prélèvement avec une électrode combinée (pHC2401, Radiometer) calibrée avec des solutions tampon de TRIS/HCL et 2-amminopyridine/HCL (DOE, 1994). Les échantillons pour la mesure de TA ont été filtrés sur des filtres GF/F Whatman de 0,7 µm puis empoisonnés avec du chlorure mercurique (DOE, 1994) et placés dans des flacons en verre de 250 ml à l'obscurité jusqu'à l'analyse. L'alcalinité totale a été mesurée par potentiométrie au laboratoire sur 6 réplicats de 20 ml par échantillon avec un titrimètre (Titrlab TIM 865, Radiometer) et du HCl à 0,01 mol l⁻¹. La concentration en carbone inorganique dissous (DIC) a été calculée à partir du pH, de l'alcalinité totale, de la température, de la salinité, et de la concentration en phosphate et silicate (Lewis et Wallace 1998).

Le processus de calcification s'opère lors des périodes d'immersion (Lutz et Rhoads 1977) car il nécessite une disponibilité immédiate d'ions calcium dans l'eau de mer (Bourget et Crisp 1975). Par conséquent, les flux nets de calcification des peuplements colonisant les blocs ont été estimés pendant les incubations en immersion par la méthode de l'anomalie d'alcalinité (Smith et Key 1975). Cette dernière est basée sur le fait que l'alcalinité totale diminue de 2 équivalents pour chaque mole de CaCO₃ précipitée. Cette méthode a déjà été utilisée avec succès pour mesurer la calcification d'organismes isolés (Martin et al. 2006a; Martin et al. 2006b; Clavier et al. 2009) et de communautés benthiques (Martin et al. 2007a).

2.2.5. Paramètres environnementaux

La température, de l'eau en immersion et dans l'air en émergence, a été mesurée avec une fréquence de 20 min par des sondes thermiques (EBI 85-A, Ebro) placées dans des poches ostréicoles sur le site de la Pointe du Château, de janvier 2006 à décembre 2008. Deux capteurs de lumière (Quantum sensor Li-Cor, Li-192SA) mesuraient les radiations actives pour la photosynthèse (PAR : Photosynthetically Active Radiations, 400-700nm) avec une fréquence de 1 min, lors des périodes de mesure sur le terrain. Le premier, placé en haut de la grève, a mesuré la lumière en continu pendant les 5 jours de chaque expérience. Le second était placé au niveau des chambres benthiques et mesurait la lumière qui atteignait effectivement les blocs pendant les périodes d'immersion et d'émergence. Pour des raisons logistiques, il a été mis en œuvre au mois de mars uniquement. Les concentrations en phosphate et silicate ont été fournies par la station MAREL Iroise (IUEM-UBO, Observatoire du Domaine Côtier) ancrée en Rade de Brest.

2.2.6. Echantillonnage de *Crassostrea gigas* et de la faune associée

A la fin de chaque journée, les blocs correspondant à chaque échantillon de 0,1 m² ont été ramenés au laboratoire et congelés jusqu'à l'analyse. Les organismes ont été détachés puis triés. Chaque individu a été déterminé jusqu'au niveau spécifique. Les spécimens de chaque espèce ont ensuite été dénombrés avant de mesurer leur biomasse. La chair des huîtres a été séparée de la coquille. Le poids sec total et le poids sec libre de cendres (Ash Free Dry Weight, AFDW) ont été mesurés pour chaque espèce, à 1mg près après séchage à 60°C pendant 48h et calcination à 450°C pendant 4h, respectivement.

2.2.7. Traitement des données

La production nette de la communauté lors de l'immersion a été calculée à partir de la différence entre les concentrations initiales et finales en DIC, dans chaque enceinte benthique correspondant à une surface intertidale de 0,1 m². Le flux de carbone inorganique a été corrigé de l'influence de la calcification comme suit (Smith et Key 1975):

$$P_{\text{net}} (\text{DIC}) = \left(\frac{\Delta \text{DIC} \times v}{\Delta t \times 10^3} - G \right) \times 10$$

$$G = \left(\frac{\Delta TA \times v}{2 \times \Delta t} \right) \times 10$$

Où : P_{net} , Production nette en DIC dans une enceinte ($\text{mmol m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) ; G, calcification nette dans une enceinte ($\text{mmol CaCO}_3 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$); v, volume net de l'enceinte (l); Δt , durée d'incubation (h); ΔDIC , variation de la concentration en carbone inorganique total pendant l'incubation (mmol l^{-1}); ΔTA , variation de l'alcalinité totale pendant l'incubation (meq l^{-1}).

Lors de l'émersion, le flux de CO₂ ($\text{mmol m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) correspond à la pente de la variation de la pression partielle en CO₂ pendant la durée de l'incubation, rapportée à la surface de roche et à la durée de l'incubation.

Afin d'estimer un bilan annuel de la production des substrats rocheux impactés ou non par la colonisation de *Crassostrea gigas*, les valeurs de production nette (P_{net}) pour chaque enceinte ont été exprimées en fonction de l'irradiance E ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Un modèle de type non linéaire produisant une courbe de type logarithmique a été ajusté sur les données (Webb et al. 1974) :

$$P_{net} = P_{max} (1 - e^{-E/E_k}) + r$$

P_{max} représente la production primaire brute maximale ($\text{mmol m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), E_k est l'irradiance minimum de saturation ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) et r la valeur de la respiration à l'obscurité ($\text{mmol m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Les paramètres ainsi obtenus pour les différentes situations d'incubation en immersion et en émersion à deux saisons contrastées, permettent de calculer les bilans de production annuels à partir des valeurs d'irradiance enregistrées de 2005 à 2008 avec une fréquence de 20 min, par la station MAREL Iroise (figure III.13). Ces données sont moyennées afin d'obtenir une valeur d'irradiance mensuelle mais ne sont valables que pour les périodes d'émersion. Pour estimer l'irradiance lors des phases d'immersion, les valeurs à l'air ont été transformées en utilisant le coefficient d'extinction de la lumière K_Z (sans unité) calculé au mois de mars :

$$K_Z = \log \left(\frac{I_0}{I_Z} \right)$$

I_0 , irradiance en surface ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) et I_Z irradiance à la profondeur Z ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

La production journalière de CO₂ ($\text{g m}^{-2} \text{ j}^{-1}$) pour un mois x donné $P_{net x}$ est obtenue par l'équation suivante :

$$P_{net x} = (P_{net i}^{Ex} \times h_{ijx}) + (P_{net i}^{E0} \times h_{inx}) + (P_{net e}^{Ex} \times h_{ejx}) + (P_{net e}^{E0} \times h_{enx})$$

où $P_{net\ i}^{Ex}$ est la production nette en immersion pour un éclairage mensuel moyen E_x , $P_{net\ i}^{E0}$ est la production nette en immersion à l'obscurité, $P_{net\ e}^{Ex}$ est la production nette en émergence pour un éclairage mensuel moyen E_x , $P_{net\ e}^{E0}$ est la production nette en émergence à l'obscurité. h_{ijx} est la durée journalière moyenne (h) de la période d'immersion à la lumière pour un mois x donné, h_{inx} est la durée journalière moyenne (h) de la période d'immersion à l'obscurité pour un mois x donné, h_{ejx} est la durée journalière moyenne (h) de la période d'émergence à la lumière pour un mois x donné, h_{enx} est la durée journalière moyenne (h) de la période d'émergence à l'obscurité pour un mois x donné.

Afin d'estimer la contribution de la calcification aux flux de CO₂, le rapport molaire du CO₂ émis lors de la calcification sur le CaCO₃ précipité, Ψ , a été calculé pour chaque mois en fonction de la température moyenne, selon l'équation de Frankignoulle et al. (1994) :

$$\Psi = 0.8 - 8.3 \times 10^{-3} T$$

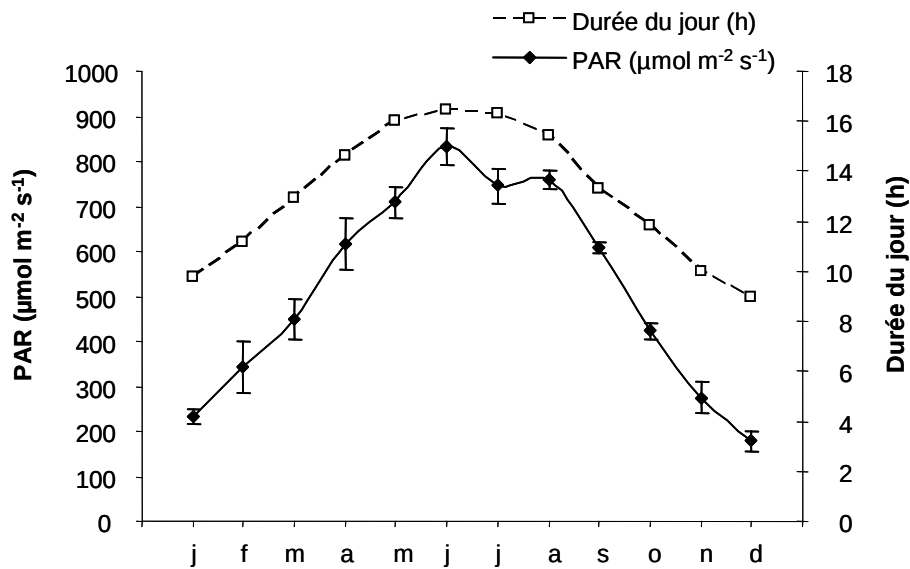


Figure III.13 : Evolution des valeurs moyennes mensuelles de la durée du jour (ligne pointillée) et de l'irradiance (ligne pleine). Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

2.3. Résultats

2.3.1. Paramètres environnementaux

Les températures moyennes mesurées dans l'eau et dans l'air étaient de 18,6°C et 22,7°C respectivement pour le mois d'août et de 10,1°C et 10,1°C en mars. L'irradiance

mesurée lors des incubations en émergence était comprise entre 890 et 1 507 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ au mois d'août (moyenne journalière : 760 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, figure 5) et entre 415 et 1 296 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ au mois de mars (moyenne journalière : 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, figure III.13). Le coefficient d'extinction de la lumière K_Z , a été estimé à 0.33. L'irradiance mesurée lors des incubations en immersion, a varié de 86 à 580 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ au mois de mars (moyenne journalière : 324 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) alors que les valeurs estimées pour le mois d'août allaient de 341 à 942 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (moyenne journalière : 546 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). La durée du jour, permettant de calculer les bilans de production annuels, a varié entre 9h et 16h30 selon la saison (figure III.13).

De 2006 à 2008, le rapport molaire Ψ , a été maximal en février avec une valeur de 0,73 correspondant à une température moyenne de l'eau de 8,9°C, et minimal en août avec une valeur de 0,64 pour une température moyenne de l'eau de 19°C (figure III.14).

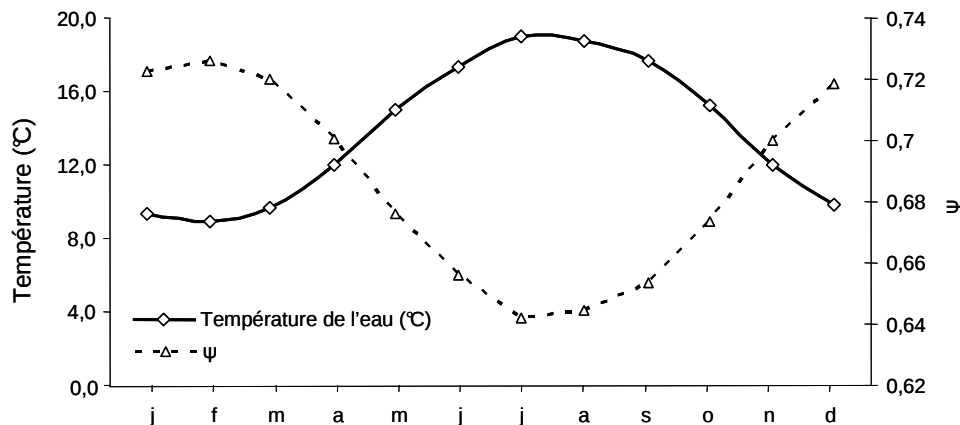


Figure III.14 : Evolution des valeurs moyennes mensuelles de la température de l'eau (ligne pleine) et du ratio molaire (Ψ) du CO₂ émis sur le CaCO₃ précipité lors de la calcification, (ligne pointillée).

2.3.2. Caractéristiques de la macrofaune associée aux huîtres

Aux deux saisons d'échantillonnage, la densité des huîtres était de 687 (écart-type 179) ind. m⁻² sur les blocs à forte densité et de 28 (écart-type 38) ind. m⁻² sur les blocs de référence. Ces densités correspondent à des biomasses de 115,2 (écart-type 38,7) g AFDW m⁻² et 5,5 (écart-type 2,9) g AFDW m⁻², respectivement. L'abondance et la richesse spécifique (figure III.15A et 15B) de la macrofaune associée aux huîtres (502,2 ind m⁻² et 8.2 espèces) sont également significativement supérieures (test U de Mann-Whitney, p<0,05) à celles de la macrofaune présente sur des blocs de référence (117,5 ind m⁻² et 3,7 espèces). Hormis les balanes (*Elminius modestus*), et une espèce de chiton, *Acanthochitona crinita*, les espèces présentes sur les blocs sans huîtres sont exclusivement des gastéropodes (tableau 1). Lorsque

les huîtres colonisent en grand nombre la roche intertidale, la composition taxonomique de la macrofaune associée se fait plus variée et comprend une nouvelle classe de mollusques : un bivalve, une nouvelle espèce de gastéropode, trois nouveaux ordres de crustacés malacostracés : un décapode, un isopode et des amphipodes, ainsi qu'un nouvel embranchement : un annélide polychète (tableau III.6).

Malgré cette augmentation de l'abondance et de la richesse spécifique, il n'y a aucune différence significative (test U de Mann-Whitney, $p = 0,8$ et $0,9$ respectivement) entre la biomasse et la calcimasse de la macrofaune présente sur les blocs de référence ou à forte densité d'huîtres (figure III.15C et 15D).

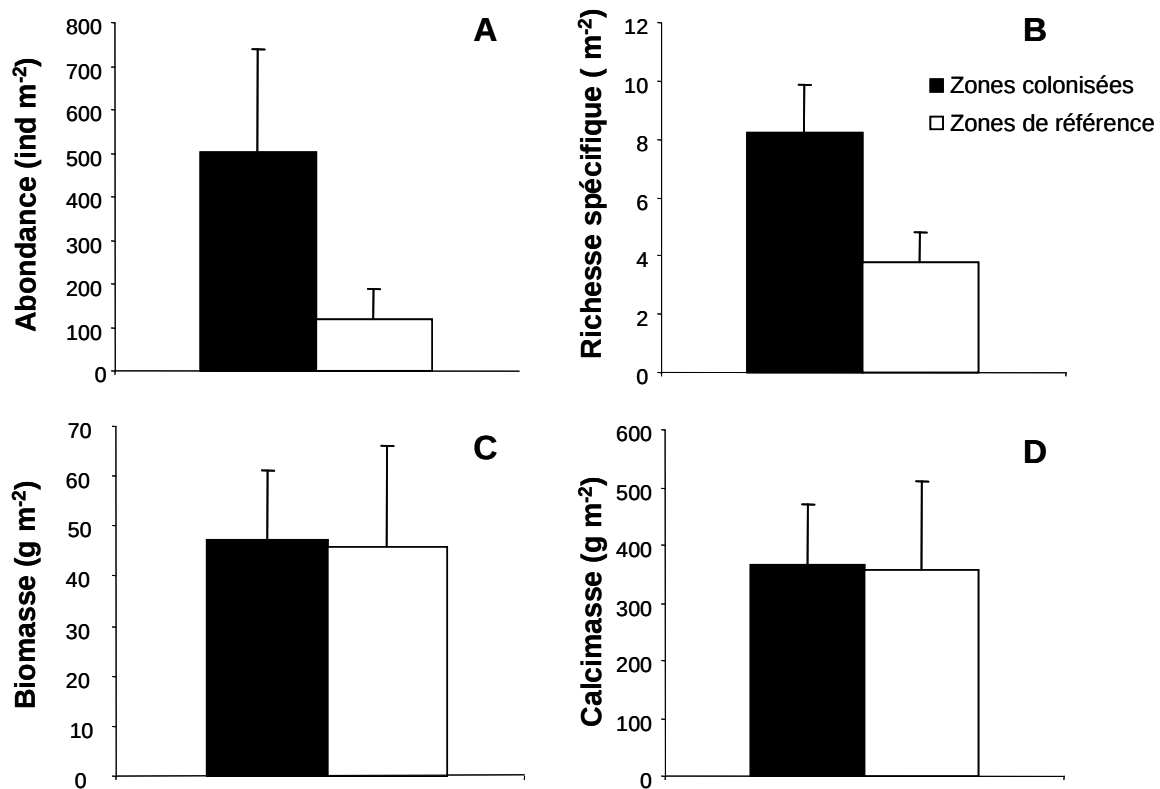


Figure III.15 : Abondance (A), richesse spécifique (B), biomasse (C) et calcimasse (D) de la macrofaune présente sur les blocs de substrat rocheux colonisés par des huîtres ou de référence. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

Tableau III.6 : Abondance moyenne (N, écart-type entre parenthèses) et nombre d'échantillons (pour un total de 12 pour les zones de référence et 18 pour les blocs avec huîtres) où a été répertoriée chaque espèce. L'abondance n'a pas été mesurée pour l'espèce de balanes *Elminius modestus* présente sur tous les échantillons.

		Blocs sans huîtres	Blocs avec huîtres
Gastéropodes	<i>Patella vulgata</i>	X	X
	<i>Gibbula umbilicalis</i>	X	X
	<i>Littorina littorea</i>	X	X
	<i>Osilinus lineatus</i>	X	X
	<i>Nucella lapillus</i>		X
Polyplacophores	<i>Acanthochitona crinita</i>		X
Bivalves	<i>Mytilus edulis</i>		X
Cirripèdes	<i>Elminius modestus</i>	X	X
Décapodes	<i>Carcinus maenas</i>		X
Isopodes	<i>Dynamene bidentata</i>		X
Amphipodes	<i>Amphipode sp</i>		X
Annélides polychètes	<i>Terebella lapidaria</i>		X

2.3.3. Métabolisme des communautés en émergence

Aucune influence significative de la saison ou de la colonisation du substrat par les huîtres (figure III.16) n'a été mise en évidence pour les flux de CO₂ en émergence à l'obscurité (test de Kruskal-Wallis, H = 3,78, p = 0,29). L'analyse des valeurs obtenues lors des suivis réalisés pendant la période d'émergence des huîtres (figure III.17) ne montre aucune variation significative des taux de respiration aussi bien le 29 août (ANOVA du χ^2 , p = 0,06) que le 9 mars (ANOVA du χ^2 , p = 0,07).

Le modèle P_{net}-E explique 77% de la variance en août pour les blocs avec huîtres et 64% pour les zones de référence (figure III.18 et tableau III.7). Les flux obtenus aux fortes irradiances démontrent un phénomène de photoinhibition au-delà de 1 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et n'ont, par conséquent, pas été pris en compte dans l'ajustement du modèle. Ils ne diffèrent pas significativement des flux obtenus à l'obscurité (Test U de Mann-Whitney, p > 0,1). Au mois d'août, il n'y a pas de différence significative entre les flux de CO₂ mesurés à l'obscurité sur les deux types de fonds. A la lumière en revanche, ils sont plus de 4 fois plus intenses sur les zones colonisées que sur les zones de référence (figure 1III.18A). Au mois de mars, le modèle explique 94% de la variance pour les blocs avec huîtres et 97% pour les zones de référence (tableau III.7) et les paramètres P_{max} et r sont très semblables pour les incubations correspondant aux deux situations (tableau III.7, figure 1III.18B).

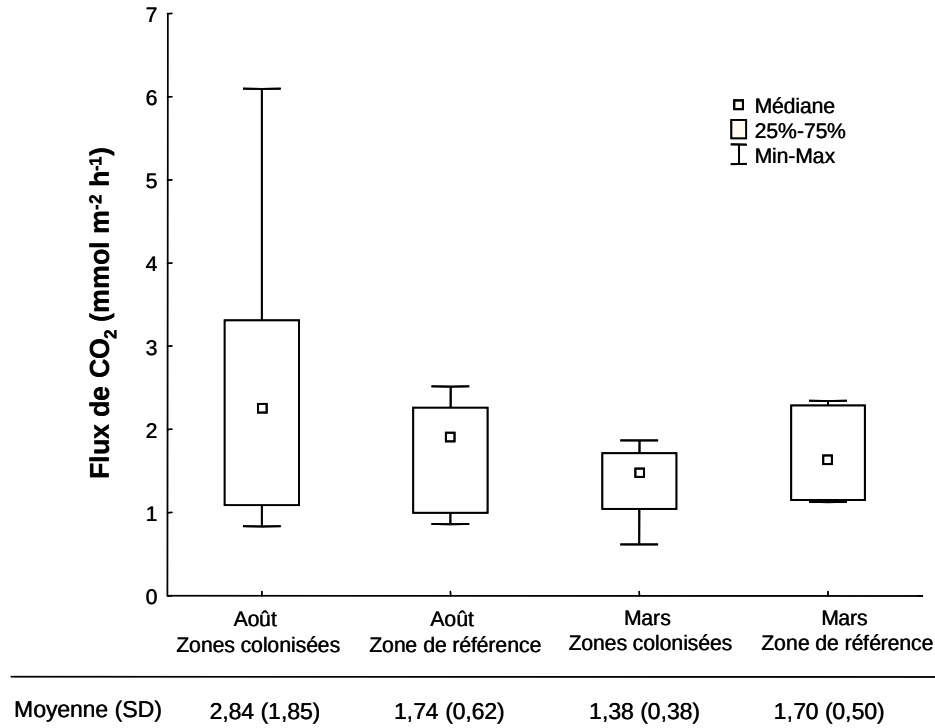


Figure III.16 : Flux de CO₂ (mmol m⁻² h⁻¹) produits par la respiration aérienne à l'obscurité des zones fortement colonisées par *C. gigas* ou de référence aux mois d'août et de mars. La moyenne de cette production (écart-type entre parenthèses) est précisée en bas de la figure

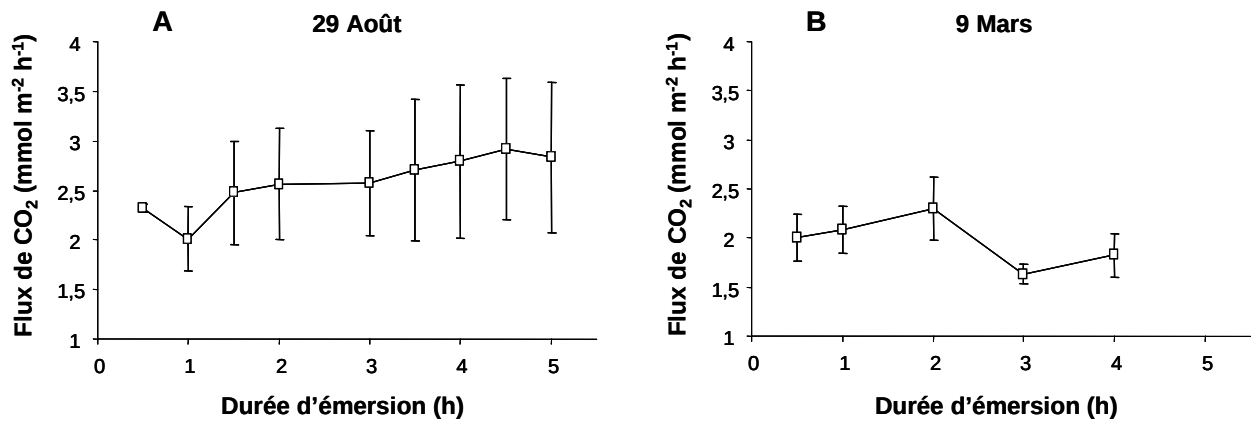


Figure III.17 : Variation des flux de CO₂ (mmol m⁻² h⁻¹) produits par les blocs colonisés par *C. gigas* à l'obscurité au cours d'une marée basse les 29 août (A) et 9 mars (B). Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

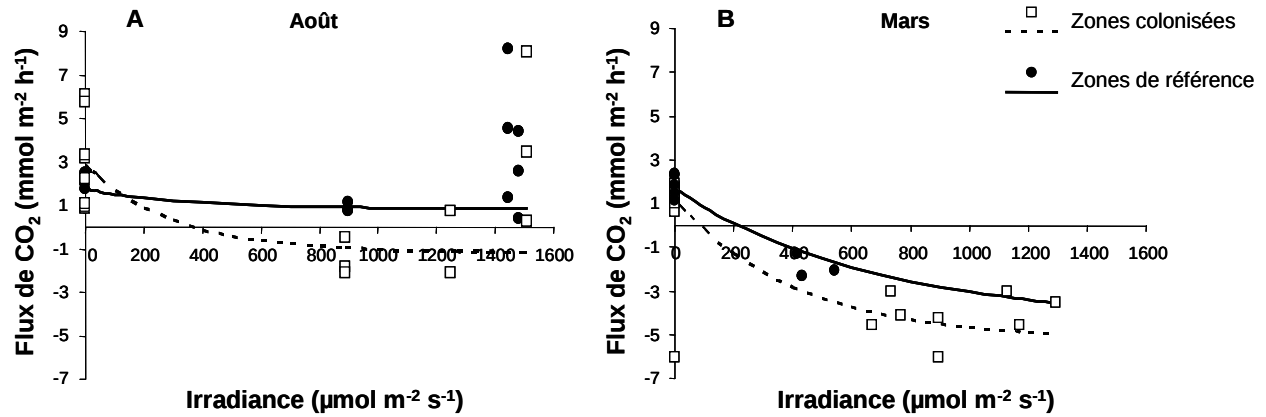


Figure III.18 : Courbes production nette / irradiance (courbes $P_{net} - E$) établies à partir des résultats des incubations en émergence en août (A) et en mars (B) sur des zones fortement colonisées par *C. gigas* et de référence.

Tableau III.7 : Paramètres des courbes production nette / irradiance établies à partir des résultats des incubations. P_{max} représente la production primaire brute maximale ($mmol\ l^{-1}\ h^{-1}$), E_k est l'irradiance minimum de saturation ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) et r la valeur de la respiration à l'obscurité ($mmol\ l^{-1}\ h^{-1}$).

			r^2	P_{max}	Ecart type	E_k	Ecart type	r	Ecart type
Emersion	Août	Zones colonisées	0,77	-4,02	1,44	298,87	356,85	2,84	0,61
		Zones de référence	0,64	-0,89	0,64	318,86	1515,25	1,74	0,24
	Mars	Zones colonisées	0,94	-6,36	2,89	407,94	593,14	1,38	0,29
		Zones de référence	0,97	-6,04	6,75	651,23	1207,84	1,70	0,22
Immersion	Août	Zones colonisées	0,81	-12,46	6,55	321,19	634,80	17,16	1,89
		Zones de référence	0,97	-10,23	2,07	359,11	165,79	2,81	0,44
	Mars	Zones colonisées	0,93	-10,56	1,36	95,17	30,99	8,41	0,58
		Zones de référence	0,97	-8,49	0,95	180,33	50,02	3,29	0,41

2.3.4. Métabolisme des communautés en immersion

La respiration des blocs colonisés par les huîtres était significativement plus forte que celle des zones de référence, aussi bien en août (Test U de Mann-Whitney, $p = 0,004$) qu'au mois de mars (Test U de Mann-Whitney, $p = 0,003$). Si l'on compare les deux dates, les flux de respiration des blocs avec huîtres étaient significativement plus forts en août (Test U de Mann-Whitney, $p = 0,001$) alors qu'aucune différence significative n'a pu être mise en évidence pour les zones de référence (Test U de Mann-Whitney, $p = 0,27$) (figure III.19).

L'ajustement du modèle $P_{\text{net}}\text{-E}$ aux flux de DIC explique 81% (août) et 93% (mars) de la variance pour les blocs avec huîtres et 97% (août et mars) pour les zones de référence (tableau III.7). Au mois d'août, les flux de DIC montrent une même tendance mais les valeurs correspondant aux blocs colonisés sont très supérieures à ceux des zones de référence (figure III.20A). En effet, si les valeurs de la production primaire brute, P_{max} , calculées par le modèle sont assez proches, le flux de respiration est plus de 6 fois plus fort pour les blocs avec huîtres (tableau III.7). Ainsi, quelle que soit la valeur de l'éclairement reçue par la communauté colonisée par *C. gigas*, les flux de DIC restent positifs. Au mois de mars, les tendances des courbes ainsi que les P_{max} sont également proches entre les zones colonisées ou de référence, mais les flux de respiration deux fois plus intenses pour les blocs avec huîtres expliquent leur consommation inférieure de DIC (figure III.20B et tableau III.7). A la différence du mois d'août, le flux de DIC devient négatif au-delà d'un éclairement d'environ $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, malgré la présence de *C. gigas* (figure III.20B).

Les valeurs de P_{max} sont proches les unes des autres (tableau III.7) quel que soit le type de fond ou la date.

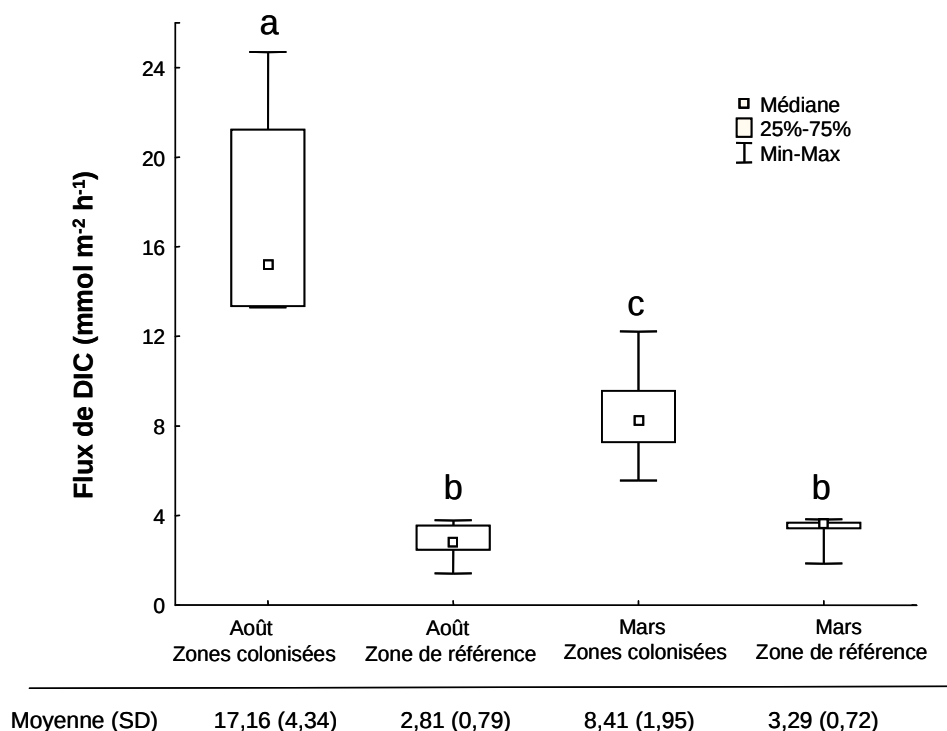


Figure III.19 : Flux de DIC ($\text{mmol m}^{-2} \text{h}^{-1}$) produits par la respiration à l'obscurité en immersion des blocs colonisés par *C. gigas* et ceux de référence aux mois d'août et de mars. La moyenne de cette production (écart-type entre parenthèses) est précisée. Les lettres différentes au dessus des boîtes à moustache indiquent une différence significative entre les valeurs ($p < 0.005$).

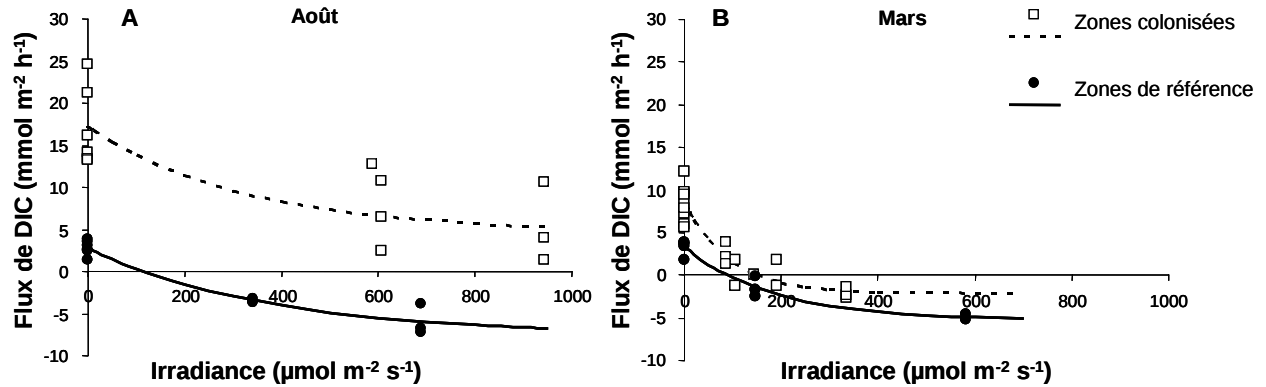


Figure III.20 : Courbes production nette / irradiance (courbes $P_{net} - E$) mesurées lors des incubations en immersion en août (A) et en mars (B) avec des blocs colonisés par *C. gigas* et de référence.

2.3.5. Calcification en période d'immersion

Les flux nets de CaCO₃ sont tous négatifs au mois d'août comme au mois de mars, ce qui reflète une prévalence de la calcification sur la dissolution (figure III.21).

Le bilan calcification/décalcification des blocs colonisés par les huîtres aboutissait à une valeur positive significativement plus forte que celle des zones de référence, aussi bien en août (Test U de Mann-Whitney, $p = 0,000$) qu'en mars (Test U de Mann-Whitney, $p = 0,002$). Le bilan calcification/décalcification des blocs avec huîtres était significativement plus fort en août (Test U de Mann-Whitney, $p = 0,000$) qu'en mars alors qu'aucune différence significative entre les deux saisons n'a été démontrée (Test U de Mann-Whitney, $p = 0,07$) pour les zones de référence (figure III.21).

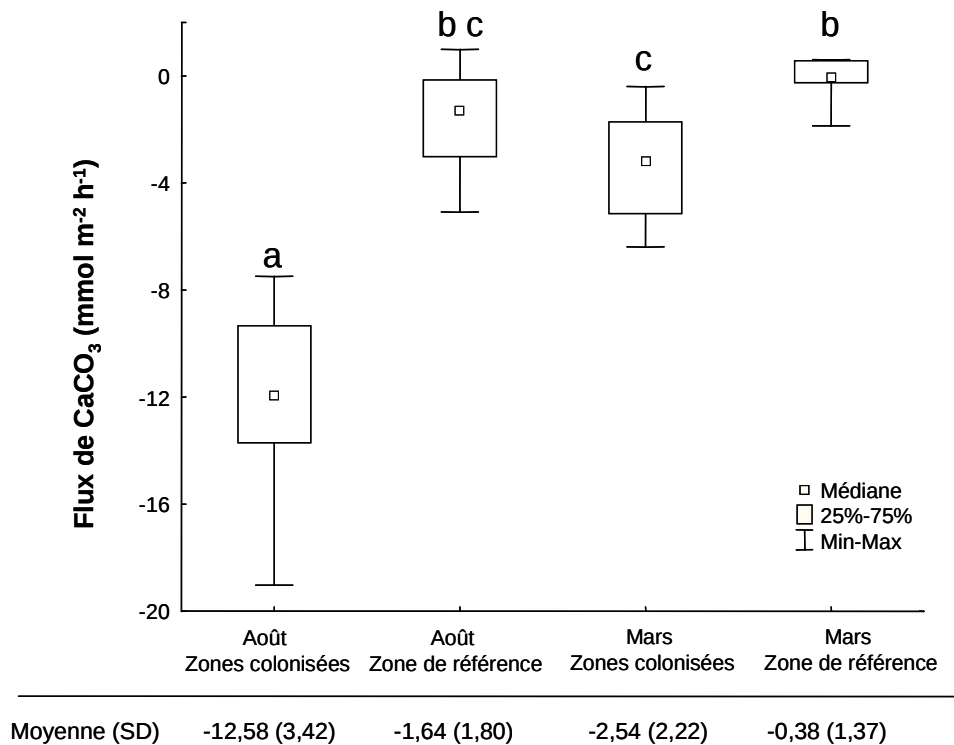


Figure III.21 : Flux nets de CaCO₃ (mmol m⁻² h⁻¹) consommés par les processus de calcification des blocs colonisés par *C. gigas* et ceux de référence aux mois d'août et de mars lors de l'immersion. La moyenne de cette consommation (écart-type entre parenthèses) est précisée en bas de la figure. Les lettres différentes au dessus des boîtes à moustache indiquent une différence significative entre les valeurs ($p < 0.005$).

2.3.6. Bilan des flux de carbone

Sur la zone étudiée, la communauté benthique du substrat rocheux intertidal est autotrophe en l'absence d'invasion par *Crassostrea gigas* (tableau III.8). En effet, le bilan annuel net des flux de carbone par différence des processus de photosynthèse et de respiration est négatif avec une consommation de 7,39 g C m⁻² an⁻¹ (SD 5,39). En revanche, le bilan net annuel de la communauté devient largement hétérotrophe avec une production de 455,37 g C m⁻² an⁻¹ (SD 332,42) en présence d'une forte densité d'huîtres.

Les flux de carbone produits par le processus de calcification sont positifs pour le substrat rocheux de référence (tableau III.9). Ils sont multipliés par plus de 7 pour les blocs colonisés par *C. gigas* (tableau III.9).

La production totale du substrat rocheux intertidal de référence est donc de 33,52 g C m⁻² an⁻¹ et résulte principalement du processus de calcification. En revanche, la production atteint 761,77 g C m⁻² an⁻¹ lorsque le substrat est colonisé par une densité élevée d'huîtres, avec une contribution de 40% pour la calcification.

Tableau III.8 : Productions journalières et mensuelles de CO₂ émis par un substrat rocheux intertidal colonisé ou non par *C. gigas*.

mois	irradiance moyenne	irradiance incidente sous l'eau	Durée immersion (h)		Durée émerision (h)		Production journalière de CO ₂ (g m ⁻²)		Production mensuelle de CO ₂ (g m ⁻²)		
			Lumière	Obscurité	Lumière	Obscurité	Zones colonisées	Zones de référence	Zones colonisées	Zones de référence	
j	232,7	167,3	5,7	8,3	4,1	5,9	0,818	0,317	24,53	9,52	
f	344,1	247,4	6,5	7,5	4,7	5,3	0,580	0,121	17,40	3,63	
m	450,2	323,6	7,6	6,4	5,4	4,6	0,348	-0,081	10,43	-2,44	
a	616,8	443,4	8,5	5,5	6,1	3,9	2,015	-0,116	60,44	-3,48	
m	709,1	509,8	9,3	4,7	6,7	3,3	1,820	-0,253	54,60	-7,58	
j	832,4	598,4	9,6	4,4	6,9	3,1	1,699	-0,344	50,96	-10,32	
j	745,8	536,1	9,5	4,5	6,8	3,2	1,770	-0,289	53,11	-8,66	
a	759,4	546,0	9,0	5,0	6,4	3,6	1,839	-0,244	55,16	-7,33	
s	609,7	438,3	7,8	6,2	5,5	4,5	2,127	-0,042	63,80	-1,25	
o	424,2	304,9	6,9	7,1	4,9	5,1	0,464	0,010	13,93	0,29	
n	275,3	197,9	5,8	8,2	4,2	5,8	0,744	0,255	22,31	7,64	
d	177,9	127,9	5,2	8,8	3,7	6,3	0,957	0,420	28,70	12,60	
									455,37	-7,39	Production annuelle de CO ₂ (g m ⁻² an ⁻¹)
									332,42	-5,39	écart-type

Tableau III.9 : Bilan mensuel et annuel de la production de CO₂ émise par les processus de calcification d'un substrat rocheux intertidal colonisés ou non par *C. gigas*.

		Calcification (mol CaCO ₃ m ⁻² j ⁻¹)		Production journalière de CO ₂ (g m ⁻²)		Production mensuelle de CO ₂ (g m ⁻²)		
Mois	ψ	Colonisés	Référence	Colonisés	Référence	Colonisés	Référence	
j	0,72	-35,54	-5,26	0,308	0,046	9,24	1,37	
f	0,73	-35,54	-5,26	0,310	0,046	9,29	1,38	
m	0,72	-35,54	-5,26	0,307	0,045	9,21	1,36	
a	0,70	-176,16	-22,96	1,481	0,193	44,42	5,79	
m	0,68	-176,16	-22,96	1,429	0,186	42,86	5,59	
j	0,66	-176,16	-22,96	1,386	0,181	41,59	5,42	
j	0,64	-176,16	-22,96	1,357	0,177	40,72	5,31	
a	0,64	-176,16	-22,96	1,362	0,178	40,87	5,33	
s	0,65	-176,16	-22,96	1,381	0,180	41,44	5,40	
o	0,67	-35,54	-5,26	0,287	0,043	8,61	1,28	
n	0,70	-35,54	-5,26	0,299	0,044	8,96	1,33	
d	0,72	-35,54	-5,26	0,306	0,045	9,19	1,36	
						306,40	40,91	production annuelle de CO ₂ (g m ⁻²)
						116,09	65,55	écart-type

2.4. Discussion

2.4.1 Impact de *Crassostrea gigas* sur la macrofaune intertidale

La présence de *C. gigas* sur les blocs intertidaux augmente l'abondance et la richesse spécifique de la macrofaune. Ce résultat s'accorde avec ceux obtenus précédemment en Rade de Brest, sur de la roche en place, lorsque *C. gigas* occupe 100% de la surface du substrat (Partie III, chapitre 1). La biomasse et la calcimasse de la macrofaune intertidale présente sur les blocs ne sont cependant pas modifiées par la présence de *C. gigas*. Ceci peut s'expliquer par le fait que les deux espèces qui dominent lorsque *C. gigas* colonise les blocs sont un polyplacophore, *Acanthochitona crinita*, et un annélide polychète, *Terebella lapidaria*, donc de faible biomasse et très peu calcifiées. Deux espèces très calcifiées apparaissent également avec la présence des huîtres, *Mytilus edulis* et *Nucella lapillus*. Cependant, avec une moyenne de 2 individus par prélèvement de 0,1 m² sur 15 des 18 incubations pour *M. edulis* et 1 individu par prélèvement de 0,1 m² sur 2 des 18 incubations pour *N. lapillus*, la calcimasse n'est pas significativement différente de celle des zones de référence. On remarque également que les patelles sont plus petites quand elles sont épibiontes des huîtres comparées à celles qui se trouvent sur les zones sans huître.

2.4.2. Impact de *Crassostrea gigas* sur le métabolisme aérien des communautés intertidales rocheuses

Le fait que les blocs soient colonisés par *C. gigas* n'a pas d'influence significative sur la respiration de la communauté intertidale lors de la phase d'émersion. Tout d'abord, tant que les huîtres ne forment pas de récif, la surface disponible pour les épibiontes n'augmente pas significativement (Lejart et Hily soumis, Partie III, chapitre 1) ce qui limiterait l'accroissement de la biomasse et donc de la respiration du biofilm. De même, la biomasse de la macrofaune n'augmente pas significativement en présence d'huîtres creuses sur les blocs, ce qui pourrait expliquer la stabilité des flux de CO₂ émis par la respiration de ce compartiment de la communauté. Enfin, des travaux précédents (Lejart et al soumis, Partie 3, chapitre 2.1) ont montré que *C. gigas* ne respirait pas en émersion. Par conséquent, la contribution de la colonisation de la zone intertidale rocheuse par *C. gigas* aux flux de CO₂ est nulle pendant la marée basse.

Nos résultats ne montrent aucune variabilité saisonnière de la respiration aérienne des communautés intertidales. L'effet de la température sur la respiration du microphytobenthos a pourtant été démontré dans de nombreuses études sur les sédiments meubles (Migne et al. 2004; Hubas et al. 2006; Spilmont et al. 2006; Davoult et al. 2009). Les seules mesures de la respiration aérienne effectuées sur du microphytobenthos rocheux montrent également une variation saisonnière (Gollety et al. 2008). Cependant ces résultats ont été obtenus dans des conditions très différentes des nôtres car ils mesuraient les flux de respiration une fois la canopée de macroalgues recouvrant le substrat retirée, ce qui modifie considérablement les conditions de température et d'humidité auxquelles le microphytobenthos était acclimaté. La comparaison des deux études semble donc difficile ; toutefois les flux de respiration aérienne mesurés dans notre étude sur les blocs sans huîtres (1,70 - 1,74 mmol C m⁻² h⁻¹) sont situés dans la même gamme que ceux de Gollety et al. (2008) (0,20 - 6,29 mmol C m⁻² h⁻¹).

Nos résultats permettent de penser que le microphytobenthos rocheux présente un métabolisme différent de celui se développant sur les substrats meubles intertidaux.

Cette différence de métabolisme s'exprime également au niveau du processus de photosynthèse. En effet, lors des incubations à la lumière au mois d'août, les flux de CO₂ sont apparus nettement positifs pour des irradiances supérieures à 1 400 μmol m⁻² s⁻¹, et ne différaient pas significativement des flux de respiration mesurés à l'obscurité. Cette réponse serait due à un phénomène de photoinhibition (Blanchard et al. 2004). Ce phénomène n'est pratiquement jamais observé sur le microphytobenthos en sédiment meuble car ce dernier

adopte une stratégie d'évitement lors de la marée basse en effectuant une migration verticale dans le sédiment pour se protéger des fortes radiations (Rasmussen et al. 1983; Barranguet et al. 1998; Migne et al. 2004; Serodio et al. 2008). Les microalgues présentes sur le substrat rocheux ne peuvent effectuer une telle migration dans un substrat dur et par conséquent se protéger des effets des fortes irradiances estivales. La colonisation du substrat rocheux par *C. gigas* pourrait apporter cette protection aux microalgues. En effet, l'analyse des paramètres photosynthétiques des courbes P_{net} -E montre que la production primaire brute maximale P_{max} est plus de 4 fois supérieure sur les blocs colonisés en comparaison avec les blocs de référence. Le relief créé par les huîtres sur la roche produit des zones ombragées où l'intensité de la lumière serait plus favorable à la photosynthèse que l'irradiance maximale reçue par les blocs de roche nue. Les anfractuosités entre les huîtres permettraient également de conserver, à marée basse, un peu plus d'humidité propice aux microalgues que sur une roche nue. Le suivi des taux de respiration pendant la phase d'émersion réalisée le 29 août semble confirmer cette hypothèse. En effet, malgré une température moyenne de 22,7°C, aucune variation significative des flux de CO₂ n'a pu être mise en évidence entre la 1^{ère} et la 5^{ème} heure d'émersion, alors que pour une température moyenne de 19,9°C au laboratoire, les flux avaient été divisés par 2 pour des huîtres isolées (Lejart et al soumis, Partie 3, chapitre 2.1). Les paramètres des courbes au mois de mars sont très proches entre les blocs colonisés par les huîtres et les zones de référence. La protection induite par les huîtres serait par conséquent beaucoup moins sensible lorsque les valeurs de l'irradiance et de la température de l'air sont plus faibles.

Contrairement aux flux de respiration, nos résultats montrent une variation saisonnière de la production primaire du substrat rocheux intertidal. Une même tendance avait été mise en évidence sur la roche par Gollety et al. (2008) et par de nombreux auteurs sur les sédiments meubles (Rasmussen et al. 1983; Spilmont et al. 2002; Migne et al. 2004; Spilmont et al. 2006). Cependant cette variation n'est pas toujours vérifiée (Spilmont et al. 2005; Davoult et al. 2009) et l'ensemble des facteurs régulant l'intensité de la production primaire n'a pas encore été exploré. La colonisation par *C. gigas* semblerait toutefois atténuer cette variation saisonnière en limitant les phénomènes de photoinhibition au mois d'août. Les flux de carbone liés à la production primaire brute des blocs de référence obtenues dans cette étude (0,89 - 6,04 mmol C m⁻² h⁻¹) sont en accord avec ceux de Gollety et al. (2008) (0,08 - 6,35 mmol C m⁻² h⁻¹).

2.4.3. Impact de *Crassostrea gigas* sur le métabolisme des communautés intertidales rocheuses en immersion

Lors des périodes d'immersion, la présence de *C. gigas* sur les blocs de roche intertidale affecte nettement les flux de respiration du substrat colonisé alors que ce n'était pas le cas pendant l'émersion. La respiration des blocs colonisés par *C. gigas* est en effet plus de 6 fois supérieure à celle des blocs sans huître au mois d'août et ce rapport est ramené à 2,5 en mars. L'augmentation significative des flux est due à la respiration des huîtres lorsqu'elles colonisent la roche. Dans les zones de référence, aucune variation saisonnière des flux de CO₂ émis par la respiration de la communauté intertidale rocheuse n'apparaît lors de la période d'immersion. Cette tendance ainsi que les valeurs des flux mesurés dans cette étude (2,81 – 3,29 mmol C m⁻² h⁻¹) sont en concordance avec ceux obtenus par Magalhaes et al (2003) (1,57 ± 0,55 mmol C m⁻² h⁻¹) sur un substrat rocheux dans l'estuaire de la rivière Douro au Portugal. Le microphytobenthos en substrat meuble intertidal a été assez peu étudié en immersion mais une étude réalisée sur le microphytobenthos subtidal en Rade de Brest (Longphui et al. 2007) n'a pas, non plus, détecté de variabilité saisonnière nette. Toutefois, lorsque le substrat rocheux est colonisé par *C. gigas*, des fluctuations saisonnières se manifestent, puisque les flux émis au mois d'août sont 2 fois plus importants que ceux du mois de mars. Ce phénomène s'explique par le fait que la température de l'eau est un facteur majeur influençant le taux de respiration aquatique des huîtres (Boucher et Boucher-Rodoni 1988; Dame et al. 1992; Bougrier et al. 1995; Mao et al. 2006; Lejart et al soumis, Partie 3, chapitre 2.1).

L'analyse des paramètres photosynthétiques des courbes P_{net}-E montre que la production primaire brute maximale P_{max} est peu affectée par la colonisation du substrat par les huîtres. Le rôle de protection joué par les huîtres vis-à-vis de la photoinhibition pendant la phase d'émersion au mois d'août n'intervient plus lors de l'immersion puisque le rayonnement est atténué par la colonne d'eau. Aucune variabilité saisonnière de la production primaire brute n'a pu être mise en évidence lors de ce travail. Magalhaes et al. (2003) (12,17 ± 4,84 mmol C m⁻² h⁻¹) ont obtenu des résultats similaires aux nôtres (8,49 – 10,23 mmol C m⁻² h⁻¹). Les huîtres modifient cependant considérablement les flux de production primaire nette au mois d'août. En effet, quelle que soit la valeur de l'éclairement reçue par la communauté colonisée par *C. gigas*, le flux de carbone reste positif, alors qu'à partir d'une irradiance d'environ 100 μmol m⁻² s⁻¹, la production l'emportait sur la respiration dans les zones de référence. La présence de *C. gigas* bouleverse donc les bilans de carbone des communautés intertidales rocheuses lorsqu'elle s'y développe.

2.4.4. *Impact de Crassostrea gigas sur la calcification des communautés intertidales rocheuses*

La colonisation du substrat rocheux intertidal par *C. gigas* a un effet significatif sur les flux de CaCO₃ de la communauté. L'augmentation significative de ces flux est due uniquement à la calcification des huîtres, puisque la calcimasse des espèces associées n'est pas modifiée par la présence des huîtres sur les blocs de roche. *C. gigas* engendre également une variation saisonnière des flux qui n'apparaît pas pour la communauté intertidale originelle. Cette variation s'explique par le fait que le taux de croissance coquillière de *C. gigas* est plus important pendant le printemps et l'été qu'en hiver (Lejart et al soumis, Partie 3, chapitre 2.1).

2.4.5. *Conséquences de la prolifération de Crassostrea gigas sur le bilan en carbone des écosystèmes côtiers*

Le substrat rocheux intertidal non colonisé par *C. gigas* présente un fonctionnement global hétérotrophe. D'après nos résultats, les taux de production primaire sont maximaux lors de la période d'immersion en journée. Ces résultats concordent avec ceux trouvés par Magalhaes et al. (2003) en période d'immersion et par Gollety et al. (2008) lors de la phase d'émersion où les taux de respiration et de production primaire étaient presque similaires. Nos résultats vont cependant à l'encontre de toutes les études réalisées sur le microphytobenthos intertidal estuarien sur sédiment meuble où les auteurs considèrent que la production primaire lors de la phase d'immersion est négligeable du fait d'une turbidité importante des eaux qui limite la quantité de lumière atteignant le benthos (Barranguet et al. 1998; Serodio et Catarino 2000; Migne et al. 2004; Spilmont et al. 2006). Malgré la tempête exceptionnelle qui se déroula les 10 et 11 mars 2008 sur toute la façade Atlantique française et augmenta nettement la turbidité des eaux de surface en Rade de Brest, le coefficient d'extinction de la lumière K_z , est resté assez faible avec une valeur moyenne de 0,35 pour la journée du 19 mars. Le fait que la profondeur moyenne des huîtres lors de l'immersion ne soit que de 1,75 mètres permet à plus de la moitié de la lumière mesurée en surface d'arriver jusqu'au fond malgré la turbidité de l'eau. Les bilans de production estimés pour les zones estuariennes intertidales de sédiment meuble pourraient donc être biaisés d'autant plus que certains auteurs considèrent également dans leur calculs que la respiration du microphytobenthos est identique lors des périodes

d'immersion et d'émersion (Spilmont et al. 2007). Nos résultats montrent que les flux de CO₂ émis par la respiration à l'obscurité des blocs sans huîtres sont plus de 2 fois supérieurs en immersion.

Lorsque le substrat est colonisé par *C. gigas*, le fonctionnement de la communauté devient largement hétérotrophe avec une production maximale de CO₂ lors de l'immersion la nuit.

Le bilan net annuel des flux de CO₂ émis par les zones de référence est estimé à 33,52 g C m⁻² an⁻¹ en tenant compte du processus de calcification. Cette valeur est assez proche de celles obtenues pour une population de balanes *Chtamalus montagui* au Conquet (39 g C m⁻² an⁻¹) (Clavier et al. 2009). La production totale annuelle s'élève à 761,77 g C m⁻² an⁻¹ lorsque le substrat est recouvert d'une densité importante d'huîtres, avec une contribution à hauteur de 40% du flux émis lors du processus de calcification. Cet apport est supérieur à celui qui avait été mesurée au laboratoire (22%) et laisserait donc penser que les incubations en flacons aient un peu stressé les huîtres et amené à sous-estimer les flux de CO₂ émis par le processus de calcification (Lejart et al soumis, Partie 3, chapitre 2.1). Cette contribution est également très supérieure à celle qui a été mesurée pour *Crepidula fornicata* en Rade de Brest ; 14% (Martin et al. 2006b) ou pour *C. montagui* ; 3% (Clavier et al. 2009). Ce phénomène s'explique principalement par un taux de dissolution très faible de la coquille des huîtres (Lejart et al soumis, Partie 3, chapitre 2.1). La production totale annuelle est plus importante que celle obtenue pour les sites de forte densité de *C. fornicata* (530 g C m⁻² an⁻¹) et implique donc que *C. gigas* soit prise en compte dans les sources de carbone de l'écosystème côtier de la Rade de Brest et dans les zones où l'espèce prolifère. En effet, dans l'hypothèse d'une colonisation totale des 3 km² actuellement touchés par la prolifération en Rade de Brest, avec une densité d'environ 700 ind. m⁻², la production annuelle de carbone s'élèverait à 2,3 tonnes. Ce résultat est toutefois probablement surestimé par le fait que *C. gigas* se fixe dans une moindre mesure sur les roches colonisées par une canopée de macro-algues (Partie II, Chapitre 2) et ces dernières peuvent également coloniser les coquilles des huîtres (Partie III, chapitre 1. ; Sousa-Dias et Melo 2008). Or Gollety et al. (2008) ont montré que les taux de production primaire brute des macroalgues étaient beaucoup plus forts que ceux du microphytobenthos des zones rocheuses intertidales, ce qui diminue la contribution nette de la communauté aux flux de CO₂ émis dans l'atmosphère.

Par ailleurs, depuis quelques années, les vasières intertidales en Rade de Brest sont également progressivement colonisées par *C. gigas* ce qui pourrait donc à terme également modifier le bilan de production de ces zones.

SYNTHESE GENERALE

Ces travaux ont permis d'avancer dans la compréhension du processus invasif des populations sauvages de *Crassostrea gigas* qui avaient été jusqu'ici délaissées au profit de l'étude des huîtres cultivées.

1. Etat de la prolifération

A l'exception de la zone nord-Finistère et des baies de Douarnenez et Audierne, l'ensemble des côtes bretonnes est actuellement colonisé par *C. gigas*. La Rade de Brest et le Golfe du Morbihan sont particulièrement touchés par cette colonisation puisque notre étude a permis d'y recenser des stocks de 10 000 et 6 420 tonnes (poids frais) répartis sur environ 3 et 5 km², respectivement. Nos résultats montrent que la colonisation s'étend progressivement à partir des zones ostréicoles, à la faveur des courants marins et de conditions favorables à leur installation (hydrodynamisme, substrat, pollution).

2. Dynamique de la prolifération

La première partie de ce travail a permis de confirmer, pour la Bretagne, l'hypothèse de la responsabilité du changement climatique dans l'établissement de *C. gigas*, hypothèse émise par Cognie et al. (2006) et Diederich et al. (2005) pour la Baie de Bourgneuf et la Mer de Wadden, respectivement. L'absence de *C. gigas* sur les estrans du nord-Finistère, alors qu'elle y est cultivée, est expliquée par des températures estivales de l'eau trop faibles pour permettre la ponte et donc la reproduction. Le suivi de la gamétogénèse d'huîtres cultivées dans cette zone (Aber Benoît) a montré qu'elles présentaient un cycle de reproduction atypique avec une période de régression de la gonade qui pouvait se prolonger jusqu'au printemps suivant.

Dans la seconde partie de ce travail, l'influence des facteurs abiotiques et biotiques du milieu sur une autre phase du cycle de vie de *C. gigas*, le recrutement, a été testé en Rade de Brest. Nos résultats mettent en évidence que, en conditions euhalines, *C. gigas* ne se fixe pas dans la zone subtidale, réfutant ainsi les hypothèses d'exclusion de l'huître plate, *Ostrea edulis*, par *C. gigas*. La création des récifs d'huîtres de *C. gigas* permet même à *O. edulis* de remonter sur l'estran. Les prédateurs ont un impact sur le succès de recrutement de *C. gigas* dès les premières semaines mais également dans les mois qui suivent la fixation, réduisant de 25% le nombre de naissains sur le substrat. Nos travaux n'ont par contre montré aucune

influence de la prédation sur la croissance des naissains. La nature du substrat a une influence sur le recrutement, les adultes et les valves creuses étant le substrat privilégié tandis que les algues fucales et entéromorphes limitent nettement la fixation des naissains. La croissance des naissains dépend également de la nature du substrat avec les meilleurs taux observés sur des structures hétérogènes telles que les huîtres vivantes et les moules.

Dans la dernière partie de ce travail, les conséquences de l'épisode de mortalité estivale massive de l'été 2008 ont été relevées sur 24 sites répartis sur l'ensemble des côtes bretonnes. Cette étude a mis en évidence que les populations sauvages de *C. gigas* avaient été très peu touchées par ces mortalités. Les mortalités seraient dépendantes d'un gradient de trois paramètres qui sont la bathymétrie, la proximité des parcs ostréicoles et la proximité du sédiment ; les taux de mortalités les plus forts ayant été observés sur des blocs de roche positionnés sur de la vase à proximité des parcs en bas de la zone intertidale. Cette constatation pourrait permettre d'appuyer certaines propositions faites par Samain et McCombie (2007) pour améliorer la situation dans les exploitations ostréicoles, comme par exemple remonter les poches ostréicoles plus haut sur l'estran pendant l'été.

3. Conséquences écologiques de la prolifération

Dans cette dernière partie de la thèse, nous avons étudié dans un premier temps l'impact de la prolifération de *C. gigas* sur les communautés intertidales, puis dans un deuxième temps nous avons quantifié la contribution de *C. gigas* aux flux de CO₂ d'un écosystème côtier.

Tant que la structure du peuplement de *C. gigas* sur un estran rocheux reste plane, son impact sur la communauté est assez limité. Lorsque la colonisation s'intensifie et que des structures en trois dimensions se forment sur la roche ou la vase, créant de véritables récifs d'huîtres, les impacts sur les communautés sont nets. L'abondance et la richesse spécifique sont supérieures sur les récifs mais la répartition de la proportion des embranchements et des groupes trophiques est modifiée. L'analyse des groupes écologiques, de la granulométrie et de la quantité de matière organique dans le sédiment ne révèle pas de perturbations de l'endofaune par un enrichissement en matière organique. Enfin, la comparaison des espèces présentes sur les récifs de substrat rocheux et de substrat meuble ne révèle pas d'homogénéisation des communautés intertidales par la colonisation de *C. gigas*.

Nos travaux ont mis en évidence l'augmentation de l'abondance et de la diversité de la macrofaune sur les récifs d'huîtres. Une perspective intéressante serait l'étude de l'impact de ces récifs sur les prédateurs mobiles, poissons et décapodes. De nombreuses études réalisées sur les récifs de *Crassostrea virginica* aux Etats-Unis montrent que ces habitats concentrent une très grande richesse de prédateurs attirés par l'abondance de proies. Les récifs, reconnus comme un habitat remarquable aux Etats-Unis, agiraient donc comme un dispositif de concentration de poissons (DCP). Aucune étude de ce type n'a encore été réalisée sur les récifs de *C. gigas*. L'impact de *C. gigas* sur d'autres prédateurs, les oiseaux, a été testé en Argentine par Escapa et al. (2004). Ils ont montré que le nombre d'oiseaux se nourrissant sur les récifs était supérieur au nombre relevé sur les roches non colonisées. Sur substrat meuble, Wolff et Reise (2002) quant à eux attribuent la disparition de l'huître pie (*Haematopus ostralegus*) en Mer de Wadden à l'apparition des récifs de *C. gigas*. La question reste donc ouverte pour le moment et les impacts de *C. gigas* sur les populations d'oiseaux sont probablement spécifiques et modulés par des paramètres biotiques et/ou abiotiques, tels que le substrat, qu'il reste à définir en Bretagne. Nous observons cependant, des nouveaux comportements chez certains oiseaux qui s'adaptent à cette nouvelle source de nourriture. Ainsi, plusieurs goélands argentés (*Larus argentatus*) localisés dans la zone du Tinduff en Rade de Brest ont appris à consommer des huîtres adultes dites 'roulantes'. Ces huîtres se sont détachées de leur substrat et vivent libres sur le sédiment. Pour pouvoir accéder à la chair, les goélands la prennent dans leur bec et s'envolent avec. Arrivés à une certaine altitude, ils la lâchent sur les rochers pour la briser. Ils peuvent recommencer plusieurs fois de suite si le premier essai a été infructueux. Certaines espèces semblent donc pouvoir s'adapter à l'invasion de *C. gigas* mais des études complémentaires sont nécessaires.

L'étude des processus de respiration et de calcification a montré que contrairement à d'autres espèces intertidales, *C. gigas* ne respire pas pendant la période d'émersion. Seul le biofilm vivant sur la coquille contribue à hauteur de 3,5 % à la production totale de CO₂ de l'huître lors de la marée basse. La production maximale de CO₂ est assurée par la respiration de l'huître en immersion mais les flux émis par le processus de calcification représentent 22,5 % de la production totale. Cette contribution très importante de la calcification aux flux totaux de CO₂ est liée au fait que la précipitation de CaCO₃ prédomine sur la dissolution tout au long de l'année, ce qui n'est pas le cas pour *Crepidula fornicata* (Martin et al. 2006) ou *Chthamalus montagui* (Clavier et al. 2009) par exemple. La production annuelle de carbone estimée à 36,23 g C m⁻² an⁻¹ est similaire à celle d'une autre espèce intertidale, *Chthamalus montagui* (Clavier et al. 2009). En adéquation avec ces premiers résultats, la seconde étude de

l'impact de *C. gigas* sur le métabolisme des communautés intertidales n'a montré aucune contribution significative de *C. gigas* à la respiration de la communauté pendant la phase d'émersion. *C. gigas* a cependant un impact en période d'émersion sur la production primaire. La protection du microphytobenthos, induite par les huîtres, vis-à-vis de la dessiccation et des forts éclaircissements limiterait le phénomène de photoinhibition en été. En immersion, les huîtres augmentent nettement les flux de respiration et de calcification de la communauté mais ont peu d'impact sur la photosynthèse. La production totale annuelle de carbone de la communauté intertidale rocheuse est multipliée par plus de vingt lorsque *C. gigas* est présente en forte densité (environ 700 individus. m⁻²), par rapport à un substrat non colonisé, pour atteindre une valeur de 761,77 g C m⁻² an⁻¹. Pour illustrer cette valeur, si les 3 km² colonisés par *C. gigas* en Rade de Brest étaient recouverts de cette densité d'huîtres, la production annuelle de carbone correspondrait à la production moyenne annuelle de plus de 1 100 voitures (pour une production moyenne de 175 gC. km⁻² et une distance moyenne de 12 230 km parcourus par an, données SOFRES 2005). Notre étude démontre ainsi que les espèces invasives doivent être considérées comme une composante du changement global (Dukes and Mooney 1999).

4. Gestion de l'invasion des estrans bretons par *Crassostrea gigas*

La gestion de l'invasion de *C. gigas* est un problème complexe à résoudre pour les scientifiques, et les utilisateurs de l'estran. Dans la majorité des cas d'espèces invasives en effet, la question est simple à régler puisque l'éradication semble la meilleure solution, qu'elle soit envisageable techniquement ou pas reste ensuite à définir. Dans le cas de *C. gigas*, la situation est différente car il s'agit d'une espèce comestible dont l'exploitation génère des revenus très importants. Il est donc inenvisageable d'interdire la culture de cette espèce et tant que des huîtres seront cultivées, l'éradication des populations sauvages est inutile puisque de nouveaux individus se fixeraient chaque année sur les substrats nettoyés.

Par ailleurs, la perception ambiguë qu'en ont les différents acteurs du littoral complique encore plus la gestion de cette prolifération :

Pour le grand public, *C. gigas* est une espèce comestible qui a une valeur affective assez forte. Sa prolifération est considérée par de nombreux pêcheurs à pied comme une véritable manne, mais pour le tourisme et la plaisance, le danger de coupure pour les hommes et de dégâts pour le matériel nautique que représentent ces huîtres tranchantes, pose un véritable problème. De

plus la transformation du paysage qui résulte de l'augmentation de la densité des huîtres sur l'estran est assez mal perçue.

Pour les professionnels de l'ostréiculture, l'invasion de *C. gigas* assurée par sa reproduction effective représente une ressource en naissains qu'ils exploitent en disposant des collecteurs. Par ailleurs ces naissains surnuméraires se fixent également sur les huîtres cultivées, les poches et les tables ostréicoles qui doivent par conséquent être nettoyées, ce qui engendre un surcoût (Le Roux et Boncoeur 2006). Pour éviter ces contraintes, certains ostréiculteurs de la Rade de Brest transfèrent leurs huîtres vers des zones où il y a peu (région de Paimpol) ou pas de recrutement (Aber Benoît). La diminution de la croissance des huîtres cultivées par la compétition trophique des stocks sauvages dans les bassins ostréicoles au sud de la Loire, ne plaide pas non plus en sa faveur. Cependant, depuis l'épisode de mortalité massive de l'été 2008, l'approvisionnement en demi-élevage des concessions ostréicoles par des huîtres sauvages juvéniles, non touchées par ces mortalités, est évoqué, et les huîtres sauvages sont de nouveau considérées comme une ressource valorisable.

L'impact de *C. gigas* sur les communautés intertidales semble pour le moment assez limité en Bretagne. Le processus invasif est cependant en phase de dynamique active, avec la conquête de nouvelles zones et la densification des peuplements dans les zones déjà colonisées, qui pourrait laisser craindre un effet seuil au-delà duquel, l'impact de *C. gigas* sur le milieu serait majeur (banalisation de l'estran, envasement ...). L'invasion des estrans par *C. gigas* se mondialise et peu de facteurs biotiques et/ou abiotiques semblent pouvoir stopper le phénomène. Des études à plus grandes échelles, temporelles et spatiales, s'avèrent donc nécessaires dans l'avenir.

BIBLIOGRAPHIE

- Agreste, cahiers de la conchyliculture (2005) Recensement de la conchyliculture 2001. Numéro 1
- Allen SM, Burnett LE (2008) The effects of intertidal air exposure on the respiratory physiology and the killing activity of hemocytes in the pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 357: 165-171
- Archambault P, Bourget E (1996) Scales of coastal heterogeneity and benthic intertidal species richness, diversity and abundance. *Marine Ecology-Progress Series* 136: 111-121
- Auby I, Maurer D (2004). Etude de la reproduction de l'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon – Rapport final. Rapport Ifremer R.INT.DEL/AR 04-05
- Auby I, Maurer D, Cassam-Chenai Y, Tournaire MP, Neaud-Masson N, Rumèbe M, Cantin C (2005). Reproduction de l'huître creuse dans le bassin d'Arcachon Année 2005. Rapport Ifremer RST.LER/AR//05.006
- Audemard C, Reece KS, Burreson EM (2004) Real-time PCR for detection and quantification of the protistan parasite *Perkinsus marinus* in environmental waters. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 6611-6618
- Barranguet C, Kromkamp J, Peene J (1998) Factors controlling primary production and photosynthetic characteristics of intertidal microphytobenthos. *Marine Ecology Progress Series* 173: 117-126
- Bartol IK, Mann R, Luckenbach M (1999) Growth and mortality of oysters (*Crassostrea virginica*) on constructed intertidal reefs: effects of tidal height and substrate level. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 237: 157-184
- Bayne BL (1983) Physiological ecology of marine molluscan larvae. In: Verdonk, N.H. (Ed.), *The Mollusca*, vol. III. Academic Press, New York: 299-343
- Blanchard M (1997) Spread of the slipper limpet *Crepidula fornicata* (L. 1758) in Europe. Current state and consequences. *Scientia Marina* 61: 109-118
- Blanchard GF, Guarini JM, Dang C, Richard P (2004) Characterizing and quantifying photoinhibition in intertidal microphytobenthos. *Journal of Phycology* 40: 692-696
- Borja A, Franco J, Pérez V (2000) A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin* 40: 1100-1114
- Boucher G, Boucher-Rodoni R (1988) In situ measurement of respiratory metabolism and nitrogen fluxes at the interface of oyster beds. *Marine Ecology Progress Series*. Oldendorf 44: 229-238

- Bouchet VMP, Sauriau PG (2008) Influence of oyster culture practices and environmental conditions on the ecological status of intertidal mudflats in the Pertuis Charentais (SW France): A multi-index approach. *Marine Pollution Bulletin* 56: 1898-1912
- Boudry P, Heurtebise S, Collet B, Cornette F, Gérard A (1998) Differentiation between populations of the Portuguese oyster, *Crassostrea angulata* (Lamarck) 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, Deslouspaoli JM, 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
- Bourget E, Crisp DJ (1975) Factors affecting deposition of the shell in *Balanus balanoides* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 55: 231-249
- Bourget E, Deguise J, Daigle G (1994) Scales of substratum heterogeneity, structural complexity, and the early establishment of a marine epibenthic community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 181: 31-51
- Buroker NE (1985) Evolutionary patterns in the family ostreidae larviparity vs oviparity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 90: 233-247
- Bushek D (1988) Settlement as a major determinant of intertidal oyster and barnacle distributions along a horizontal gradient. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 122: 1-18
- Cardoso J, Langlet D, Loff JF, Martins AR, Witte JIJ, Santos PT, van der Veer HW (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 JT (1996) Pattern, process, and prediction in marine invasion ecology. *Biological Conservation* 78: 97-106
- Castel J, Labourg PJ, Escaravage V, Auby I, Garcia ME (1989) Influence of seagrass beds and oyster parks on the abundance and biomass patterns of meio- and macrobenthos in tidal flats. *Estuarine, coastal and shelf science* 28: 71-85
- Chauvaud L, Jean F, Ragueneau O, Thouzeau G (2000) Long-term variation of the Bay of Brest ecosystem: benthic-pelagic coupling revisited. *Marine Ecology Progress Series* 200: 35-48
- Chauvaud L, Thompson JK, Cloern JE, Thouzeau G (2003) Clams as CO₂ Generators: the *Potamocorbula amurensis* example in San Francisco Bay. *Limnology and Oceanography* 48: 2086-2092

- Chauvaud L, Thouzeau G, Grall J (2003a) La coquille Saint-Jacques et la crépidule, deux modèles biologiques d'étude des réponses de la faune benthique aux fluctuations de l'environnement en rade de Brest. *Oceanis* 27: 215-238
- Chauvaud L, Thouzeau G, Grall J, Paulet YM (2003b) La crépidule en rade de Brest: un paradoxe pour le devenir de la coquille Saint-Jacques. *Exploitation et surexploitation des ressources marines vivantes*, Académie des Sciences, Rapport sur la Science et la Technologie: 307-318
- Chauvaud S, TBM (2000-2002) Cartographie des habitats naturels du site Natura 2000 du Golfe du Morbihan. DIREN Bretagne.
- Chavez-Villalba J, Mingant C, Cochard JC, Le Pennec M (2000) 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
- Chew KC (1990) Global bivalve shellfish introductions. *World Aquaculture* 21: 9-22
- Clavier J, Castets M-D, Bastian T, Hily C, Boucher G, Chauvaud L (2009) An amphibious mode of life in the intertidal zone: aerial and underwater contribution of *Chthamalus montagui* to CO₂ fluxes, *Marine Ecology Progress Series*, pp 185-194
- Coen LD, Luckenbach MW (2000) Developing success criteria and goals for evaluating oyster reef restoration: Ecological function or resource exploitation? *Ecological Engineering* 15: 323-343
- Cognie B, Haure J, Barille 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 AN, Carlton JT (1998) Accelerating invasion rate in a highly invaded estuary. *Science* 279: 555-558
- Colautti RI, Grigorovich IA, MacIsaac HJ (2006) Propagule pressure: A null model for biological invasions. *Biological Invasions* 8: 1023-1037
- Colautti RI, MacIsaac HJ (2004) A neutral terminology to define 'invasive' species. *Diversity & Distributions* 10: 135-141
- Comps M, Duthoit JL (1976) Infection virale associée à la 'maladie des branchies' de l'huître portugaise *Crassostrea angulata* Lmk. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*. 283, 1595-1596
- Comps M, Bonami JR, Vago C, Razet D (1976) La mise en évidence d'une infection virale chez l'huître portugaise à l'occasion de l'épizootie de 1970-1974. *Science et Pêche, Bulletin de l'Institut des Pêches maritimes* 256, 13-15

- Coon SL, Walch M, Fitt WK, Weiner RM, Bonar DB (1990) Ammonia induces settlement behavior in oyster larvae. *Biological Bulletin* 179: 297-303
- Costil K, Royer J, Ropert M, Soletchnik P, Mathieu M (2005) Spatio-temporal variations in biological performances and summer mortality of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Normandy (France). *Helgoland Marine Research* 59: 286-300
- Creed JC (2000) Epibiosis on cerith shells in a seagrass bed: correlation of shell occupant with epizoite distribution and abundance. *Marine Biology* 137: 775-782
- Crooks JA (2002) Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos* 97: 153-166
- Daehler CC (2001) Two ways to be an invader, but one is more suitable for ecology. *Bulletin - Ecological Society of America* 82: 101-102
- Dame RF, Spurrier JD, Zingmark RG (1992) In situ metabolism of an oyster reef. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 164: 147-159
- Davies CE, Moss D, Hill MO (2004) EUNIS habitat classification Revised 2004. European Environment Agency, European topic centre on nature protection and biodiversity.
- Davis M, Thompson K (2001) Invasion Terminology: Should ecologists define their terms differently than others? No, not if we want to be of any help! *Bulletin - Ecological Society of America* 82: 206
- Davis MA, Thompson K (2000) Eight ways to be a colonizer; two ways to be an invader: a proposed nomenclature scheme for invasion ecology. *Bulletin - Ecological Society of America* 81: 226-230
- Davoult D, Migne A, Creach A, Gevaert F, Hubas C, Spilmont N, Boucher G (2009) Spatio-temporal variability of intertidal benthic primary production and respiration in the western part of the Mont Saint-Michel Bay (Western English Channel, France). *Hydrobiologia* 620: 163-172
- De Grave S, Moore SJ, Burnell G (1998) Changes in benthic macrofauna associated with intertidal oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) culture. *Journal of Shellfish Research* 17: 1137-1142
- Dias PJ, Sollelis L, Cook EJ, Piertney SB, Davies IM, Snow M (2008) Development of a real-time PCR assay for detection of *Mytilus* species specific alleles: Application to a sampling survey in Scotland. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 367: 253-258
- 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 JEE, 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 (1991) Introduced Pacific oysters in New Zealand. In: The ecology of *C. gigas* in Australia, New Zealand, France and Washington State (Eds.), Maryland Sea Grant College, MD, 9-12
- DOE (1994) Handbook of methods for the analysis of the various parameters of the carbon dioxide system in sea water; version 2, A. G. Dickson & C. Goyet, eds., ORNL/CDIAC-74.
- Dubois S, Commito JA, Olivier F, Retiere C (2006) Effects of epibionts on *Sabellaria alveolata* (L.) biogenic reefs and their associated fauna in the Bay of Mont Saint-Michel. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 68: 635-646
- Dubois S, Orvain F, Marin-Leal JC, Ropert M, Lefebvre S (2007) Small-scale spatial variability of food partitioning between cultivated oysters and associated suspension-feeding species, as revealed by stable isotopes. *Marine Ecology-Progress Series* 336: 151-160
- Dukes JS, Mooney HA (1999) Does global change increase the success of biological invaders? *Trends in Ecology & Evolution* 14: 135-139
- Dumbauld BR, Brooks KM, Posey MH (2001) Response of an estuarine benthic community to application of the pesticide carbaryl and cultivation of pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in Willapa Bay, Washington. *Marine Pollution Bulletin* 42: 826-844
- Ellien C, Thiebaut E, Barnay AS, Dauvin JC, Gentil F, Salomon JC (2000) The influence of variability in larval dispersal on the dynamics of a marine metapopulation in the eastern Channel. *Oceanologica Acta* 23: 423-442
- Erhold A, Blanchard M, Auffret J, Garlan T (1998) Conséquences de la prolifération de la crépidule, *Crepidula fornicata* sur l'évolution sédimentaire de la baie du Mont Saint-Michel, Manche, France, *Compte rendu de l'Académie des Sciences Série II Fascicule A - Sciences de la Terre et des Planètes*, pp 583-588
- Escapa M, Isacch JP, Daleo P, Alberti J, Iribarne O, Borges M, Dos Santos EP, Gagliardini DA, Lasta M (2004) The distribution and ecological effects of the introduced Pacific

- oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) in northern Patagonia. *Journal of Shellfish Research* 23: 765-772
- Esnault S (2005) Etude chronologique des températures de la mer sur l'ouest de la France. Institut Universitaire de Technologie, Université de Bretagne Sud
- Everett RA, Ruiz GM, Carlton JT (1995) Effect of oyster mariculture on submerged aquatic vegetation - an experimental test in a Pacific-northwest estuary. *Marine Ecology-Progress Series* 125: 205-217
- Fabioux C (2004) Origine et développement des cellules germinales chez l'huître *Crassostrea gigas* : Intérêt pour le contrôle de la reproduction en éclosion. Thèse de 3^{ème} cycle, Ph.D. Thesis, Université de Bretagne Occidentale.
- 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
- Facon B, Genton BJ, Shykoff J, Jarne P, Estoup A, David P (2006) A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution* 21: 130-135
- Fanslow DL, Nalepa TF, Johengen TH (2001) Seasonal changes in the respiratory electron transport system (ETS) and respiration of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* in Saginaw Bay, Lake Huron. *Hydrobiologia* 448: 61-70
- FAO (2008) Aquaculture production : Quantities 1950-2006 <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat#2>
- Fitt WK, Coon SL (1992) Evidence for ammonia as a natural cue for recruitment of oyster larvae to oyster beds in a Georgia salt marsh. *Biological Bulletin* 182: 401-408
- Forrest BM, Creese RG (2006) Benthic impacts of intertidal oyster culture, with consideration of taxonomic sufficiency. *Environmental Monitoring and Assessment* 112: 159-176
- Frankignoulle M, Canon C, Gattuso JP (1994) Marine calcification as a source of carbon dioxide: positive feedback of increasing atmospheric CO₂. *Limnology and Oceanography* 39: 458-462
- Gattuso JP, Frankignoulle M, Smith SV (1999) Measurement of community metabolism and significance in the coral reef CO₂ source-sink debate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96: 13017-13022
- Gattuso JP, Frankignoulle M, Wollast R (1998) Carbon and carbonate metabolism in coastal aquatic ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 405-434

- Gérard A (1998) Avancées récentes sur la reproduction des huîtres. European Aquaculture Society Special Publication 26: 115-119
- Gerdes D (1983) The Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Part II. Oxygen consumption of larvae and adults. Aquaculture 31: 221-231
- Gillmor RB (1982) Assessment of intertidal growth and capacity adaptations in suspension-feeding bivalves. Marine Biology 68: 277-286
- Gollety C, Gentil F, Davoult D (2008) Secondary production, calcification and CO₂ fluxes in the cirripedes *Chthamalus montagui* and *Elminius modestus*. Oecologia 155: 133-142
- Gollety C, Migne A, Davoult D (2008) Benthic metabolism on a sheltered rocky shore: Role of the canopy in the carbon budget. Journal of Phycology 44: 1146-1153
- Grabowski JH, Hughes AR, Kimbro DL, Dolan MA (2005) How habitat setting influences restored oyster reef communities. Ecology 86: 1926-1935
- Grizel H, Heral M (1991) Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). ICES Journal of Marine Science 47: 399-403
- Grosholz E (2002) Ecological and evolutionary consequences of coastal invasions. Trends in Ecology & Evolution 17: 22-27
- Guillam Y, Le Nestour R (1990) Réalisation de l'atlas de courants de marée des côtes sud de Bretagne. Rapport d'étude/ Service hydrographique et océanographique de la marine n° 002/1990
- Gutierrez JL, Jones CG, Strayer DL, Iribarne OO (2003) Mollusks as ecosystem engineers: the role of shell production in aquatic habitats. Oikos 101: 79
- Haltuch MA, Berkman PA, Garton DW (2000) Geographic information system(GIS) analysis of ecosystem invasion: Exotic mussels in Lake Erie. Limnology and Oceanography 45: 1778-1787
- Hamburger K, Mohlenberg F, Randlov A, Riisgard HU (1983) Size, oxygen-consumption and growth in the mussel *Mytilus edulis*. Marine Biology 75: 303-306
- Haven DS, Morales-Alamo R (1966) Aspects of biodeposition by oysters and other invertebrate filter feeders. Limnology and Oceanography 11: 487-498
- Hayakawa Y, Kobayashi M, Izawa M (2001) Sedimentation flux from mariculture of oyster (*Crassostrea gigas*) in Ofunato estuary, Japan. ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil 58: 435
- Héral M, Prou J, Deslous-Paoli JM (1986) Influence des facteurs climatiques sur la production conchylicole du bassin de Marennes-Oleron. Haliotis 15: 193-207

- Hily C (1984) Variabilité de la macrofaune benthique dans les milieux hypertrophiques de la Rade de Brest. Thèse de Doctorat d'Etat
- Hinard G, Lambert L (1928) Tableau de l'ostréiculture française - Troisième partie. Revue des travaux de l'office des pêches maritimes
- His E, Robert R, Dinét A (1989) Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. Marine Biology 100: 455-463
- His E, Budzinski H, Geffard O, Beiras R (1997) Effects of a hydrocarbon-polluted sediment on *Crassostrea gigas* (Thunberg) metamorphosis. Comptes rendus de l'Académie des Sciences Série III – Sciences de la vie – Life sciences 320: 797-803
- His E, Heyvang I, Geffard O, De Montaudouin X (1999) A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies. Water research 33: 1706-1718
- Hosack GR, Dumbauld BR, Ruesink JL, Armstrong DA (2006) Habitat associations of estuarine species: Comparisons of intertidal mudflat, seagrass (*Zostera marina*), and oyster (*Crassostrea gigas*) habitats. Estuaries and Coasts 29: 1150-1160
- Hu YP, Fuller SC, Castagna M, Vrijenhoek RC, Lutz RA (1993) Shell morphology and identification of early-life history stages of congeneric species of *Crassostrea* and *Ostrea*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 73: 471-496
- Huang SC, Newell RIE (2002) Seasonal variations in the rates of aquatic and aerial respiration and ammonium excretion of the ribbed mussel, *Geukensia demissa* (Dillwyn). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 270: 241-255
- Hubas C, Davoult D, Cariou T, Artigas LF (2006) Factors controlling benthic metabolism during low tide along a granulometric gradient in an intertidal bay (Roscoff Aber Bay, France). Marine Ecology Progress Series 316: 53-68
- Ifremer : wwz.ifremer.fr/institut/institut/actualites/mortalites_d_huitres
- Ifremer-Nausicaa : www.ifremer.fr/nausicaa/marcoast/index.htm
- Jones CG, Lawton JH, Shachak M (1994) Organisms as ecosystem engineers. Oikos 69: 373-386
- Jones CG, Lawton JH, Shachak M (1997) Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. Ecology 78: 1946-1957
- Kang SG, Choi KS, Bulgakov AA, Kim Y, Kim SY (2003) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) used in quantification of reproductive output in the Pacific oyster,

- Crassostrea gigas*, in Korea. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 282: 1-21
- Karleskind P (2004) Modélisation de l'écosystème de la Rade de Brest. Mémoire de DEA Océanologie Biologique et Environnement Marin, Paramétrisation et Modélisation
- Kelly JR, Proctor H, Volpe JP (2008) Intertidal community structure differs significantly between substrates dominated by native eelgrass (*Zostera marina* L.) and adjacent to the introduced oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in British Columbia, Canada. Hydrobiologia 596: 57-66
- Kochmann J, Buschbaum 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
- Lango-Reynoso F, Devauchelle N, Le Pennec M, Hatt PJ (1999) Elements of reproductive strategy in oysters, *Crassostrea gigas*, from the "Rade de Brest", France. Invertebrate reproduction & development 36: 141-144
- Lango-Reynoso F, Chávez-Villalba J, Cochard JC, Le Pennec M (2000) Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture 190: 183-199
- Lartaud F (2007) Les fluctuations haute fréquence de l'environnement au cours des temps géologiques. Mise au point d'un modèle de référence actuel sur l'enregistrement des contrastes saisonniers dans l'Atlantique nord. Ph.D. Thesis, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6)
- Le Berre I (1999) Mise au point de méthodes d'analyse et de représentation des interactions complexes en milieu littoral. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest
- Lee CE (2002) Evolutionary genetics of invasive species. Trends in Ecology & Evolution 17: 386-391
- Lejart M, Hily C (2005) Prolifération of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in the Bay of Brest: First estimations of the stock and its impact on the global functioning of the ecosystem 8th International Conference on Shellfish Restoration, Brest. p 90
- Lejart M, Hily C (2007) Ecological impacts of a new substratum, invasive-oyster-reefs (*Crassostrea gigas*, Thunberg), on intertidal communities, Brittany (France) Fifth International Conference on Marine Bioinvasions, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts. p 91

- Le Roux J, Boncoeur J (2006) Impact de la prolifération de l'huître creuse sauvage sur les activités conchylicoles et la pêche à pied professionnelle en Bretagne : Etude économique. Rapport PROGIG
- Levine JM (2000) Species diversity and biological invasions: Relating local process to community pattern. *Science* 288: 852-854
- Lewis E, Wallace DWR (1998) Program developed for CO₂ system calculations. National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, Tennessee
- Livi, S., Cordisco, C., Damiani, C., Romanelli, M., Crosetti, D., 2006. Identification of bivalve species at an early developmental stage through PCR-SSCP and sequence analysis of partial 18S rDNA. *Marine Biology* 149: 1149-1161
- Lockwood JL, Cassey P, Blackburn T (2005) The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 20: 223-228
- Lohse DP (1993) The importance of secondary substratum in a rocky intertidal community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 166: 1-17
- Longphuiert SN, Clavier J, Grall J, Chauvaud L, Le Loc'h F, Le Berre I, Flye-Sainte-Marie J, Richard J, Leynaert A (2007) Primary production and spatial distribution of subtidal microphytobenthos in a temperate coastal system, the Bay of Brest, France. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 74: 367-380
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275
- Lubet P (1991) Bases biologiques de la culture des mollusques. Bases biologiques et Ecologiques de l'Aquaculture, Lavoisier (Ed.), Tech. & Doc, 500p
- Lucas A, Beninger PG (1985) The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture* 44: 187-200
- Lutz RA, Rhoads DC (1977) Anaerobiosis and a theory of growth line formation. *Science* 198: 1222-1227
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz FA (2000) Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 10: 689-710
- Magalhaes CM, Bordalo AA, Wiebe WJ (2003) Intertidal biofilms on rocky substratum can play a major role in estuarine carbon and nutrient dynamics. *Marine Ecology Progress Series* 258: 275-281
- Malham SK, Cotter E, O'Keeffe S, Lynch S, Culloty SC, King JW, Latchford JW, Beaumont AR (2009) Summer mortality of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in the Irish Sea:

- The influence of temperature and nutrients on health and survival. *Aquaculture* 287: 128-138
- Mann R (1979) Some biogeochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperature. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 59: 95-110
- Mantoura RFC, Martin JM, Wollast R (1991) Ocean margin processes in global change. Wiley
- Mao Y, Zhou Y, Yang H, Wang R (2006) Seasonal variation in metabolism of cultured Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Sanggou Bay, China. *Aquaculture* 253: 322-333
- Markert A, Wehrmann A, Kroncke I (2009) Recently established *Crassostrea*-reefs versus native *Mytilus*-beds: differences in ecosystem engineering affects the macrofaunal communities (Wadden Sea of Lower Saxony, southern German Bight), *Biological Invasions* DOI 10.1007/s10530-009-9425-4
- MarLIN: www.marlin.ac.uk/biotic/
- Marsden ID, Weatherhead MA (1998) Effects of aerial exposure on oxygen consumption by the New Zealand mussel *Perna canaliculus* (Gmelin, 1791) from an intertidal habitat. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 230: 15-29
- Martin S, Castets MD, Clavier J (2006a) Primary production, respiration and calcification of the temperate free-living coralline alga *Lithothamnion corallioides*. *Aquatic Botany* 85: 121-128
- Martin S, Thouzeau G, Chauvaud L, Jean F, Guerin L, Clavier J (2006b) Respiration, calcification, and excretion of the invasive slipper limpet, *Crepidula fornicata* L.: Implications for carbon, carbonate, and nitrogen fluxes in affected areas. *Limnology and Oceanography* 51: 1996-2007
- Martin S, Clavier J, Chauvaud L, Thouzeau G (2007a) Community metabolism in temperate maerl beds. I. Carbon and carbonate fluxes. *Marine Ecology Progress Series* 335: 19-29
- Martin S, Thouzeau G, Richard M, Chauvaud L, Jean F, Clavier J (2007b) Benthic community respiration in areas impacted by the invasive mollusk *Crepidula fornicata*. *Marine Ecology Progress Series* 347: 51-60
- McKinney ML, Lockwood JL (1999) Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends in Ecology & Evolution* 14: 450-453

- Meistertzheim L (2008) Capacité d'adaptation d'une espèce invasive, l'huître creuse du Pacifique *Crassostrea gigas*, en région Bretagne. Thèse de 3^{ème} cycle, Ph.D. Thesis, Université de Bretagne Occidentale.
- Meyer DL, Townsend EC (2000) Faunal utilization of created intertidal eastern oyster (*Crassostrea virginica*) reefs in the southeastern United States. *Estuaries* 23: 34-45
- Migné A, Davoult D, Gattuso JP (1998) Calcium carbonate production of a dense population of the brittle star *Ophiothrix fragilis* (Echinodermata: Ophiuroidea): role in the carbon cycle of a temperate coastal ecosystem. *Marine Ecology Progress Series* 173: 305-308
- Migne A, Spilmont N, Davoult D (2004) In situ measurements of benthic primary production during emersion: seasonal variations and annual production in the Bay of Somme (eastern English Channel, France). *Continental Shelf Research* 24: 1437-1449
- Muranaka MS, Lannan JE (1984) Broodstock management of *Crassostrea gigas* - environmental-influences on broodstock conditioning. *Aquaculture* 39: 217-228
- O'Beirn FX, Luckenbach MW, Nestlerode JA, Coates GM (1998) Toward design criteria in constructed oyster reefs: Oyster recruitment as a function of substrate type and tidal height International Conference on Shellfish Restoration. National Shellfisheries Association, Hilton Head Isl, South Carolina, pp 387-395
- 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
- Parker IM, Simberloff D, Lonsdale WM, Goodell K, Wonham M, Kareiva PM, Williamson MH, Von Holle B, Moyle PB, Byers JE (1999) Impact: Toward a Framework for Understanding the Ecological Effects of Invaders. *Biological Invasions* 1: 3-19
- Pascual MS, Zampatti EA (1995) Chemically mediated adult-larval interaction triggers settlement in *Ostrea puelchana*: applications in hatchery production. *Aquaculture* 42
- Pech D, Ardisson PL, Bourget E (2002) Settlement of a tropical marine epibenthic assemblage on artificial panels: Influence of substratum heterogeneity and complexity scales. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 55: 743-750
- Perrot T, Mouquet P, Dion P, Guillaumont B, Populus J (2006) Suivi de l'évolution de la couverture en fucales au moyen d'images SPOT. Atelier de restitution du REBENT Bretagne - Rennes

- Peterson CH, Grabowski JH, Powers SP (2003) Estimated enhancement of fish production resulting from restoring oyster reef habitat: quantitative valuation. *Marine Ecology-Progress Series* 264: 249-264
- Pineau L (1998) Courants de marée sur la côte nord de Bretagne. Rapport d'étude/ Service hydrographique et océanographique de la marine n° 004/1998
- PROGIG, Hily C, Aradan A, Berthéléme J, Duchène J, Habasque J, Harly E, Le Goué G (2009) Etude des populations sauvages d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) en Bretagne. www.progig.fr
- Prou J, Pouvreau S, Héral M, Renaud V (1994) Estimation de la biomasse d'huîtres non cultivées dans le Bassin de Marennes Oléron. Rapport Ifremer. La Tremblade
- Ragueneau O, Chauvaud L, Leynaert A, Thouzeau G, Paulet YM, Bonnet S, Lorrain A, Grall J, Corvaisier R, Le Hir M (2002) Direct evidence of a biologically active coastal silicate pump: Ecological implications. *Limnology and Oceanography* 47: 1849-1854
- Ragueneau O, Chauvaud L, Moriceau B, Leynaert A, Thouzeau G, Donval A, Le Loc'h F, Jean F (2005) Biodeposition by an Invasive Suspension Feeder Impacts the Biogeochemical Cycle of Si in a Coastal Ecosystem (Bay of Brest, France). *Biogeochemistry* 75: 19-41
- Rasmussen MB, Henriksen K, Jensen A (1983) Possible causes of temporal fluctuations in primary production of the microphytobenthos in the danish wadden sea. *Marine Biology* 73: 109-114
- Razet D, Héral M, Prou J, Legrand J, Sornin JM (1990) Variations des productions de biodépôts (feces et pseudofeces) de l'huître *Crassostrea gigas* dans un estuaire macrotidal: baie de Marennes-Oléron. *Haliotis* 10: 143-161
- Reise K (1998) Pacific oysters invade mussel beds in the European Wadden Sea. *Senckenbergiana marit* 28: 167-175
- Rejmánek M, Richardson DM, Barbour MG, Crawley MJ, Hrusa GF, Moyle PB, Randall JM, Simberloff D, Williamson M (2002) Biological Invasions-Politics and the Discontinuity of Ecological Terminology. *Bulletin-Ecological society of America* 83: 131-132
- REMORA Réseau Mollusques des Rendements Aquacoles. www.ifremer.fr/remora/
- Ren JS, Ross AH, Schiel DR (2000) Functional descriptions of feeding and energetics of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in New Zealand. *Marine Ecology Progress Series* 208: 119-130

- Richardson DM, Pysek P, Rejmanek M, Barbour MG, Panetta FD, West CJ (2000) Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and distributions*: 93-107
- 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
- Riebesell U, Schulz KG, Bellerby RGJ, Botros M, Fritsche P, Meyerhofer M, Neill C, Nondal G, Oschlies A, Wohlers J, Zollner E (2007) Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean. *Nature* 450: 545-U510
- Riera P, Stal LJ, Nieuwenhuize J (2002) $\delta^{13}\text{C}$ versus $\delta^{15}\text{N}$ of co-occurring molluscs within a community dominated by *Crassostrea gigas* and *Crepidula fornicata* (Oosterschelde, The Netherlands). *Marine Ecological Progress Series* 240: 291-295
- Rodney WS, Paynter KT (2006) Comparisons of macrofaunal assemblages on restored and non-restored oyster reefs in mesohaline regions of Chesapeake Bay in Maryland. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 335: 39-51
- Royer J, Segueineau C, Park KI, Pouvreau S, Choi KS, 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 JL, Lenihan HS, Trimble AC, Heiman KW, Micheli F, Byers JE, Kay MC (2005) Introduction of non-native oysters: Ecosystem effects and restoration implications. *Annual review of ecology, evolution, and systematics* 36: 643-689
- Ruesink JL (2007) Biotic resistance and facilitation of a non-native oyster on rocky shores. *Marine Ecology Progress Series* 331: 1-9
- Ruiz C, Abad M, Sedano F, Garcia-Martin LO, Sanchez Lopez JL (1992) Influence of seasonal environmental changes on the gamete production and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in El Grove, Galicia, Spain. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 155: 249-262
- Ruiz GM, Carlton JT, Grosholz ED, Hines AH (1997) Global Invasions of Marine and Estuarine Habitats by Non-Indigenous Species: Mechanisms, Extent, and Consequences 1. *Integrative and Comparative Biology* 37: 621-632
- Ruiz GM, Fofonoff P, Hines AH, Grosholz ED (1999) Non-indigenous species as stressors in estuarine and marine communities: Assessing invasion impacts and interactions. *Limnology and Oceanography* 44: 950-972

- Samain JF, McCombie H (2007). Mortalités estivales de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Défi MOREST
- Saucedo PE, Ocampo L, Monteforte M, Bervera H (2004) Effect of temperature on oxygen consumption and ammonia excretion in the Calafia mother-of-pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856). *Aquaculture* 229: 377-387
- Scherrer B (1984) Biostatistique. Gaetan Morin, Montreal, Paris.
- Schmidt A, Wehrmann A, Dittmann S (2008) 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: 367-376
- Serodio J, Catarino F (2000) Modelling the primary productivity of intertidal microphytobenthos: time scales of variability and effects of migratory rhythms. *Marine Ecology Progress Series* 192: 13-30
- Serodio J, Vieira S, Cruz S (2008) Photosynthetic activity, photoprotection and photoinhibition in intertidal microphytobenthos as studied in situ using variable chlorophyll fluorescence. *Continental Shelf Research* 28: 1363-1375
- Shervette VR, Gelwick F (2008) Seasonal and spatial variations in fish and macroinvertebrate communities of oyster and adjacent habitats in a Mississippi estuary. *Estuaries and Coasts* 31: 584-596
- Silina AV (2002) The effect of muddy bottom sediment on the abundance and life span of the barnacle, *Hesperibalanus hesperius*, epizoic on scallop shells. *Biofouling* 18: 263-268
- Simenstad CA, Fresh KL (1995) Influence of intertidal aquaculture on benthic communities in Pacific-northwest estuaries - scales of disturbance. *Estuaries* 18: 43-70
- Simpfendorfer RW, Vial MV, Lopez DA, Verdala M, Gonzalez ML (1995) Relationship between the aerobic and anaerobic metabolic capacities and the vertical-distribution of 3 intertidal sessile invertebrates - *Jehlius cirratus* (Darwin) (Cirripedia), *Perumytilus purpuratus* (Lamarck) (Bivalvia) and *Mytilus chilensis* (Hupe) (Bivalvia). *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 111: 615-623
- Smaal AC, Kater BJ, Wijsman J (2009) Introduction, establishment and expansion of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the Oosterschelde (SW Netherlands). *Helgoland Marine Research* 63: 75-83
- Smith SV, Key GS (1975) Carbon dioxide and metabolism in marine environments. *Limnology and Oceanography* 20: 493-495
- Sokal RR, Rohlf FJ (1981) Biometry. Freeman and Company, New York

- Sousa-Dias A, Melo RA (2008) Long-term abundance patterns of macroalgae in relation to environmental variables in the Tagus Estuary (Portugal). *Estuarine Coastal and Shelf Science* 76: 21-28
- Spilmont N, Davoult D, Migne A (2002) Estimations de la production primaire et de la respiration au cours de l'émersion par la mesure des flux de CO₂ en chambre benthique: suivi saisonnier en Baie de Somme (Manche orientale, France). *Journal de Recherche Océanographique* 27: 87-96
- Spilmont N, Davoult D, Migne A (2006) Benthic primary production during emersion: In situ measurements and potential primary production in the Seine Estuary (English Channel, France). *Marine Pollution Bulletin* 53: 49-55
- Spilmont N, Migne A, Lefebvre A, Artigas LF, Rauch M, Davoult D (2005) Temporal variability of intertidal benthic metabolism under emersed conditions in an exposed sandy beach (Wimereux, eastern English Channel, France). *Journal of Sea Research* 53: 161-167
- Spilmont N, Migne A, Seuront L, Davoult D (2007) Short-term variability of intertidal benthic community production during emersion and the implication in annual budget calculation. *Marine Ecology Progress Series* 333: 95-101
- Stachowicz JJ, Terwin JR, Whitlatch RB, Osman RW (2002) Linking climate change and biological invasions: Ocean warming facilitates nonindigenous species invasions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 15497-15500
- Stachowski-Haberkorn S, Quiniou F, Nedelec M, Robert R, Limon G, de la Broise D (2008) In-situ microcosms, a tool for assessment of pesticide impacts on oyster spat (*Crassostrea gigas*). *Ecotoxicology* 17: 235-245
- Steele S, Mulcahy MF (1999) Gametogenesis of the oyster *Crassostrea gigas* in southern Ireland. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 79: 673-686
- Stephens EG, Bertness MD (1991) Mussel facilitation of barnacle survival in a sheltered bay habitat. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 145: 33-48
- Sukhotin AA, Lajus DL, Lesin PA (2003) Influence of age and size on pumping activity and stress resistance in the marine bivalve *Mytilus edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 284: 129-144
- Sukhotin AA, Portner HO (2001) Age-dependence of metabolism in mussels *Mytilus edulis* (L.) from the White Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 257: 53-72

- Tamburri MN, Finelli CM, Wethey DS, ZimmerFaust RK (1996) Chemical induction of larval settlement behavior in flow. *Biological Bulletin* 191: 367-373
- Tamburri MN, Zimmerfaust RK, Tamplin ML (1992) Natural sources and properties of chemical inducers mediating settlement of oyster larvae - a reexamination. *Biological Bulletin* 183: 327-338
- Thieltges DW, Strasser M, Reise K (2006) How bad are invaders in coastal waters? The case of the American slipper limpet *Crepidula fornicata* in western Europe. *Biological Invasions* 8: 1673-1680
- Thouzeau G, Chauvaud L, Grall J, Guérin L (2000) Do biotic interactions control pre-recruitment and growth of *Pecten maximus* (L.) in the Bay of Brest? *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie* 323: 815-825
- Troost K, Stamhuis EJ, van Duren LA, Wolff WJ (2009) Feeding current characteristics of three morphologically different bivalve suspension feeders, *Crassostrea gigas*, *Mytilus edulis* and *Cerastoderma edule*, in relation to food competition. *Marine Biology* 156: 355-372
- Vadopalas B, Bouma JV, Jackels CR, Friedman CS (2006) Application of real-time PCR for simultaneous identification and quantification of larval abalone. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 334: 219-228
- Valasek MA, Repa JJ (2005) The power of real-time PCR. *Advances in Physiology Education* 29: 151-159
- Vermeij GJ (1996) An agenda for invasion biology. *Biological Conservation* 78: 3-9
- Vitousek PM, Dantonio CM, Loope LL, Westbrooks R (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* 84: 468-478
- Wasson K, Fenn K, Pearse JS (2005) Habitat differences in marine invasions of central California. *Biological Invasions* 7: 935-948
- Webb WL, Newton M, Starr D (1974) Carbon-dioxide exchange of *Alnus rubra* a mathematical model. *Oecologia* 17: 281-291
- Wight, N.A., Suzuki, J., Vadopalas, B., Friedman, C.S., 2009. Development and optimization of quantitative PCR assays to aid *Ostrea lurida* (Carpenter, 1864) restoration efforts. *Journal of Shellfish Research* 28, 33-41.
- Williamson M (1996) *Biological invasions*. Chapman & Hall
- Williamson M, Fitter A (1996) The Varying Success of Invaders. *Ecology* 77: 1661-1666
- Willson LL, Burnett LE (2000) Whole animal and gill tissue oxygen uptake in the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*: Effects of hypoxia, hypercapnia, air exposure, and

infection with the protozoan parasite *Perkinsus marinus*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 246: 223-240

Wolf-Gladrow DA, Riebesell U, Burkhardt S, Bijma J (1997) Direct effects of CO₂ concentration on growth and isotopic composition of marine plankton 5th International CO₂ Conference, Cairns, Australia, pp 461-476

ANNEXE 1

Analyse spatiale de la prolifération de *C. gigas* à l'échelle de la Bretagne

Iwan Le Berre, Christian Hily, Morgane Lejart, Raphaël Gouill

Accepté dans Cybergeog

Analyse spatiale de la prolifération de *C. gigas* en Bretagne

Le Berre I. *, Hily C. **, Lejart M. **, Gouill R. *

* Laboratoire GEOMER, UMR6554 LETG CNRS, IUEM, Université de Bretagne Occidentale, Technopole Brest-Iroise, 29180 Plouzané

** LEMAR, UMR6539 CNRS, IUEM, Université de Bretagne Occidentale

Mots-clefs : biogéographie, espèce invasive, huître, *Crassostrea gigas*, changement climatique, SIG, littoral, Bretagne

Résumé

L'huître creuse du Pacifique *Crassostrea gigas* est une espèce introduite massivement dans les années 70 en France pour les besoins de l'ostréiculture. Elle représente aujourd'hui l'essentiel de la production conchylicole française. Depuis le début des années 90, l'espèce a commencé à s'installer durablement sur de nombreux sites de Bretagne et de Normandie. Le processus de colonisation s'est accéléré depuis 2000, induisant des modifications profondes dans les écosystèmes et des changements dans la biodiversité. Ce phénomène d'invasion biologique a pour origine probable le réchauffement climatique qui favorise l'extension spatiale des zones dans lesquelles les huîtres peuvent pondre. Un programme de recherche a été mis en œuvre pour évaluer et quantifier la dynamique de cette prolifération au niveau des façades Manche et Atlantique et pour identifier les interactions réalisées avec les écosystèmes marins et les activités humaines. L'objet de cet article est de présenter le système d'information géographique (SIG) mis en œuvre pour intégrer les données de suivi de cette prolifération sur les côtes Manche-Atlantique de la Bretagne et pour l'analyse spatiale de ses interactions potentielles avec les activités humaines du littoral.

Spatial analysis of C. Gigas proliferation in Brittany (France)

keywords : Biogeography, Invasive specy, Oyster, *Crassostrea gigas*, Global change, GIS, Coastal zone, Brittany

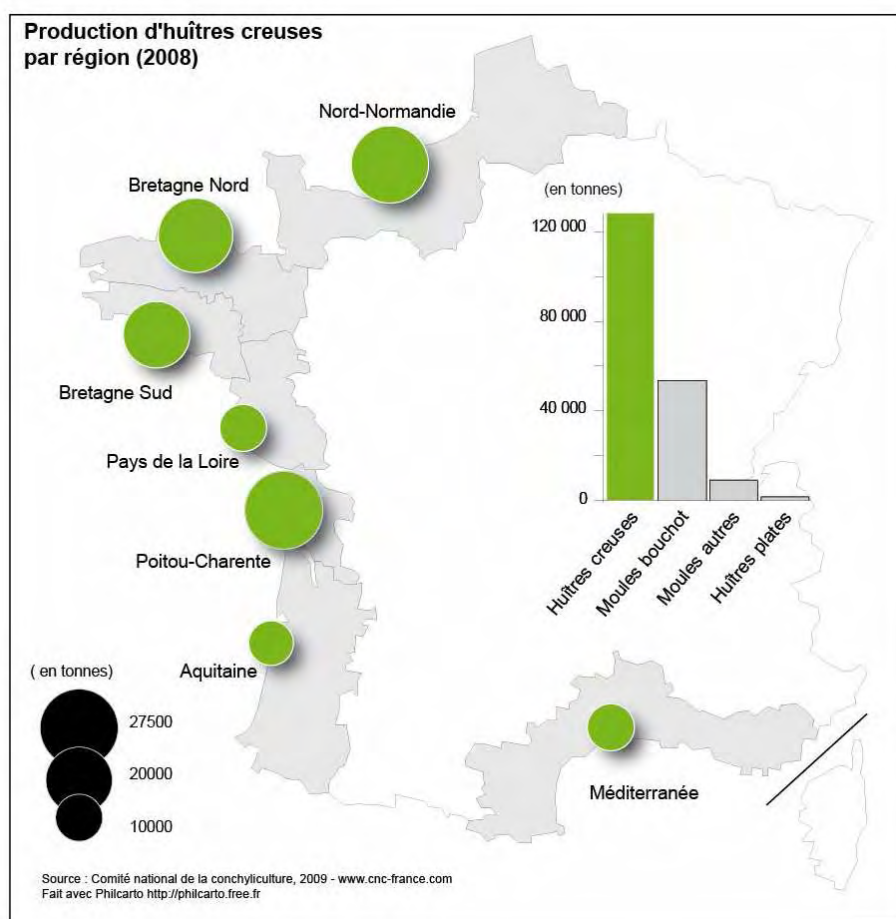
Abstract

After its massive introduction in the seventies in France *Crassostrea gigas* has become the main production of French oyster farming. From the early 1990's, *C. gigas* has started to spread many sites of Brittany and Normandy and, thanks to climate warming, its population has dramatically increased leading to a general invasion and to deep changes in ecosystems and biodiversity. A research program called PROGIG has been set up to evaluate the dynamic of this proliferation on French Channel and Atlantic coasts, and to identify its interactions with marine ecosystems and human activities. This paper presents the GIS implemented to integrate the data collected during field surveys of oyster populations, and the results of a spatial analysis of its potential interactions with human activities on coastal zone.

1. Introduction

Après les algues brunes, les huîtres constituent le deuxième groupe d'espèces marines le plus cultivé dans le monde avec une production de 4,6 millions de tonnes en 2006, pour une valeur de 3,07 milliards de dollars (FAO, 2008). Cultivée dans 28 pays, l'huître japonaise *Crassostrea gigas* représente environ 97 % de la production parmi la quinzaine d'espèces d'huîtres actuellement cultivées dans le monde. Les principaux pays producteurs sont asiatiques – Chine (3,9 millions de tonnes), Corée (283 000 t) et Japon (208 000 t) – et la France vient en quatrième position avec une production annuelle de 130 000 tonnes correspondant à une valeur de plus de 325 000 dollars. Cette activité exploite une superficie de 14 180 hectares du littoral français et concerne 3329 entreprises en 2001 (Agreste, 2005).

La consommation de l'espèce autochtone des côtes françaises, l'huître plate *Ostrea edulis*, est avérée depuis l'antiquité. Son exploitation ostréicole débute dès le XIX^e siècle. Elle va rapidement cohabiter avec l'huître creuse du Portugal, *Crassostrea angulata*, provenant de l'embouchure du Tage et introduite volontairement dans le bassin d'Arcachon à partir de 1866, puis accidentellement en 1868 lors d'un déchargement en mer d'huîtres avariées à Marennes Oléron¹. Mais, l'élevage intensif favorise le développement de nombreuses épizooties qui vont affecter l'ostréiculture française : la production d'*O. edulis* chute de plus de 15 000 tonnes à moins de 2000 dès les années 1920 ; à son tour *C. angulata* subit deux événements de mortalité massive dont le dernier en Août 1970 éradique quasiment l'espèce des côtes françaises (Gay, 2004). Pour pallier l'effondrement de ces stocks traditionnels, l'huître creuse du Pacifique, *Crassostrea gigas*, est introduite massivement dans les années 70 en France à partir d'huîtres mères importées du Canada (562 tonnes) et de plus de 5 millions de juvéniles captés sur des coquilles du Japon (Miossec et Goulletquer, 2007). Elle représente aujourd'hui l'essentiel de la production conchylicole française.



Carte 1 : Production d'huîtres par régions en France (d'après le Comité national de la conchyliculture).

Introduite volontairement pour des raisons économiques dans les bassins du sud de la Loire (Marennes-Oléron et Arcachon), *C. gigas* fait l'objet de déplacements massifs d'individus chaque année à partir des deux stocks (Meistertzheim, 2008). Elle représente donc un cas particuliers parmi les espèces invasives marines aujourd'hui reconnues (Goulletquer *et al.*, 2002).

Les premières implantations en milieu naturel ont été constatées en 1976, à la faveur d'un été particulièrement chaud et sec qui a recréé les conditions indispensables à sa reproduction (Grizel et

¹ Pour plus de détail cf. <http://www.ostrea.org/histoire.html>

Héral, 1991). De manière encore assez sporadique, la colonisation des substrats rocheux a été observée en 1980 aux alentours des parcs ostréicoles. A partir de 1990, l'huître s'est mise à proliférer et à migrer vers le nord de la côte Atlantique, où le risque de sa diffusion n'avait pas été envisagé *a priori* (Héral, 1986) au vu des caractéristiques biologiques et de l'aire de répartition des populations sources japonaises. Le processus de colonisation s'est accéléré depuis 2000, les densités démographiques de cette espèce devenant extrêmement importantes dans de nombreuses régions françaises, mais également dans d'autres régions européennes (en particulier en mer de Wadden, Drinkwaard, 1998), certains secteurs pouvant être littéralement envahi par des peuplements de *C. gigas* recouvrant entièrement les substrats sous-jacents. Dans ces secteurs, il s'agit donc bien d'une invasion biologique qui induit des modifications profondes dans les écosystèmes et des changements dans la biodiversité (Hily, 2005).

L'origine de ce changement de distribution résulte principalement du réchauffement climatique global, qui a élevé la température moyenne de l'eau de 1 degré, favorisant ainsi l'extension des zones où la température de l'eau de mer atteint les 18 à 20°C requis pour déclencher la ponte (Cognie *et al.*, 2006 ; Léjart, 2009) et l'augmentation de la fréquence des plages temporelles durant lesquelles cette ponte peut se produire. Une des conséquences est que l'espèce élargit l'éventail des conditions environnementales dans lesquelles elle établit les populations. Les potentialités d'occupation de l'espace littoral par l'espèce semblent extrêmement larges avec des conséquences majeures d'un point de vue écologique mais également socio-économique d'autant que la prolifération de *C. gigas* ne semble pas pouvoir être freinée étant donné l'augmentation de la température de l'eau due à l'effet de serre et les caractéristiques biologiques de cette espèce (Meistertzheim, 2008 ; Léjart, 2009).

Le projet PROGIG (PROlifération de *Crassostrea GIGas*)² a vu le jour dans le cadre du programme de recherche LITEAU II du MEDD, afin d'évaluer et de quantifier la dynamique de cette prolifération au niveau des façades Manche et Atlantique en identifiant les différentes interactions réalisées avec les écosystèmes marins et les activités humaines. Il s'agit également de prendre la mesure des principales composantes de la dynamique de la prolifération pour définir une stratégie de gestion adaptée à la diversité des situations rencontrées. Le programme s'appuie sur une approche pluridisciplinaire associant la biologie, la géomorphologie et l'ethnologie notamment.

L'objet de cet article est de présenter le système d'information géographique (SIG) mis en œuvre pour intégrer les données de suivi de cette prolifération sur les côtes Manche-Atlantique et pour l'analyse spatiale de ses interactions potentielles avec les activités humaines du littoral.

2. Enjeux de la prolifération de *C. gigas*

L'installation d'une nouvelle espèce dans un écosystème côtier induit des modifications sur son fonctionnement (Anderson *et al.* 2006) et plus spécialement dans les systèmes riches et productifs comme les zones côtières (Ruiz *et al.* 1999; Wasson *et al.* 2005). Elle est aussi connue pour avoir des conséquences potentielles au niveau socio économique et sur la santé des populations humaines (Mack *et al.* 2000; Grosholz 2002). Mais les espèces invasives n'ont pas toujours un effet négatif sur l'environnement naturel et socio-économique (Thieltges *et al.* 2006). La diversité de ces effets doit donc être considérée et les actions à envisager doivent être anticipées afin de minimiser les impacts à la fois sur le milieu naturel et sur les usages (Perrings *et al.* 2005).

L'un des objectifs de PROGIG étant d'identifier les impacts potentiels de la prolifération de *C. gigas*, nous nous sommes intéressés aux activités anthropiques du littoral pouvant interagir, positivement ou négativement avec cette espèce (tableau 1) :

² cf. www.progig.fr/

Activités littorales		Remarques
Aquaculture	Pisciculture	Possible colonisation sur les cages à poisson
	Ostréiculture	Fixation sur les huîtres d'élevage et compétition alimentaire
	Mytiliculture	Possible fixation sur les bouchots
	Vénériculture	Possible fixation sur les coquilles
Pêche à pied	Pêche à Pied sur substrat meuble	Zones colonisées par des huîtres roulanges
	Pêche à Pied sur substrat rocheux	Impact potentiellement positif lié à l'apparition d'une nouvelle ressource
	Pêche à Pied professionnelle	
	Concurrence spatiale avec d'autres espèces	Possible concurrence sur l'estran au détriment d'espèces locales
	Récolte d'algues	Gêne dans la récolte des fucales d'estran
Plaisance	Pontons	Potentiellement faible car situés en zones portuaires souvent trop polluées pour les huîtres)
	Cales	Fixation sur les cales et digues d'apportement
	Mouillages/bouées	Impact variable selon l'emplacement du mouillage
	Navigation portuaire/ dans chenal	Selon la bathymétrie et le marnage, avérée dans de nombreuses rias
Activités nautiques	Voile	Risque de frottement avec les embarcations
	Surf	Risque potentiel malgré le caractère exposé des spots
	Canoe-Kayak	Risque de frottement avec les embarcations
	Aviron	Risque de frottement avec les embarcations
	Char à voile	Impact potentiellement faible car activité pratiquée uniquement sur substrat meuble ouvert
	Plongée	Impact potentiellement faible car activité pratiquée essentiellement au large
Tourisme	Fréquentation touristique	Gêne paysagère potentielle
	Lieux de baignade	Risque pour les baigneurs
Conservation de l'environnement	zones à fort intérêt écologique	Changement de biodiversité, concurrence spatiale, impact paysager

Tableau 1 - Synthèse des interactions potentielles de *C. gigas* avec les activités du littoral

- La conchyliculture est une source potentielle de diffusion des naissains à l'origine des populations sauvages ; les parcs ostréicoles peuvent inversement pâtir de la concurrence de ces populations sauvages. En se fixant sur les huîtres d'élevage, elles compliquent leurs conditions d'exploitation et peuvent en déformer les coquilles, ce qui peut les rendre impropres à la commercialisation. Les impacts potentiels sur les autres activités aquacoles (pisciculture, vénériculture, mytiliculture) restent encore à confirmer.

- Les coquilles extrêmement coupantes de l'huître sauvage peuvent constituer une gêne pour la plaisance, particulièrement pour les pneumatiques, notamment sur les cales qui constituent un excellent support pour ces bivalves. Sur les pontons et dans les zones de mouillages le risque n'est pas encore démontré.

- D'autres activités nautiques ne sont pas directement concernées dans la mesure où elles se pratiquent sur substrat meuble (char à voile) ou au large (plongée sous-marine). En revanche, une

prolifération de l'huître est susceptible d'augmenter le risque pour le matériel et les pratiquants de certaines activités de loisir : surf (proximité des écueils rocheux), voile, aviron, canoë-kayak.

- Pour le tourisme la prolifération de *Crassostrea gigas* peut s'avérer particulièrement gênante sur les estrans les plus fréquentés surtout durant la saison estivale. Les sites de baignade y sont très sensibles en raison du caractère coupant de la coquille. A terme, l'invasion de l'huître creuse pourrait être également perçue comme une perturbation esthétique.

- Inversement, le développement de *C.gigas* peut éventuellement être considéré comme une augmentation de la ressource et être alors ressentie favorablement par les pêcheurs à pied (C.Hily, 2005).

- En terme de conservation du patrimoine naturel enfin, *Crassostrea gigas* est en compétition spatiale avec les autres espèces fixées de la zone intertidale et en compétition trophique avec les autres espèces suspensivores induisant des profondes modifications de la biodiversité, des patrons d'abondance et de biomasse (Lejart, 2005 ; 2009). Elle peut également constituer une gêne paysagère dans ces espaces à forte valeur patrimoniale.

3. Espèces invasives et SIG

Définies comme « des organismes transportés par les hommes et qui se reproduisent avec succès dans des régions où ils n'existaient pas » (Mills *et al.* 1993), les espèces invasives constituent dans bien des régions du globe une menace majeure pour la biodiversité et la conservation des habitats naturels³. Pour tenter d'enrayer la tendance et de contrôler l'expansion de ces menaces biologiques, il faut parvenir à évaluer les paramètres et les conditions qui favorisent ces diffusions, afin de pouvoir prendre les mesures de gestion les plus appropriées. Dans cette optique, les systèmes d'information géographique sont reconnus comme des outils performants et sont de plus en plus utilisés comme support technique pour permettre de cartographier et d'évaluer la dynamique et l'évolution de ces espèces invasives (Joshi *et al.* 2005).

L'utilisation des SIG peut intervenir à tous les niveaux du suivi d'une prolifération, que sont respectivement l'inventaire, le contrôle et la gestion (Rew *et al.* 2006), comme il peut servir à quantifier un état initial (ou de référence) d'une prolifération ou à prévenir une éventuelle invasion comme c'est le cas dans les ports américains du Golfe du Mexique, qui utilisent le SIG pour contrôler l'éventuelle introduction d'espèces exotiques par les rejets des eaux de ballast (Amoaka-Atta & Hicks, 2004).

Les espèces végétales, plantes exotiques aquatiques ou littorales en particulier, font généralement l'objet de suivis s'appuyant sur une photo-interprétation diachronique afin de retracer l'historique de la colonisation. Dans le delta du Llobregat, le suivi du maintien de quatre communautés végétales locales (roseaux, joncs, buissons halophiles et dunes fixées) s'est effectué à partir de la comparaison de photographies de 1956 et 1999. Quatre classes de « naturalité » ont été définies (haute, moyenne, faible et nulle) pour faciliter la comparaison entre les deux états (Pino *et al.* 2006). Dans certains cas, le suivi s'appuie sur des données de télédétection. Ainsi, l'imagerie satellitaire a été employée dans l'estuaire du Yangtze pour le suivi d'une plante aquatique littorale originaire des Etats Unis, *Spartina alterniflora*. Une analyse multispectrale d'images satellitaires acquises entre 1997 et 2004, et intégrées à un SIG, a permis de différencier outre l'eau et la vase, des peuplements de *Phragmites australis*, de *Scirpus mariqueter* et de *Spartina alterniflora* (Huang & Zhang, 2007), d'en analyser et d'en quantifier l'évolution.

Pour le suivi des espèces invasives animales (mollusques et mammifères), les SIG sont davantage employés en tant que bases d'information géographique intégrant des paramètres biologiques et écologiques relatifs à l'espèce exotique étudiée. Ainsi, pour la crépidule, gastéropode marin tendant

³ Cf. site de l'ISSG : base de données internationale sur les espèces invasives au niveau mondial (issg.org/database)

à coloniser les fonds marins des littoraux européens, un SIG a été conçu par l'IFREMER pour cartographier l'aire de distribution de cette espèce en Bretagne (Gourves, 2000). Après un inventaire des données disponibles, des données concernant la densité d'individus au mètre carré, les biomasses et la bathymétrie ont alors été intégrées au SIG. De manière identique, une estimation de la faune vertébrée introduite par l'homme dans l'archipel subantarctique du Cap Horn s'est basée sur la mise en place d'un SIG pour intégrer les informations collectées sur le terrain (à partir de transects ou de pièges) et pour représenter l'aire de distribution des espèces non locales sous forme de couches d'information ponctuelles (Anderson *et al.*, 2006).

Un troisième type d'approche repose sur le couplage des SIG à des modèles statistiques, afin d'interpréter l'étendue d'une colonisation ou de prédire les expansions futures d'espèces invasives. Des analyses de ce type ont été utilisées pour suivre la dynamique de la colonisation de la moule zébrée *Dreissena* dans la région des Grands lacs américains (Haltuch & Bergman, 2000). L'expansion des moules exotiques du lac Erié a été étudiée en incorporant la bathymétrie, la nature du substrat et les données issues de levés par sonar dans un SIG. Ces données ont été ensuite utilisées pour développer plusieurs modèles de régression afin d'interpréter l'expansion des colonies de *Dreissena*. L'exploitation des données dans un SIG a permis de calculer la superficie de chaque bassin du lac, ainsi que le type de substrat et la profondeur, mais aussi de générer des cartes numériques de recouvrement de la moule exotique.

Une autre étude s'attachait à évaluer l'impact de certains paramètres sur la croissance de *Dreissena polymorpha*. Outre le type de substrat, des données concernant la température de l'eau, la concentration de particules en suspension et en chlorophylle *a* ont été intégrées à un SIG (Chakraborti *et al.*, 2002). La conception du modèle reprenait la distribution de ces trois derniers paramètres considérés comme les plus importants dans la croissance des moules. Une pondération a été définie en s'appuyant sur un modèle statistique en fonction de l'importance relative de chaque paramètre sur le potentiel de croissance. Trois couches d'information thématiques ont ainsi été produites puis croisées en tenant compte de leur coefficient de pondération respectifs afin de produire une cartographie des zones potentiellement favorables à la croissance de la *D. polymorpha*. Des études de terrain ont ensuite confirmé la capacité du modèle à cerner les tendances spatiales des zones pertinentes de croissance.

En Méditerranée, des scientifiques ont intégré dans un modèle des paramètres physiques et biologiques qui ont été identifiés comme sensibles afin de prédire d'une manière acceptable la propagation de l'algue tropicale *Caulerpa taxifolia*. Outre le type de substrat et la bathymétrie, des données quantitatives comme la biomasse, la production, les surfaces contaminées et la biomasse résiduelle des espèces compétitives ont aussi été numérisées (Hill *et al.*, 1998), en plus des résultats statistiques concernant le courant, les variations saisonnières de température et le mode de croissance et de dispersion. Le but est de prédire et de simuler l'implantation et l'expansion de l'algue tropicale invasive à partir des différents paramètres intégrées au SIG.

En fonction des espèces considérées, l'intérêt du SIG peut donc résider dans l'emploi de données de référence photographiques ou de télédétection pour reconstituer et quantifier les stades de la colonisation spatiale d'un territoire par une espèce exotique. Les photographies aériennes permettent parfois de remonter très loin dans le temps : des photographies de 1928 ont par exemple été utilisées en Californie après orthorectification pour étudier le changement du couvert végétal d'une zone humide (Greer & Stow, 2003) ! Les SIG servent également de réceptacle pour des données de sources et de formats variés afin de constituer un corpus cohérent de connaissances relatives à une espèce ou à un territoire. Enfin, associés à des modèles statistiques, les fonctions d'analyse spatiale et quantitatives des SIG ont démontré leur pertinence pour modéliser des écosystèmes et prédire les changements à différentes échelles temporelles et spatiales.

Le suivi par photo-interprétation ne paraît pas adapté pour *C. gigas* : la résolution spatiale des orthophotographies et des images satellitaires ne permet pas de distinguer systématiquement les

peuplement de *C.gigas*. De plus, même avec des peuplements très denses, la seule présence d'une couverture algale, ou d'un substrat clair offrant peu de contraste avec les coquilles d'huître le colonisant, suffisent à rendre inefficace ce type d'approche. A l'échelle d'approche envisagée (façade Manche-Atlantique, et région Bretagne) une approche par échantillonnage ponctuel paraît le meilleur moyen pour permettre d'identifier rapidement les zones impactées.

Dans PROGIG, l'utilisation d'un SIG se justifie donc, d'une part, par la mutualisation sous une forme cohérente et rapidement mobilisable des données pertinentes pour l'étude de l'évolution des populations de *C. gigas* et, d'autre part, par les possibilités d'analyse spatiales offertes notamment dans la perspective d'identifier les interactions possibles de l'huître avec les activités humaines du littoral, soit parce qu'elles sont à l'origine de la diffusion de cette espèce (ostréiculture) soit parce qu'elles sont susceptibles d'en subir les désagréments (baignade, ostréiculture...).

4. Méthodologie

Le SIG exploité intègre trois types de données (tableau 2) : de l'information géographique de référence, des données thématiques décrivant les activités du littoral susceptibles de subir l'impact ou de bénéficier d'une prolifération de *C. gigas* et un inventaire des peuplements d'huîtres en 2007 à l'échelle de la région Bretagne.

Thème	Couche d'information	Entité	Source
Référentiel géographique	Ortholittorale 2000	Image	CETE Normandie-Centre
	Trait de côte, estran	Polygone	BD Carthage
	Communes	Polygone	BD GEO FLA® IGN
Ostréiculture	Délimitation des parcs ostréicoles	Polygone	DDAM et SRC
Plaisance	Localisation des ports de plaisance	Point	Nautisme en Bretagne
Activités Nautiques	Localisation des centres nautiques	Point	Nautisme en Bretagne; Ligue de voile des Pays de Loire
Conservation	Délimitation des sites Natura 2000	Polygone	DIREN Bretagne et Pays de Loire
Conservation	Délimitation des réserves naturelles	Polygone	DIREN Bretagne et Pays de Loire
Tourisme	Capacité d'accueil touristique (totale et taux de fonction)	Polygone	Comité départementaux du tourisme et IFEN (44)
Tourisme	Sites de baignade	Polygone	Ministère de la Santé
Pêche à pied	Fréquentation des estrans rocheux par les pêcheurs récréatifs	Polygone	IFREMER
<i>C. gigas</i>	Etat des lieux de la prolifération en 2007	Point	GEOMER et LEMAR

Tableau 2 : contenu du SIG PROGIG

Ce dernier a été produit au cours d'un inventaire mené en deux étapes sur le terrain : du 14 au 19 mai 2007 de Cancale au Conquet, puis du 13 au 17 juin 2007 de Camaret à Bourgneuf⁴.

⁴ Ces dates correspondent à des marées de coefficients supérieurs à 80 permettant d'observer à basse mer la zone de peuplement des huîtres.

L'échantillonnage repose sur la délimitation de secteurs littoraux topographiquement et morpho-sédimentairement homogènes, au sein desquels, des sites d'observation ont été localisés. Les critères adoptés sont l'accessibilité, la taille de l'estran, le type de substrat dominant (la roche principalement) et une distance régulière entre les points. Cette sélection a été réalisée à partir des orthophotographies littorales 2000 et du Scan25 IGN©.

Sur le terrain, le travail réalisé en binômes était organisé comme suit :

- prise de vue générale du site ;
- localisation GPS ;
- Parcours de l'estran selon un transect vertical (du trait de côte jusqu'au niveau de basse mer) pour déterminer la bande de peuplement par les huîtres, puis arpentage de la bande de peuplement maximal avec comptage de la densité d'huître à l'aide de quadrats d'un demi mètre carré jeté aléatoirement (trois réplicats). Des clichés de la bande de peuplement sont également pris et archivés pour témoigner du niveau de colonisation du site au moment de la mission.
- Une fiche d'enquête par site est complétée afin d'enregistrer les observations.

L'indice de densité employé est celui proposé par Lejart, 2005 (**tab. 3**)

Indice de densité	Nombre d'individus par m ²	Site exemple	Estimation visuelle de l'indice de densité sur une bande d'un mètre de large
0	0		
1	< 0,01	Petit Minou	< 10 individus (ind.) sur 100 mètres de long
2	0,01 à 1	Kernisi	≈ 10 ind. sur 100 mètres de long
3	1 à 10	Le Dellec	≈ 10 ind. sur 10 mètres de long
4	10 à 100	Keraliou	> 10 ind. sur 1 mètre
5	100 à 1000	Squiffiec	> 10 ind. sur 0,1 mètre

Tableau 3 - Indice de densité de peuplement de *C. gigas* (Lejart, 2005).

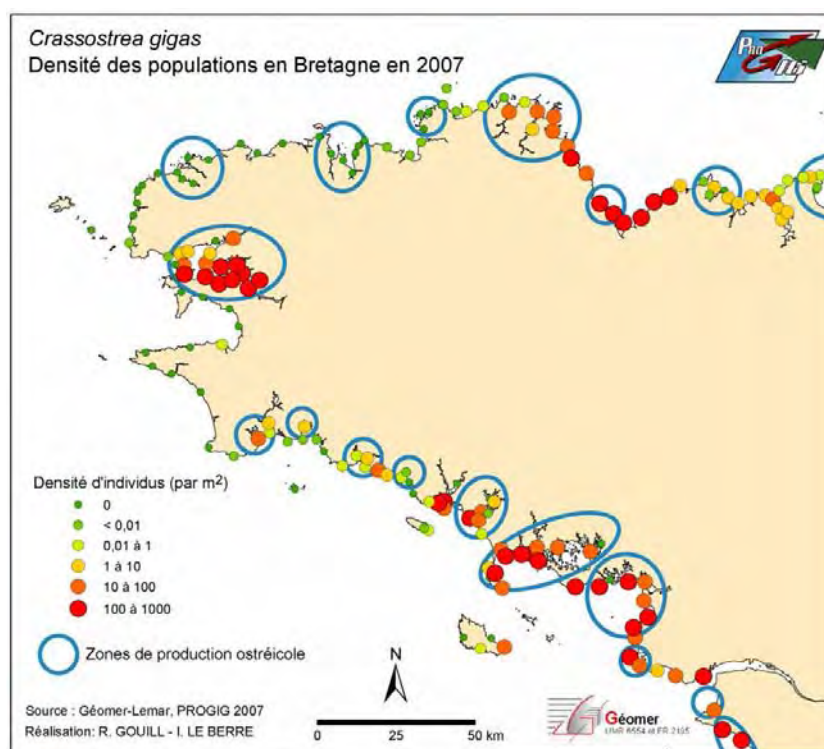
Les données ainsi collectées sont ensuite saisies dans un tableur (Excel) qui est joint à la couche d'information géographique ponctuelle produite à partir des points GPS acquis sur chaque site.

4. Premiers résultats de l'exploitation du SIG de PROGIG

4.1. L'ETAT DE LA PROLIFERATION EN 2007

L'inventaire réalisé sur le terrain permet de produire un état de la prolifération de *Crassostrea gigas* en 2007⁵. En l'absence d'autres données historiques, il constitue en quelque sorte un état de référence dans la perspective d'un suivi de l'évolution de la population d'huître creuse à l'échelle de la Bretagne.

⁵ A noter : sur les îles les observations ont été réalisées en 2008.



Carte 2 : Densité des populations de *Crassostrea gigas* en 2007

Cette couche de 168 points permet d'avoir un aperçu global de l'état de la colonisation en Bretagne et en Loire Atlantique. Sans surprise notable, plusieurs secteurs se détachent nettement : la baie de Saint Brieuc, la rade de Brest, le secteur de Lorient à Etel et la bande littorale allant de la baie de Quiberon à la baie de Bourgneuf sont les zones les plus touchées avec des densités fortes, supérieures à 10 individus par mètre carré.

D'autres espaces apparaissent également relativement perturbés (indice de concentration de niveau 2 à 3, de 0,01 à 10 individu/m²) : la côte depuis la Rance jusqu'à Saint-Cast le Guildo et la côte de Granit Rose. Cela peut être interprété comme le signe avant coureur d'une future colonisation.

Les secteurs où le degré de colonisation est de 1 (densité < 0,01/m², mais pas nulle) peuvent témoigner d'une colonisation récente mais susceptible de s'accroître. C'est le cas notamment sur le littoral entre Cancale et Saint-Malo, de la baie de Lannion entre Guimaëc et Trébeurden, et en baie de Concarneau.

Il reste enfin des zones où l'huître creuse sauvage ne semble pas s'être encore implantée : il s'agit essentiellement de la côte Nord et Ouest du Finistère, respectivement du Conquet à Plougasnou et de Camaret à Penmarch (un seul site colonisé sur Douarnenez). L'absence d'huîtres dans ces secteurs s'explique soit par des températures trop froides dans la zone d'influence du front froid thermique d'Ouessant (De Porspoder à Roscoff), soit par l'hydrodynamisme très élevé (Côte sauvage de Quiberon, de Belle île de de Groix), soit par des conditions de courantologie qui éloigne de ces secteurs les larves pélagiques (Baie d'Audierne, Baie de Douarnenez). Enfin la qualité de l'eau est probablement à l'origine de l'absence des huîtres dans les zones portuaires de la Rade de Brest mais aussi dans le secteur du Moulin Blanc. Le manque de supports primaires (i.e. coquilles, graviers etc) pourrait expliquer l'absence des huîtres au fond de certains estuaires très envasés (Blavet, Saint Hélène dans la rivière d'Etel, Theix, Tour de Retz).

4.2. LIEN AVEC LES LIEUX DE PRODUCTION

La production ostréicole constitue à la fois une source probable de diffusion de *C. gigas*, et une zone d'impact puisque les huîtres sauvages sont susceptibles d'y concurrencer les huîtres d'élevage

(REMORA, 2009). Par analyse spatiale, une bonne correspondance peut d'ailleurs être établie entre les lieux de production ostréicole et les fortes densités de *C. gigas*. L'indice de densité observé ponctuellement est tout d'abord extrapolé à l'ensemble de la zone d'étude en se basant sur les entités morphosédimentaire et hydrodynamiques du littoral. A partir du cadastre conchylicole, et à l'aide de la fonction *proximity* d'ArcInfo, il est ensuite possible de calculer la distance entre les lieux de production et les secteurs de forte densité d'huîtres. Le seuil de plus de 10 individus par m² a été retenu, c'est-à-dire les deux classes de densité les plus élevées. Comme le montre la figure 1, les distances apparaissent généralement faibles entre les lieux de production et les secteurs fortement colonisés. Quelques exceptions notables sont également mises en évidence (**fig. 1**) :

- La côte sud du Finistère (Clohars Carnoët, Nevez, Fouesnant), qui compte pourtant d'importants lieux de production paraît relativement moins affectée (indice 1 à 3) que les autres grands secteurs de production. Il faut toutefois excepter la rivière de Pont-l'Abbé et celle de Merrien, toutes deux productrices, où l'indice de niveau 4 est atteint.

- A l'exception de la rade de Brest, la partie occidentale de la péninsule bretonne reste relativement épargnée par le phénomène. Si le sud (Baie d'Audierne, Baie de Douarnenez) ne constitue pas une zone de production ostréicole, la région des Abers, la baie de Morlaix et dans une moindre mesure le secteur de l'île Grande abritent une activité ostréicole importante qui ne se traduit pourtant pas par une prolifération de l'huître creuse. Les conditions hydrodynamiques, en particulier la température de l'eau, pourraient constituer un facteur explicatif de cette exception.

- Les secteurs du Cap Fréhel et de Saint-Cast-le-Guildo paraissent moins affectés, mais il est vrai que l'activité conchylicole est majoritairement orientée vers la mytiliculture. Enfin, les densités de peuplements restent assez faibles dans le secteur de Cancale (indice 1 à 2), mais l'on atteint ici la limite de la zone d'échantillonnage. Des observations complémentaires sont certainement nécessaires dans la baie du Mont-Saint-Michel.

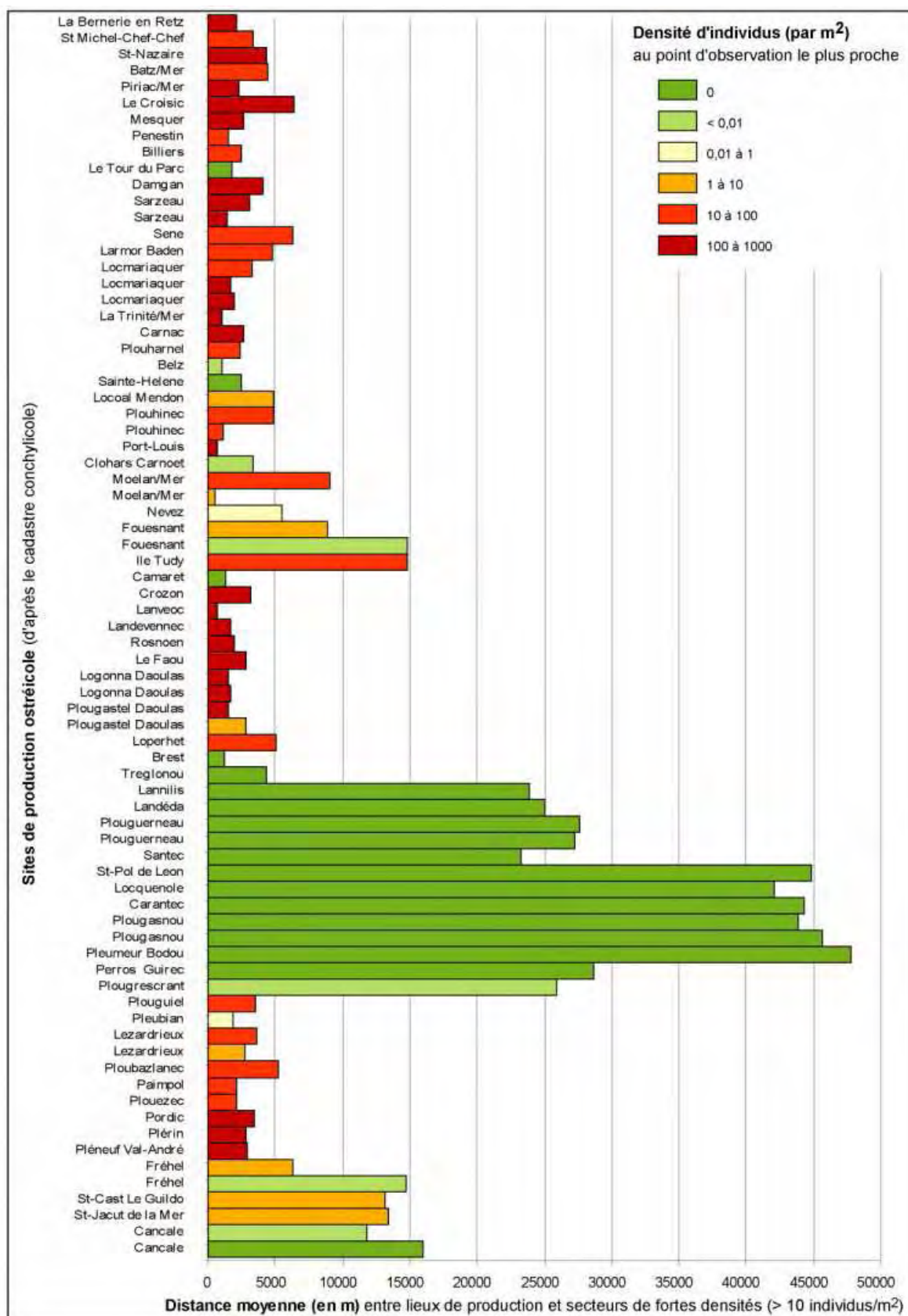
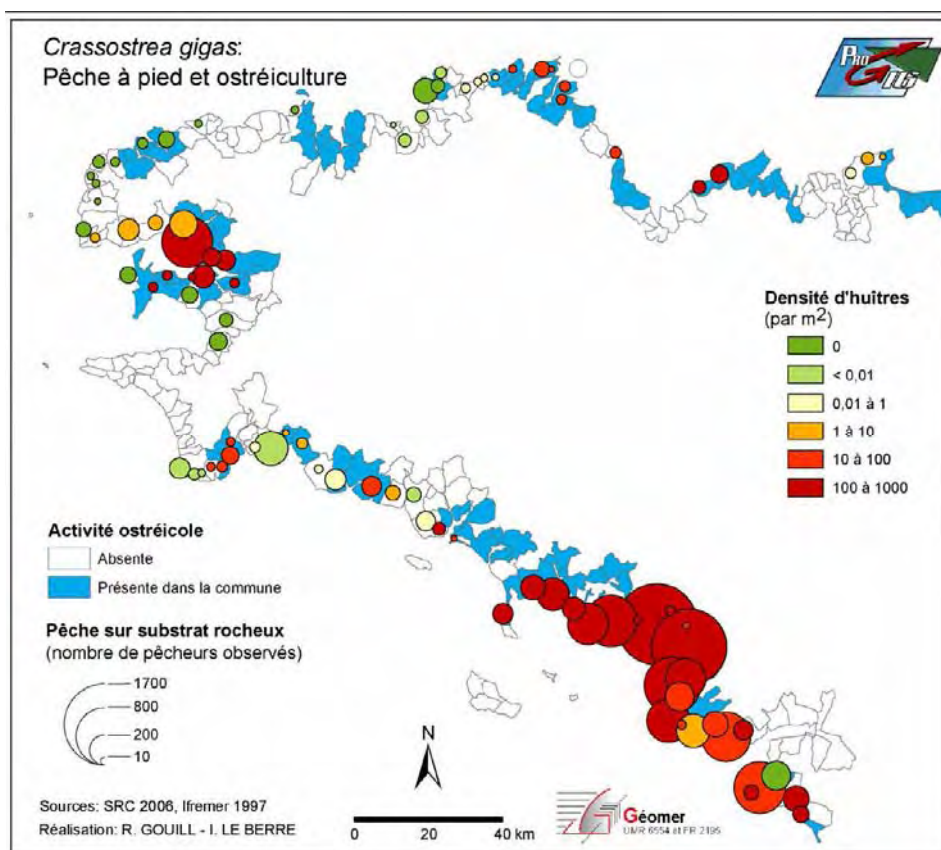


Figure 1 : Distance entre les lieux de production et les zones de fortes de densités de peuplement de *Crassostrea gigas*. Les zones du production du Finistère nord, actuellement non colonisées par l'huître sauvage, sont très éloignées des points où de fortes densités ont été observées.

4.3. ANALYSE SPATIALE DES INTERACTIONS DE *C. GIGAS* AVEC LES ACTIVITES SOCIO-ECONOMIQUES

4.3.1. Pêche à pied et conchyliculture

La carte suivante (**Carte 3**) montre les principaux sites de pêche à pied sur substrat rocheux et leur relation spatiale avec les zones de forte densité. Si, l'huître n'est pas la seule espèce recherchée en substrat rocheux, elle en constitue une part importante, notamment en rade de Brest et dans le sud de la région d'étude. La pêche à pied apparaît donc bien comme l'une des activités susceptibles de tirer profit d'une prolifération de *C. gigas*, pouvant être considéré comme un accroissement de la ressource.



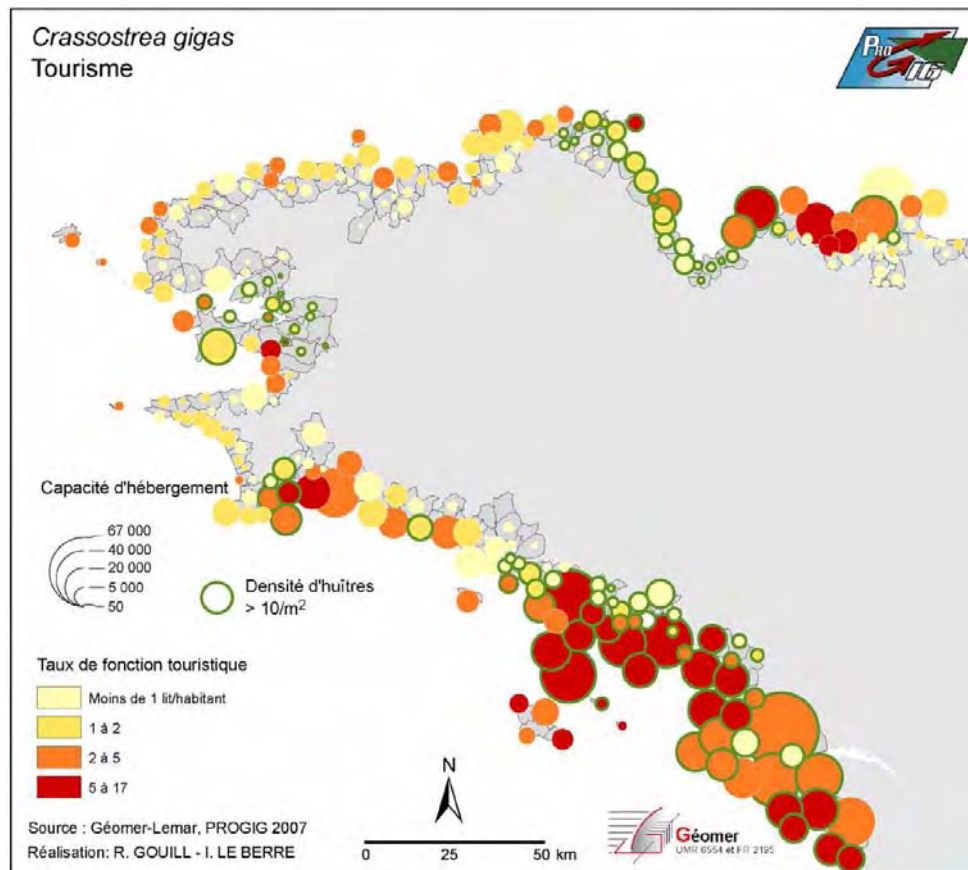
Carte 3 : Pêche à pied et ostréiculture

4.3.2. Le tourisme

Le risque majeur actuellement identifié sur les loisirs balnéaires est celui des coupures lors de la baignade. Si l'on sélectionne, parmi les 572 suivis par la DRASS en Bretagne, les sites de baignade situés à moins de 500 mètres d'une forte concentration d'huîtres sauvages (indice de 4 à 5), on s'aperçoit que plus de 38 % (soit 219 plages) sont concernés.

Ce premier aperçu est à pondérer par la fréquentation effective de ces plages. En l'absence de données fines sur la question, on peut s'appuyer sur la capacité d'accueil touristique par commune (**Carte 4**), et sur le taux de fonction touristique. Ce dernier permet de mesurer la pression touristique exercée sur une commune, car il calcule le rapport entre la capacité touristique et la population permanente. Il permet ainsi de rapporter la fréquentation estivale à la dimension de la commune. Les communes à vocation très touristique peuvent ainsi voir leur population multipliée par deux ou plus ; certaines (Damgan, Arzon ou l'Île Tudy) par plus de 10 !

Ces deux indicateurs permettent d'identifier les principaux secteurs touristiques à l'échelle régionale. On retrouve : la Côte d'Emeraude (Fréhel, Saint-Briac), le littoral du Mor Braz (Quiberon, Belle-Île, Arzon) ou la côte d'Amour (La Baule, La Turbale). Leur confrontation avec l'état de référence des populations de *C. gigas* montre l'importance des enjeux et des risques potentiels en Bretagne sud. Sur la côte nord, moins affectée par la prolifération, mais également moins touristique, les enjeux apparaissent moindres et localisés dans certaines communes - Dinard, Plouha, Erquy, Pléneuf-Val André – et, dans une moindre mesure, les côtes du Goëlo et de la rade de Brest.



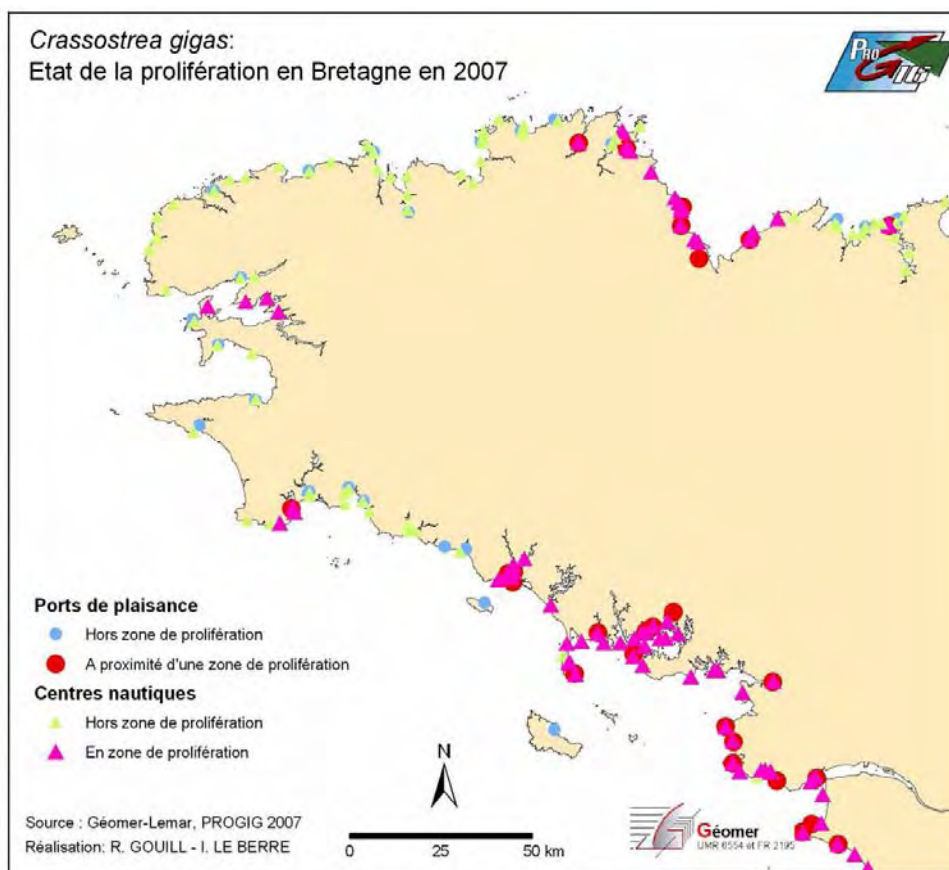
Carte 4 : Capacité et taux de fonction touristique

En définitive, 157 plages (27,4%) fortement colonisées par *Crassostrea gigas* sont situées dans les communes les plus touristiques du littoral breton (capacité d'hébergement supérieure ou égale à 2000 lits et taux de fonction touristique supérieur ou égal à 2). Elles sont essentiellement localisées au sud de Quiberon. 29 seulement sont situées au nord, la majorité dans les secteurs de Loctudy et l'île Tudy en sud Finistère et de Saint-Quay-Portrieux à Erquy dans les Côtes d'Armor.

4.3.2. La Plaisance

La plaisance est une activité en plein essor, particulièrement en Bretagne qui offre des conditions nautiques variées. Les coquilles extrêmement coupantes des huîtres peuvent constituer un facteur de risque pour les coques, en particulier celles des pneumatiques, et pour les équipages au moment de l'embarquement ou du débarquement. Certains secteurs où la plaisance est particulièrement développée sont aussi fortement colonisés par *C. gigas* : baie de Saint-Brieuc (ports de Binic et de Saint-Quay-Portrieux), golfe du Morbihan (port d'Arradon), côte de Jade (Pornichet, Pornic). Les

ports en estuaire dont l'accès s'effectue souvent par des chenaux de navigation étroits et de faible profondeur, paraissent particulièrement vulnérables : Dinard, Loctudy, Lorient ou La Trinité/Mer.

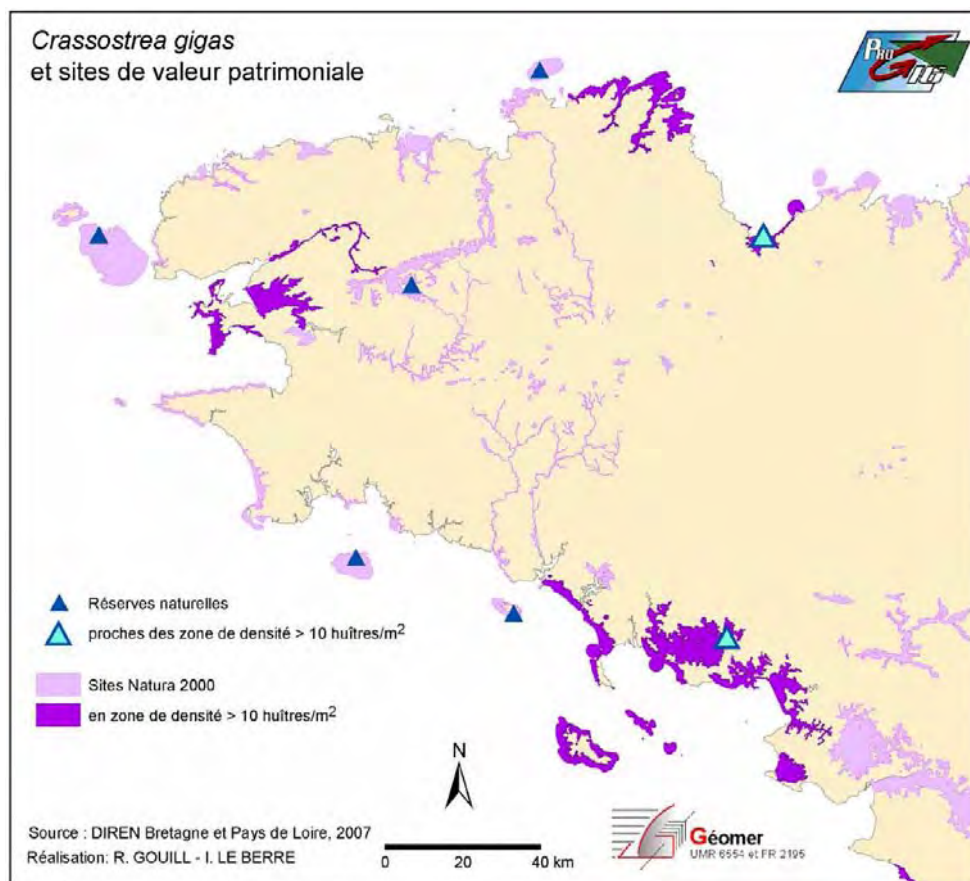


Carte 5 – *C. gigas* et le nautisme

Pour les centres nautiques, dont une grande partie des activités s'effectue à bord d'embarcations légères et avec des enfants, la prolifération des populations d'huîtres est également susceptible de constituer une contrainte importante. La baie de Saint-Brieuc, la rade de Brest, l'estuaire du Blavet, la baie de Quiberon et le Golfe du Morbihan ainsi que la côte de Jade sont les plus concernées.

4.3.3. La protection de l'environnement

Dans les sites protégés pour leur diversité et pour leur richesse faunistique et floristique, ici matérialisés par les sites du réseau Natura 2000 et les réserves naturelles, le risque d'une perturbation écologique liée à la prolifération de *C. gigas* n'est pas à exclure. Les sites Natura 2000 en violet sont les sites marins qui incluent ou qui sont situés à moins de 500 mètres d'une forte densité d'huîtres sauvages (indice 4 ou 5). Les secteurs à risque ainsi identifiés sont ceux de la baie de Saint-Brieuc, de la Baie de Paimpol et l'estuaire du Jaudy, la rade de Brest, la côte de Lorient à Etel, le Golfe du Morbihan et la Presqu'île de Rhuys, ainsi que la baie de Bourgneuf. Rappelons que le réseau Natura 2000 a vocation à se développer considérablement sur la partie marine, notamment dans des secteurs actuellement fortement colonisés par *C. gigas*.



Carte 6 - Zones de fortes densités en sites Natura 2000 et en Réserves naturelles

4.3. CONCLUSION

Après inventaire sur le terrain un aperçu général des densités de peuplement de l'estran par *C. gigas* est disponible à l'échelle de la Bretagne en 2007. L'effort d'échantillonnage consenti fourni en quelque sorte un état de référence des peuplements et permet d'envisager un suivi régulier par périodes de 4 à 5 années de leur évolution.

Cet inventaire confirme que les secteurs les plus colonisés sont la baie de Saint Brieuc, la rade de Brest, le secteur de Lorient à Etel et la bande littorale allant de la baie de Quiberon à la baie de Bourgneuf. Les densités y sont supérieures à 10 individus par mètre carré. Des signes d'une colonisation en cours peuvent être observés dans des secteurs de colonisation moyenne (indice de concentration de niveau 2 à 3, de 0,01 à 10 individu/m²), entre l'estuaire de la Rance et Saint-Cast le Guildo. En revanche, les côtes nord et ouest du Finistère (rade de Brest mise à part) ne sont pas colonisées, de même que les littoraux les plus exposés (cap Fréhel, côte Sauvage de Quiberon, etc...). Les travaux d'écologie en cours mettent en évidence que cette répartition, outre la localisation des sites d'élevage, témoigne principalement de l'influence des facteurs hydrodynamiques pour le transport des larves, et de la température de l'eau sur potentialités de ponte et de survie larvaire.

L'analyse spatiale réalisée à partir de cet inventaire montre une bonne corrélation entre les lieux de productions et les secteurs les plus densément peuplés du littoral. Les exceptions les plus notables étant celles de la région des Abers et de la Baie de Morlaix d'une part et, d'autre part de la côte sud du Finistère, mais dans une moindre mesure.

Si, pour les professionnels de la conchyliculture, l'huître sauvage est perçue comme un concurrent, voire comme un obstacle au bon déroulement de l'activité, le pêcheur à pied peut voir dans cette prolifération une nouvelle ressource intéressante à exploiter. Globalement cependant, les activités les plus exposées aux risques (ou aux désagréments) liés à la prolifération de *C. gigas* sont naturellement les plus touristiques : près de 40% des plages suivies par la DRASS sont affectées d'une densité supérieure à 10 huîtres/m². Une bonne partie d'entre elles (27,4%) se situe dans des secteurs à forte vocation touristique (capacité d'accueil, taux de fonction touristique, présence d'équipements importants comme des ports de plaisance) comme le Mor Braz (Quiberon, Belle-Île, Arzon) ou la côte d'Amour (La Baule, La Turbale) au sud, ainsi que certaines communes des côtes de la Manche (Dinard, Plouha, secteur de Saint-Quay-Portrieux à Erquy notamment).

Enfin, la prolifération de l'huître creuse du Pacifique induit des changements importants dans le fonctionnement des écosystèmes intertidaux et sans doute plus largement des écosystèmes côtiers dans le cas des baies semi fermées (Rade de Brest, Golfe du Morbihan...). La prise en compte de ce phénomène dans le contexte de développement des aires marines protégées et de la conservation de la biodiversité (parc marins, sites Natura 2000 et leur extension en mer) s'avère nécessaire et urgente.

A ce stade de l'étude, les actions de recherche en cours concernent en particulier l'influence des facteurs hydrodynamiques et physico-chimiques susceptibles d'expliquer la répartition inégale des peuplements, et en particulier l'absence de colonisation des littoraux du nord Finistère pourtant lieux de production ostréicole. De même, les potentialités écologiques de l'espèce sont étudiées en particulier sur les gradients de salinité, de température, de types de substrat, d'hydrodynamisme. Cette connaissance de l'aire écologique potentielle permettra de plus de pouvoir prédire la localisation de nouveaux sites propices à une implantation de l'espèce au cours de sa dynamique d'invasion du littoral.

Les perturbations potentielles induites par une prolifération de *C. gigas* sur les activités listées à ce stade de l'étude, en particulier les différentes branches de l'aquaculture, sont à confirmer. Elles méritent un suivi approfondi afin d'évaluer si les risques potentiels mis en évidence dans notre étude sont simplement une gêne modérée pour la profession conchylicole ou si le phénomène peut mettre en péril l'existence même de l'élevage dans certains secteurs.

Des enquêtes complémentaires menées auprès de la population fréquentant les sites impactés (baigneurs, pêcheurs à pied, promeneurs) et de leurs gestionnaires, en particulier dans les espaces naturels protégés, montrent que le phénomène est jugé très préoccupant par l'ensemble des usagers. Des moyens d'action et de gestion sont testés afin de donner aux gestionnaires des outils méthodologiques pour réagir localement lorsque la gêne est trop importante (accès aux cales et zones de mouillages, zones de baignade et plages de sables...)

En 2008, la période de juin à septembre a montré un épisode de mortalité très importante du cheptel des fermes conchylicoles, allant jusqu'à 80% dans certains parcs. Cette mortalité s'est manifestée tout d'abord sur les juvéniles puis, peu à peu (mais plus localement) chez les adultes. Cette mortalité s'est également manifestée dans les populations sauvages mais à des taux largement plus faibles et de manière très ponctuelle et localisée à proximité des parcs. L'origine de cet épisode de mortalité reste encore mal expliquée. Les conditions environnementales de l'hiver et du printemps doux et pluvieux auraient facilité une maturation précoce et donc un état physiologique de fatigue. Cet état physiologique aurait diminué la résistance des individus aux pathogènes bactériens et viraux très abondants à cette période. La raison pour laquelle les populations sauvages ont mieux résisté que dans les élevages est à chercher probablement au niveau des conditions de stress très différentes. Ces populations d'huîtres sauvages deviennent alors un enjeu nouveau car elles constituent des stocks potentiels de repeuplement pour remplacer les élevages décimés.

L'invasion du littoral continue et ne semble donc pas prête à se ralentir. De nouveaux sites colonisés sont signalés régulièrement et les densités augmentent également dans les sites déjà touchés. Il est donc essentiel que l'approche régionale développée dans cette étude sous forme de base de données, SIG et géodatabase, perdure dans le cadre d'un véritable observatoire de l'invasion du littoral par cette espèce. C'est dans cette perspective que se développent nos travaux.

5. Bibliographie

AGRESTE, cahiers de la conchyliculture, 2005, Recensement de la conchyliculture 2001. n° 1

Amoaka-Atta S., Hicks D., 2004, "GIS decision support system for prevention of ballast water-borne species introductions" *24th Annual ESRI International User Conference*, August 9–13, 2004, <http://proceedings.esri.com/library/userconf/proc04/docs/pap1534.pdf>

Anderson C., Rozzi R., Torres-Mura J., Mcgehee S., Sherriffs M., Schüttler E., Rosemond A., 2006, "Exotic vertebrate fauna in the remote and pristine sub-Antarctic Cape Horn Archipelago, Chile", *Biodiversity and Conservation*, vol. 15, n°10, 3295-3316.

Chakraborti R., Kaur J., De Pinto J., 2002, "Analysis of factors affecting Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) Growth in Saginaw Bay: A GIS-based modelling approach", *J.Great Lakes Res.*, vol. 28, n°3, 396-410.

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* n°259, 249-259.

Drinkwaard A.C., 1998, "Introduction and development of oysters in the North sea area : a review", *Helgol. Meeresunt.*, vol. 52, 301-308.

FAO, 2008, *Aquaculture production : Quantities 1950-2006*.
(<http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat#2>)

Gay M., 2004, *Infection expérimentale chez Crassostrea gigas : étude de deux souches pathogènes apparentées à Vibrio splendidus*. Thèse de doctorat de Biologie, Université de La Rochelle.
<http://www.ifremer.fr/docelec/doc/2004/these-328.pdf>

Gourves A., 2000, *Intégration dans un SIG des données concernant la prolifération des crépidules sur le littoral breton*, Rapport de stage IFREMER, 26 p.

Greer K., Stow D., 2003, "Vegetation Type Conversion in Los Penasquitos Lagoon, California: An examination of the Role of Watershed Urbanization", *Environmental Management*, vol. 31, n° 4, 489-503.

Grizel H., Heral M., 1991, "Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*)", *ICES Journal of Marine Science*, n° 47, 399-403.

Grosholz E., 2002, "Ecological and evolutionary consequences of coastal invasions", *Trends in Ecology & Evolution* vol. 17, 22-27

Haltuch M., Berkman P.A., 2000, "Geographic Information System analysis of ecosystem invasion: Exotic mussels in Lake Erie", *Limnology and Oceanography*, vol. 45, n°8, 1778-1787.

Héral M., 1986, "L'ostréiculture française traditionnelle", In G Barnabé (ed.), *Aquaculture*, Lavoisier, Paris vol. 1, 345–390.

Hill D, Coquillard P., De Vaugelas J., Meinesz A., 1998, "An algorithmic model for invasive species: Application to *Caulerpa taxifolia* (Vahl) C.agardh development in the North-Western Mediterranean Sea", *Ecological Modelling*, n°109, 251-265.

Hily C., 2005, *Prolifération de l'huître creuse Crassostrea gigas sur les côtes Manche Atlantique françaises : bilan, dynamique, conséquences écologiques, économiques et ethnologiques, expériences et scenarii de gestion*, Proposition de recherche, LEMAR, IUEM-UBO, Brest, 32 p.

Huang H., Zhang L., 2007, "A study of the population dynamics of *Spartina alterniflora* at Jiuduansha Shoals, Shanghai, China", *Ecological Engineering*, n°29, 164-172.

Joshi C.M., de Leeuw J., van Duren, I.C. 2004, "Remote sensing and GIS applications for mapping and spatial modelling of invasive species". *proceedings of the XXth ISPRS congress : Geo-imagery bridging continents*, 12-23 July 2004, Istanbul, Turkey. Comm. VII. pp. 669-677
(http://www.itc.nl/library/Papers_2004/peer_conf/joshi.pdf)

Léjart M., 2005, *Prolifération de Crassostrea gigas (Thunberg) en rade de Brest : Premières estimations du stock et de son impact sur le fonctionnement de l'écosystème*, Mémoire de Master en Sciences Biologiques Marines, LEMAR, IUEM-UBO, Brest, 31 p.

Lejart M., 2009, *Etude du processus invasif de Crassostrea gigas en Bretagne : Etat des lieux, dynamique et conséquences écologiques*. Thèse de Doctorat, Ecole Doctorale des Sciences de la Mer, Spécialité : Océanologie Biologique, Institut Universitaire Européen de la Mer, UBO.

Mack R.N., Simberloff D., Lonsdale W.M., Evans H., Clout M., Bazzaz F.A., 2000, "Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control", *Ecological Applications*, vol. 10, 689-710.

Meistertzheim L., 2008, *Capacité d'adaptation d'une espèce colonisatrice, l'huître creuse japonaise, Crassostrea gigas en région Bretagne*. Thèse de Doctorat, Ecole Doctorale des Sciences de la Mer, Spécialité : Océanologie Biologique, Institut Universitaire Européen de la Mer, UBO.
(<http://www-iuem.univ-brest.fr/UMR6539/vie-scientif/les-theses-precedentes/theses-soutenues-en-2008-1>)

Mills E.L., Leach J.H., Carlton J.T., Selcor L., 1993, "Exotic species in the Great Lakes: A history of biotic crisis and anthropogenic introductions", *J.Great Lakes Res*, n°19, 1-54.

Miossec, L., Gouilletquer, P., 2007, "The Pacific Cupped Oyster *Crassostrea gigas*, a species introduced into Europe for aquaculture in the 70's to become invasive in the late 90's", In: *5th Internationale Conference on Marine Bioinvasions*, MIT, Cambridge, (MA) USA.

Perrings C., Dehnen-Schmutz K., Touza J., Williamson M., 2005, "How to manage biological invasion under globalization", *Trends in Ecology and Evolution*, vol. 20, n°5, 212-215.

Pino J., Seguí J.M., Álvarez N., 2006, "Invasibility of four plants communities in the Llobregat Delta in relation to their historical stability", *Hydrobiologia*, n°570, 257-263.

REMORA, Réseau Mollusques des Rendements Aquacoles. www.ifremer.fr/remora/

Rew L.J., Maxwell B.D., Dougher F.L., Aspinall R., 2006, "Searching for a needle in a haystack: evaluating survey methods for non-indigenous plant species", *Biological Invasions*, vol. 8, n° 523-539.

Ruiz G.M., Fofonoff P., Hines A.H., Grosholz E.D., 1999, "Non-indigenous species as stressors in estuarine and marine communities: Assessing invasion impacts and interactions", *Limnology and Oceanography* vol. 44, 950-972.

Thieltges D.W., Strasser M., Reise K., 2006, "How bad are invaders in coastal waters? The case of the American slipper limpet *Crepidula fornicata* in western Europe", *Biological Invasions* vol. 8, 1673-1680.

Wasson K., Fenn K., Pearse J.S., 2005, "Habitat differences in marine invasions of central California", *Biological Invasions*, vol.7, 935-948.

ANNEXE 2

Estimation du stock de *C. gigas* en Rade de Brest

Sites et protocole d'échantillonnage

	Sites	Date	Longitude X	Latitude Y	Echantillonnage	Largeur bande en mètres	Indice de densité
1	Squiffiec	12/01/2005	101404	2390971	10 quadrats de 0,1m²	29	5
2	Pointe du Château	12/01/2005	106960	2391415	estimation visuelle (indice)		5
3	Cordon de galets de l'Ilette	14/01/2005	72920	2398315	Comptage sur surface repérée par positionnement GPS		1
4	Ile de Tibidy	25/01/2005	111975	2387078	10 quadrats de 0,1m²		5
5	Moulin-Mer	25/01/2005	109223	2389128	10 quadrats de 0,1m²	38	5
6	Goulet 1	26/01/2005	90315	2393489	estimation visuelle (indice)		0
7	Goulet 2	26/01/2005	89336	2393156	estimation visuelle (indice)		0
8	Goulet 3	26/01/2005	88366	2392693	estimation visuelle (indice)		0
9	Goulet 4	26/01/2005	87714	2392009	estimation visuelle (indice)		0
10	Goulet 5	26/01/2005	87405	2391399	estimation visuelle (indice)		0
11	Dellec	28/01/2005	88881	2395100	10 quadrats de 0,5m²		3
12	Maison Blanche	28/01/2005	91472	2395518	estimation visuelle (indice)		3
13	Est Moulin-Mer	08/02/2005	109492	2388912	10 quadrats de 0,1m² + prélèvement		5
14	Goasquellou	08/02/2005	110323	2388164	11 quadrats de 0,1m² + prélèvement		5
15	Landevennec	08/02/2005	110819	2386599	Comptage sur surface repérée par positionnement GPS		3
16	Landevennec (Port Maria)	08/02/2005	110383	2386869	10 quadrats de 0,1m²		5
17	Sillon des Anglais	08/02/2005	108930	2387299	estimation visuelle (indice)		0
18	Grève de Penn al Lann	09/02/2005	103179	2391541	10 quadrats de 0,5m²	24	5
19	Port de l'Auberlac'h	09/02/2005	99907	2392290	10 quadrats de 0,1m² + prélèvement	40	5
20	Porz Meur	11/02/2005	97260	2391829	10 quadrats de 0,5m² + prélèvement	11	4
21	Larmor	11/02/2005	97445	2392235	10 quadrats de 0,5m²		3
22	Penn Ar Pont	11/02/2005	98041	2393291	10 quadrats de 0,5m²	23	3
23	Keraliou	11/02/2005	101071	2397300	10 quadrats de 0,5m² + prélèvement	25	4
24	Le Passage	11/02/2005	103007	2398248	estimation visuelle (indice)		0
25	Ecole navale Lanvéoc-Poulmic	25/02/2005	99881	2385592	estimation visuelle (indice)		3
26	Bois de poulmic1	25/02/2005	100600	2385426	10 quadrats de 0,5m² + prélèvement		4
27	Bois de Poulmic 2	25/02/2005	101220	2385431	estimation visuelle (indice)		5
28	Bois de poulmic 3	25/02/2005	102525	2385593	10 quadrats de 0,1m² + prélèvement		4
29	Lomergat 1	25/02/2005	103565	2386013	estimation visuelle (indice)	43	3
30	Lomergat 2	25/02/2005	103999	2386388	estimation visuelle (indice)	38	4-5
31	Quillien	25/02/2005	105493	2386544	10 quadrats de 0,1m²	41	5
32	Entrée Aulne à droite	25/02/2005	110146	2385683	estimation visuelle (indice)	marnage	5
33	Après cimetière bateaux	25/02/2005	109100	2386001	estimation visuelle (indice)	marnage	5
34	Droite pont de Térénez	25/02/2005	110459	2383785	estimation visuelle (indice)		3
35	Gauche pont de Térénez	25/02/2005	110695	2383945	estimation visuelle (indice)		5
36	Pen Butun	25/02/2005	111096	2383126	estimation visuelle (indice)		5
37	Pointe des Espagnols 1	28/02/2005	91281	2393516	10 quadrats de 0,5m²		3
38	Pointe des Espagnols 2	28/02/2005	91267	2393301	estimation visuelle (indice)		4
39	Penaros 3	28/02/2005	91064	2393032	10 quadrats de 0,5m²	23	3
40	L e Gourest 4	28/02/2005	90746	2392529	estimation visuelle (indice)	30	3
41	Plage Postermen	28/02/2005	90234	2391685	10 quadrats de 0,5m²	29	3
42	Pont Scorff	28/02/2005	90262	2391207	10 quadrats de 0,5m²	16	3
43	Port Pont Scorff	28/02/2005	90132	2390772	estimation visuelle (indice)		
44	Vasière Quélern	28/02/2005	89363	2389648	Comptage sur surface repérée par positionnement GPS		2
45	Ile du Renard (Ile aux morts)	28/02/2005	90363	2388398	10 quadrats de 0,1m² + prélèvement	36	5
46	Polder	24/02/2005	98651	2397548	estimation visuelle (indice)		0
47	Anse du Roz	09/03/2005	106781	2390215	10 quadrats de 0,1m² + prélèvement	55	3
48	Pointe du Bindy	09/03/2005	105832	2389304	10 quadrats de 0,1m²		5
49	Moulin Blanc	10/03/2005	100302	2398787	estimation visuelle (indice)		0
50	Minou	25/03/2005	85165	2393875	Comptage sur surface repérée par positionnement GPS		1
51	Lanvéoc est	07/04/2005	97043	2387591	10 quadrats de 0,1m²	30	5
52	Lanvéoc ouest	07/04/2005	95789	2387506	10 quadrats de 0,5m²	42	4
53	Le Fret	07/04/2005	93112	2386853	10 quadrats de 0,1m²	30	5
54	Aulne 1	08/04/2005	120232	2379697	estimation visuelle (indice)		1
55	Aulne 2	08/04/2005	117515	2380801	10 quadrats de 0,1m²		5
56	Aulne 3	08/04/2005	115882	2381263	estimation visuelle (indice)		5
57	Aulne 4	08/04/2005	114226	2381979	10 quadrats de 0,1m² + prélèvement		5
58	Elorn 1	12/05/2005	107753	2400438	estimation visuelle (indice)		0
59	Elorn 2	12/05/2005	107305	2400161	estimation visuelle (indice)		4
60	Elorn 3	12/05/2005	106193	2399538	estimation visuelle (indice)		4
61	Elorn 4	12/05/2005	105845	2399633	estimation visuelle (indice)		4
62	Elorn 5	12/05/2005	105135	2399300	estimation visuelle (indice)		4
63	Sud pont Iroise	17/05/2005	101868	2397824	estimation visuelle (indice)		3
64	Tibidy 3	17/05/2005	112111	2387103	estimation visuelle (indice)		5
65	Pointe de Gluziau 1	17/05/2005	112539	2387185	estimation visuelle (indice)	20	5
66	Pointe de Gluziau 2	17/05/2005	112733	2386992	estimation visuelle (indice)	20	5
67	Pointe de Gluziau 3	17/05/2005	113134	2386837	estimation visuelle (indice)	20	5

	Sites	Date	Longitude X	Latitude Y	Echantillonnage	Largeur bande en mètres	Indice de densité
68	Faou 1	17/05/2005	113617	2386629	estimation visuelle (indice)		5
69	Faou 2	17/05/2005	113935	2386601	estimation visuelle (indice)		5
70	Faou 3	17/05/2005	114201	2386689	estimation visuelle (indice)		5
71	Faou 4	17/05/2005	114515	2386663	estimation visuelle (indice)		4
72	Faou 5	17/05/2005	115636	2366514	estimation visuelle (indice)		1
73	Faou 6	17/05/2005	114402	2386551	estimation visuelle (indice)		5
74	Faou 7	17/05/2005	114262	2386499	estimation visuelle (indice)		5
75	Faou 8	17/05/2005	114240	2386410	estimation visuelle (indice)		5
76	Ile d'Arun 1	17/05/2005	113002	2386252	estimation visuelle (indice)	15	5
77	Ile d'Arun 2	17/05/2005	112507	2386298	estimation visuelle (indice)	15	5
78	Ile d'Arun 3	20/05/2005	112171	2385915	estimation visuelle (indice)	15	5
79	Kernisi	20/05/2005	99336	2395730	estimation visuelle (indice)	20	2
80	Kerdrein 1	20/05/2005	98532	2394909	estimation visuelle (indice)	20	3
81	Kerdrein 2	20/05/2005	98477	2394578	estimation visuelle (indice)	20	3
82	Nord pont iroise	20/05/2005	101372	2398136	estimation visuelle (indice)		3

ANNEXE 3

Estimation du stock de *C. gigas* dans le Golfe du Morbihan
Sites et protocole d'échantillonnage

	Sites	Date	Longitude X	Latitude Y	Echantillonnage	Largeur bande en mètres	Indice de densité
1	Ile Tascon	11/01/2006	219199	2297901	10 quadrats de 0,1m ²	90	4
2	Péchit	12/01/2006	219499	2300176	10 quadrats de 0,1m ²	24	4
3	Péchit	12/01/2006	219164	2300485	10 quadrats de 0,1m ²	20	5
4	Toulindac	13/01/2006	208433	2301758	5 radiales de 10m ²	16	3
5	Toulindac	13/01/2006	208594	2301740	estimation visuelle (indice)	16	2
6	Pointe de Bréhuidic	16/01/2006	211419	2296035	5 quadrats de 1m ²	15	3
7	Pointe de Bréhuidic	16/01/2006	211681	2295943	estimation visuelle (indice)		0
8	Pointe de l'Ours	16/01/2006	211886	2296899	5 radiales de 10m ²	32	3
9	Pointe du Bil	18/01/2006	218970	2301188	10 quadrats de 0,1m ²	6	4
10	Toulassais	19/01/2006	205089	2295764	10 quadrats de 0,1m ²	33	5
11	Port sable	19/01/2006	205590	2295646	estimation visuelle (indice)		5
12	Port Navalo	19/01/2006	205447	2296731	estimation visuelle (indice)		5
13	Bilgroix	19/01/2006	205154	2297468	5 quadrats de 0,1m ²		5
14	Locmiquel	20/01/2006	204638	2300514	5 radiales de 10m ²	7	2
15	Lasné	30/01/2006	219085	2296855	5 quadrats de 0,1m ²	35	5
16	Ile de la Pointe	30/01/2006	218788	2296632	estimation visuelle (indice)	43	5
17	Ile aux moines-pointe Brouel	01/02/2006	212036	2300279	5 quadrats de 0,1m ²	35	4
18	Ile aux moines-pointe Brouel	01/02/2006	211824	2299950	estimation visuelle (indice)	10	4
19	Ile aux moines-pointe Brouel	01/02/2006	211290	2300323	estimation visuelle (indice)	30	3
20	Locmariaquer (pierre plate)	03/02/2006	202261	2297291	estimation visuelle (indice)	120	5
21	Locmariaquer (pointe Kerpenhir)	03/02/2006	203196	2296958	5 quadrats de 0,1m ²	120	5
22	Locmariaquer (balise rouge)	03/02/2006	204306	2297560	5 quadrats de 0,1m ²	130	5
23	Port anna	10/02/2006	215693	2303780	5 quadrats de 0,1m ²	16	5
24	Port anna	10/02/2006	215708	2303557	estimation visuelle (indice)		5
25	Port anna	10/02/2006	215696	2303865	estimation visuelle (indice)		5
26	Port anna	10/02/2006	215725	2304003	estimation visuelle (indice)		4
27	Port anna	10/02/2006	215799	2304230	estimation visuelle (indice)		4
28	Pointe Kerpers	13/02/2006	207732	2297985	10 quadrats de 0,1m ²	9	4
29	Pointe Kerpers	13/02/2006	207704	2297989	10 quadrats de 0,1m ²	12	4
30	Pointe Kerpers	13/02/2006	207680	2297983	estimation visuelle (indice)		1
31	Pointe Kerpers	13/02/2006	207850	2297968	estimation visuelle (indice)		4
32	Pointe Kerpers	13/02/2006	207894	2297916	estimation visuelle (indice)		1
33	Pen Castel	13/02/2006	208427	2296719	5 quadrats de 0,1m ²		4
34	Ile aux oiseaux(point de vue)	14/02/2006	218553	2296023	5 quadrats de 0,1m ²	50	5
35	Ile aux oiseaux(point de vue)	14/02/2006	218629	2296067	estimation visuelle (indice)	15	4
36	Ile Trohennec	14/02/2006	218488	2296247	5 quadrats de 0,1m ²	31	5
37	Ile Trohennec	14/02/2006	218409	2296153	10 quadrats de 0,1m ²	39	4
38	Roguédas	16/02/2006	214508	2303756	5 quadrats de 0,5m ²	20	3
39	Roguédas	16/02/2006	214291	2303557	5 quadrats de 0,5m ²	20	3
40	Roguédas	16/02/2006	214026	2303483	5 quadrats de 0,5m ²	20	3
41	St Gildas - Govelin	17/02/2006	209589	2291428	5 quadrats de 0,1m ²	19	5
42	St Gildas - Govelin	17/02/2006	209589	2291387	5 quadrats de 0,5m ²	10	3
43	St Gildas - Govelin	17/02/2006	209582	2291343	5 quadrats de 0,1m ²	20	5
44	Ile aux moines- Anse du Guip	19/02/2006	209820	2298886	5 quadrats de 0,5m ²	16	3
45	Ile aux moines- Pointe Brannec	19/02/2006	209855	2298721	5 quadrats de 0,5m ²	10	3
46	Ile aux moines- Pointe Brannec	19/02/2006	210202	2298207	5 quadrats de 0,5m ²	15	3
47	Ile aux moines- Pointe Brannec	19/02/2006	209920	2298048	5 quadrats de 0,5m ²	11	3

ANNEXE 4

Sex-, gametogenesis, and tidal height-related differences in
levels of HSP70 and metallothioneins in the Pacific oyster
Crassostrea gigas

Anne-Leila Meistertzheim, Morgane Lejart, Nelly Le Goïc, Marie-Thérèse
Thébault

Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 152 (2009)



Sex-, gametogenesis, and tidal height-related differences in levels of HSP70 and metallothioneins in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*

Anne-Leila Meistertzheim^{*}, Morgane Lejart, Nelly Le Goïc, Marie-Thérèse Thébault

Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR), UMR CNRS 6539, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne occidentale, 29280 Plouzané, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 June 2008

Received in revised form 2 October 2008

Accepted 2 October 2008

Available online 17 October 2008

Keywords:

Crassostrea gigas

Reproduction

Heat shock proteins

Metallothioneins

Sex

Gonad

Maturation stage

ABSTRACT

Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, living at a range of tidal heights, routinely encounter large fluctuations in temperature. We demonstrate that levels of heat shock proteins (HSP) and other stress proteins (metallothioneins, MTs) quantified by ELISA, remained similar in gills, mantle and digestive gland between oysters inhabiting low and high tidal heights. In contrast, endogenous HSPs and MTs levels in gonad changed significantly during gametogenesis. In female gonads, the constitutive form of HSP70 and the MTs increased from immature (or resting) to mature stages (about more than 3-fold) and decreased after spawning. In male gonads, the same expression patterns were observed, whereas proteins levels decreased once fully mature. Females presented higher concentration of HSP70 and MTs than males during the spawning period. No significant difference in HSPs and MTs patterns was found among oysters sampled at low and high tidal heights. We hypothesize that the high level of stress proteins in eggs may increase survival of oyster progeny.

Published by Elsevier Inc.

1. Introduction

The Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789) is an important commercial species and has been successfully introduced into many parts of the world for aquaculture (Wolff and Reise, 2002). Oysters reproduced successfully within several years and as a consequence, wild populations are now found outside the culture plots. *C. gigas* is a protandric hermaphrodite species with a sex determinism more under genetic rather than environmental factors (Guo et al., 1998). Juveniles usually mature as male and could change to female later in life (Coe, 1943; Galtsoff, 1964). However, once gametogenesis has begun, oysters are unable to change sex until after they have spawned and the gonad is undifferentiated (Guo et al., 1998). The gonad of an oyster is not a discrete organ; rather, it is comprised of a network of tubules interspersed in connective tissue and surrounding the digestive gland (Lubet et al., 1976). Different germ cell developmental stages can occur simultaneously in the gonad including undifferentiated cells, growing germ cells, and mature gametes resulting in multiple cohorts of germ cells, each with synchronous development (Fabioux et al., 2004). Despite this, reproductive development is relatively synchronized during the year (Lango-Reynoso et al., 2000). Complex interactions between tem-

perature and food quality and quantity affect gametogenesis of *C. gigas* (Chavez-Villalba et al., 2003). Reproductive development is temperature dependent in *C. gigas* and occurs typically from February to September along the western Atlantic coast of France (Berthelin et al., 2000). Spawning occurs at a minimum seawater temperature of approximately 19 °C (Mann, 1979).

C. gigas inhabits intertidal areas where it is exposed to extreme physiological conditions during low tides (Newell, 1979). This species experiences water temperatures ranging from 4–24 °C (Quayle, 1969). Furthermore, *C. gigas* body temperatures may exceed ambient air temperature and regularly approach sublethal thermal limits (43–44 °C, 1 h) (Clegg et al., 1998; Helmuth and Hofmann, 2001). One physiological adaptation to living in a stressful habitat such as the intertidal zone is the synthesis of molecular chaperones (Feder and Hofmann, 1999). Molecular chaperones such as heat-shock proteins (HSPs) act to rescue damaged proteins and prevent them from aggregating, thereby helping conserve the pool of existing proteins from irreversible damage (Parsell and Lindquist, 1993; Fink, 1999). Among HSP families, the most studied proteins are members of the 70-kDa heat shock protein (HSP70) family. In oysters, (HSP) family is composed of both environmentally inducible (HSP) and constitutively expressed (HSC) family members (Clegg et al., 1998) that are encoded by distinct genes (Courdon et al., 2000). Three isoforms of HSP70 family proteins were characterized in *C. gigas*. Two proteins, HSC77 and HSC72, are constitutively expressed, and their level of expression increases after acute thermal stress. *C. gigas* can express an inducible form protein, HSP69, typically only detectable after acute heat or cold thermal stress (Clegg et al., 1998; Airaksinen et al., 2003). In Pacific

^{*} Corresponding author. Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, UMR CNRS 6539, Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France. Tel.: +33 2 98 49 88 61; fax: +33 2 98 49 86 45.

E-mail address: leila.meistertzheim@gmail.com (A.-L. Meistertzheim).

oysters, a single sublethal thermal shock is sufficient to cause significant HSP69 expression and also results in induced thermo-tolerance for a remarkably prolonged period of up to 2 weeks (Clegg et al., 1998). In invertebrates, a great deal of plasticity in the threshold induction temperature for HSPs was observed in gill tissues as a function of season, tidal height (Roberts et al., 1997; Halpin et al., 2002; Hamdoun et al., 2003) and spawning (Li et al., 2007).

Metallothioneins (MTs) are low-molecular weight, cysteine rich stress proteins. The presence of cysteine in MTs confers substantial metal binding capabilities. Metallothioneins play a role in the metabolism of the relatively non-toxic essential metals (zinc and copper) (Dunn, 1987) as well as in the detoxification of toxic metals such as cadmium (Viarengo and Nott, 1993). Three MT genes were identified in *C. gigas* and have been shown to be inducible by metallic stress (Tanguy and Moraga, 2001). During oxidative stress, synthesis of MTs may increase several-fold (Thornalley and Vasak, 1985) to protect the cells from cytotoxicity (Aschner et al., 1998) and DNA damage (Cai et al., 1995). Upregulation of MTs was observed also in response to cold stress in a marine gastropod *Littorina littorea* (English and Storey, 2003).

The threshold variations and levels of HSPs and MTs are still unknown at organismal and tissues levels during gametogenesis, whereas expression of these proteins are routinely used as water quality tools of environment. These proteins levels could be also influenced by different factors like sex, maturation stage or tidal height, taking separately or together. The aim of the present study is to improve our knowledge about baseline levels of both HSP70 and MTs during gametogenesis, in both uncontaminated female and male *C. gigas*. The expression of soluble HSP70 and MTs was quantified in several organs of oysters from two different tidal heights in conjunction with oyster sex and gametogenic stage. Oysters were chosen from a non-contaminated site in order to measure proteins levels in relation to reproductive development and spawning without the influence of anthropogenic stress.

2. Materials and methods

2.1. Sampling

Adult oysters, *C. gigas*, were collected from a non-contaminated site of Brest (Squiffiec, France (48°22'26"N) with mean sea water temperatures of 9.0 °C in February and 19.3 °C in August. At this site, oysters were sampled at high and low tidal heights (corresponding to emersion times of 50% and 30%, respectively). Fifteen oysters were collected monthly in 2005, with two sampling per month during the gametogenic period (from April to September). For each animal, gills, mantle and digestive gland were dissected, frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C until analyses; a 3-mm cross section of the visceral mass was also excised for histological examination as described below.

2.2. Histological analysis

A standard section of the visceral mass was taken at the intersection of the mantle and gonad, fixed in Bouin's fluid for 24 h.

Table 1
Reproductive scale for *Crassostrea gigas* according to the modified scheme proposed by Lubet (1959)

Stage	Histological description
0	Sexual rest. Indeterminate sex. Rare acini with germinal cells
I	Proliferation of gonad and number of acini.
II	Beginning of maturation of sexual cells. Some mature gametes.
III	Follicles completely filled of mature gametes (relatively homogeneous size)
IV	Follicles containing degenerating gametes. Oocytes often elongated in shape sometimes broken. Obvious redevelopment indicated by increased number of primary oocytes.
V	Rest post-spawning. Indeterminate sex.

Tissues were dehydrated through an ascending ethanol series and embedded in paraffin. Deparaffinized 5-µm-thick sections were stained according to the trichrome protocol (Gabe, 1968) and examined under a light microscope to determine sex and gametogenic activity. Morphological condition of the gonad was classified according to the modified scheme proposed by Lubet (1959): stage 0, resting stage, stage I, multiplication of gonad, stage II, progression of gametogenesis, stage IIIA, ripe gonad; stage IIID, reabsorbing stage, IV post-spawning (Table 1).

2.3. Quantification of HSP70, MTs and eggs by ELISA

Sex and gametogenic stage were identified in all the samples. Five oysters from each sampling date, at each tidal height were grouped by sex and stage. For each category, samples of gills, gonads and digestive glands were collected, homogenized in protein extraction buffer (150 mM NaCl, 10 mM NaH₂PO₄, 1 mM phenylmethanesulfonyl fluoride pH=7.2) and centrifuged. Protein concentration was estimated with a Dc Protein Assay kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) using BSA as the standard. Optical density was measured at 620 nm using a microplate reader. Microtiter plates were coated with 20 µg well⁻¹ of total proteins and incubated over night at 4 °C. HSP70 and MTs concentrations were estimated by ELISA using rabbit anti-CgHsc72 and anti-CgMt biotinylated polyclonal antibodies and recombinant CgHsc72 and CgMt proteins, respectively, as standards, according to procedures previously described (Boutet et al., 2002, 2003). Because the gonad tissue develops between the digestive gland and mantle during gametogenesis, it was not possible to remove all the gonad tissue from the digestive gland. Egg protein levels were quantified and considered as a "contamination" in the digestive gland. Polyclonal antibodies developed from egg proteins of *C. gigas* (Kang et al., 2003) were used on the same samples to estimate the presence of oocytes in digestive gland samples according to the procedure described by the authors. To create a standard curve, proteins were extracted from purified oyster eggs and 10-fold serial dilutions and assayed in triplicate. HSP70, MT and egg proteins were quantified for each individual from gonad and digestive gland tissue samples. Corrections were made for HSP70 and MTs levels of the digestive gland using HSP70 and MTs levels measured in oocytes and percentage of oocytes in digestive gland.

2.4. Western blotting immunoassay for HSP70 family

Western blots of oysters HSP70 family were prepared according to Clegg et al. (1998). Briefly, aliquots (10 µg) of each solubilized sample were resolved in duplicate on a 10% SDS-polyacrylamide gel. To normalize between blots, an aliquot of a "reference sample" of heat-shocked oyster gill was added to the first and last lanes of each gel (soluble protein obtained by heat shocking four oysters for 1 h at 37 °C followed by a 48 h accumulation period at ambient temperature). This reference was known to contain isoforms HSP72 and HSP69 of the HSP70 family. Blotting procedures consisted of transferring proteins onto nitrocellulose (0.45 µm). The blot was blocked with 1% Bovine Serum Albumin in TTBS (0.05% Tween-20, 500 mM NaCl, 15 mM Tris, pH 7.5) overnight at 4 °C, followed by two washes in TBS (500 mM NaCl, 15 mM Tris, pH 7.5) for 10 min. Blots were cut in the center lane and two different blots were prepared simultaneously. The left half of each blot was probed with Affinity BioReagents monoclonal anti-hsp-70, clone 7.10 (catalogue number MA3-006, Golden, Colo.), to recognize HSC72 and HSP69. The right half of each blot was probed with rabbit anti-CgHsc72 polyclonal antibodies previously used in the ELISA assay. Antibody dilutions (1:3000 primary antibody applied for 2 h and 1:1000 secondary antibody applied for 1.5 h) used were selected to ensure that the quantity of antigen, not antibody, was limiting. Secondary antibodies consisted of mouse-antihuman IgG and goat-antirabbit IgG, respectively, conjugated to horseradish

peroxidase (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.). Labeled proteins were detected with ECL Western blotting reagents (Amersham Corp., Arlington Heights, Ill.) using Kodak BioMax MR single emulsion film (Eastman Kodak Co., Rochester, N.Y.). The size of individual protein bands were estimated by regression against a standard curve of known molecular weight proteins.

2.5. Statistical analysis

The data obtained were not normally distributed. Differences between oysters at different tidal heights were tested using *U*-test of Mann–Whitney at each gametogenic stage. Differences between gametogenic stages for oysters at the same tidal height were identified using a Kruskal–Wallis ANOVA and a sequential Bonferroni correction

of the *p*-value. All statistical analyses were carried out with Statistica Software (Statsoft) at a significance level of $\alpha=0.05$.

3. Results

3.1. Quantification of HSP70 and MTs by ELISA

HSP70 and MT protein levels measured by ELISA appeared to be tissue dependant and showed similar patterns at each stage for each sex ($p>0.05$). No significant difference in baseline levels was detected between oysters sampled during the winter (stage 0) and the summer (stage III) in mantle, gills and digestive gland tissues. Although, no difference in gonadal HSPs and MTs levels was observed between oysters at low and high tidal heights, within each group, differences

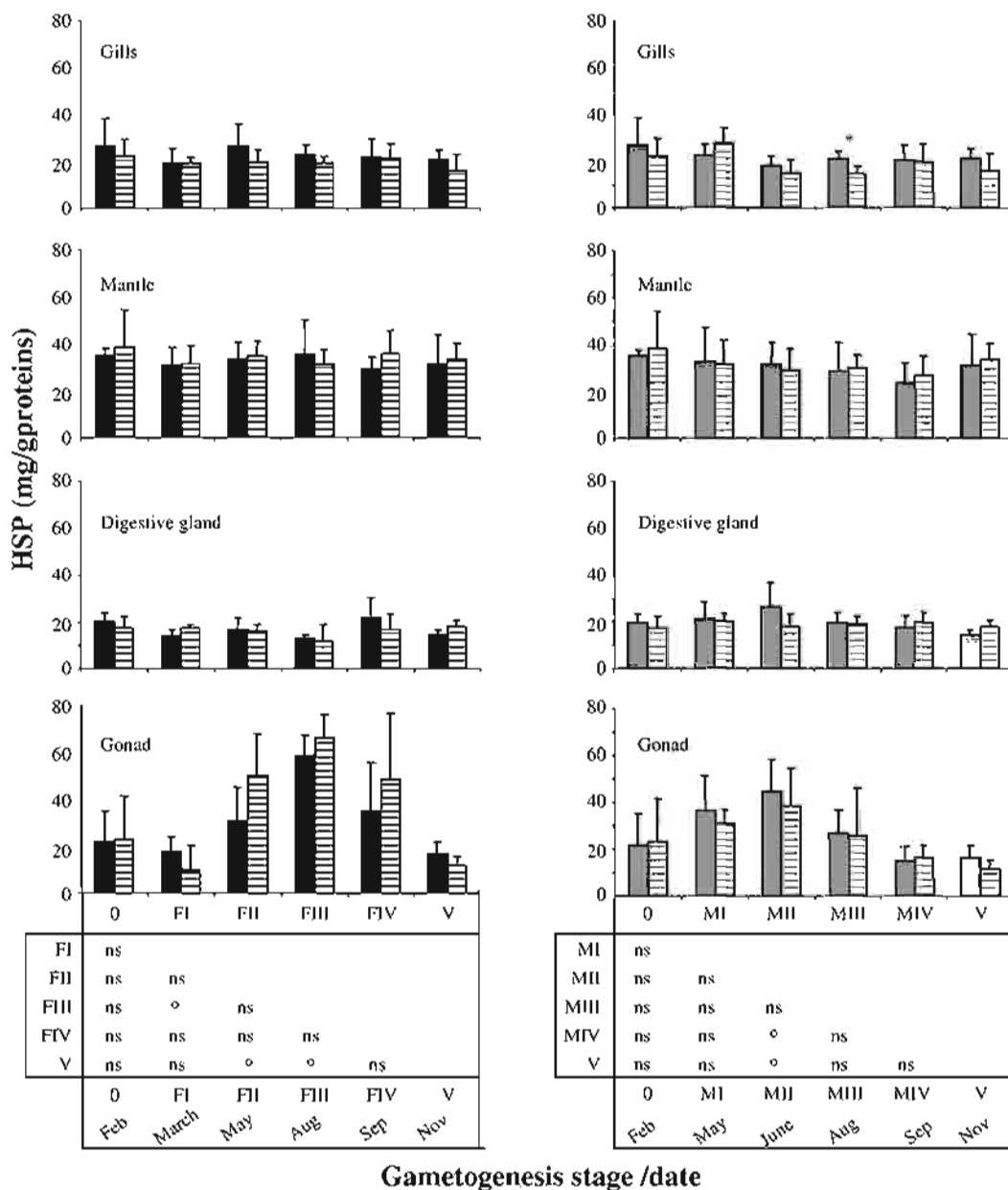


Fig. 1. Quantification of HSP70 in *Crassostrea gigas* during the spawning cycle in females in dark (1) and males in grey (2) for each gametogenesis stage: sex-indeterminate (indicated by 1) at stage 0, resting stage; stage I, multiplication of gonad; stage II, progression of gametogenesis; stage III, ripe gonad; stage IV, restoring stage and stage V, reabsorbing stage. Quantification of HSP70 in gills, mantle, gonad and digestive gland. Bars represent the mean of five individuals per sampling point within each gametogenesis stage; error bars correspond to standard deviation. Hatched bars and solid bars represent the HSP70 levels at high and low tidal height, respectively. * Significant differences at $p<0.05$ between oysters at high and low tidal height at the same gametogenesis stages. * Significant differences at $p<0.05$ after sequential corrections of Bonferroni between gonad stages.

were observed between sex and gametogenic stages (Figs. 1 and 2). The highest HSP70 levels were obtained from females with ripe gonad tissue (stage III; $p < 0.02$) and corresponded to approximately 6% of the total amount proteins extracted from gonad tissue. Conversely, the lowest HSP70 levels were obtained from stage I females. Maximum levels of HSP70 were lower in males than in females ($p < 0.04$). Levels of HSP70 measured increased in females from stage 0 (rest) to the stage III (ripe) and decreased from stage IV (restoring stage) to stage V (post-spawning). For males, the HSP70 levels increased significantly from stage 0 until stage II (growing) and decreased from stage III to the stage V (Fig. 1). A similar pattern was observed for MTs levels in both males and females (Fig. 2). The highest MTs levels were obtained in females, in the ripe gonad (stage III) corresponding to 0.7% of the total amount proteins.

HSP and MT levels were similar between oysters from low and high intertidal heights ($p > 0.05$). In gills and digestive gland, few significant differences were observed between oysters groups within the same stage of gametogenesis. HSP levels were slightly but significantly higher in gills from male oysters at stage III sampled from the low tidal level than those from high tidal height ($p < 0.026$). Digestive gland MTs levels were significantly higher in oysters at low than at high tidal height for the stage V in gills, IV in females and II in males ($p < 0.028$, $p < 0.047$, $p < 0.021$, respectively).

3.2. Identification of HSP70 isoforms quantified by ELISA

The isoforms of HSP70 family measured by ELISA were identified by western blot as HSC72 in comparison with the reference sample

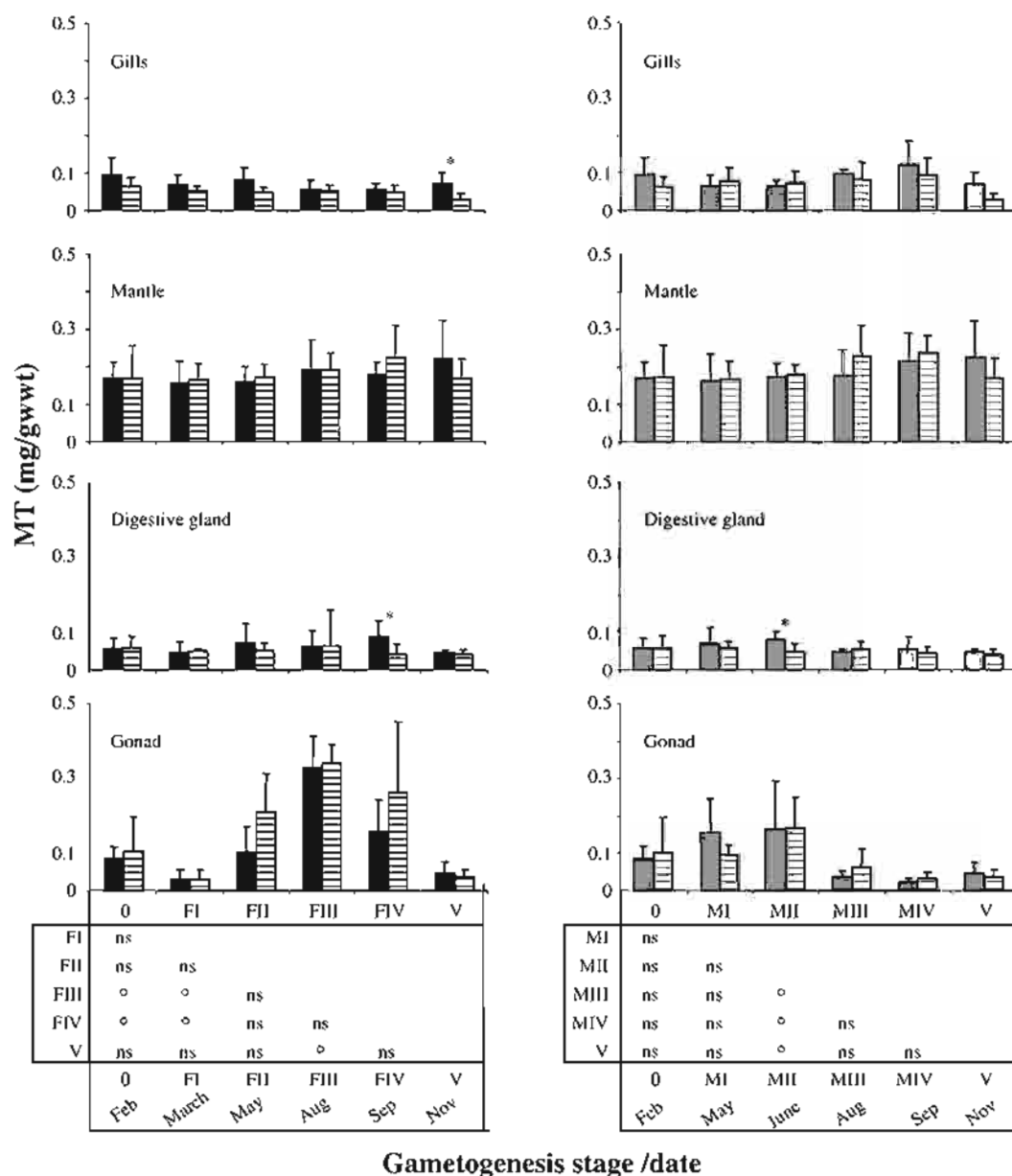


Fig. 2. Quantification of MTs in *Crassostrea gigas* during the spawning cycle in females in dark (1) and males in grey (2) for each gametogenesis stage: sex-indeterminate (indicated by 1) at stage 0, resting stage, stage I, multiplication of gonia, stage II, progression of gametogenesis, stage III, ripe gonad; stage V, restoring stage and stage IV, reabsorbing stage. Quantification of MTs in gills, mantle, gonad and digestive gland. Bars represent the mean of five individuals per sampling point within each gametogenesis stage; error bars correspond to standard deviation. Hatched bars and solid bars represent the MTs levels at high and low tidal height, respectively. * Significant differences at $p < 0.05$ between oyster at high and low tidal height at the same gametogenesis stages. ° Significant differences at $p < 0.05$ after sequential corrections of Bonferroni between gonad stages.



Fig. 3. Heat shock protein expression in oyster tissues at varying reproductive stages using polyclonal rabbit anti-CgHsc72 antibody (A) and a commercial monoclonal mouse anti-HSP70 (B). Lanes 1 and 2 contain digestive gland tissue in oysters with a resting gonad and mature female gonad, respectively. Lane 3 represents gonadal tissue from the same oyster in Lane 2. Lane 4 represents control (gill tissue) of a 37 °C heat-shocked oyster. Molecular mass is shown on the right.

that contained HSC72 and HSP69. The constitutive form HSC72 was identified in gonadal, gills and digestive gland at stages 0 and III for each oysters group (Fig. 3).

4. Discussion

4.1. Expression patterns of HSP70 and MTs in gonads during gametogenesis

In the present study, the observation of significant differences in levels of HSPs and MTs in gonads of *C. gigas* tissues during gametogenesis suggests an important role for these stress proteins during reproduction. Interestingly, similar HSP70 and MTs pattern were observed in association with a significant increase of protein levels during maturation of this tissue. In males, HSPs and MT levels increased with development of the gonad with a maxima in developing but not ripe stages. In females, levels continued to increase until maturation of oocytes, which are naturally arrested at the first division of meiosis, and decreased precipitously after spawning. When maximally ripe, the gonad is almost entirely composed of oocytes at more than 90% (Lubet, 1959) suggesting the presence of HSP70 and MT in oocytes as opposed to other gonad associated tissue (e.g. gonad epithelium that is a larger component of immature gonad). Maturing oocytes contained 41% of total proteins (Kang et al., 2003), and of these, cognate HSP70 and MTs levels represented 6% and 0.7%, respectively. The essential role of constitutive HSP70 molecular chaperone has been previously determined for sea urchin oocytes (Geraci et al., 2003) and mice spermatozooids meiosis (Eddy, 1998). The high levels of MTs and HSP72 in female and male gonads detected in this study suggest a role for MTs during meiosis.

High HSP72 and MTs levels in oyster oocytes also suggest a protective role in mitosis in embryo–larval stages at first stages of cell division. MTs have been previously shown to be localized in the nucleus of oyster oocytes (Moraga et al., 2001) and in oyster embryos (Ringwood and Brouwer, 1995). Cell division is a key element in the development of embryos and also some diseases such as various cancers. MTs play a significant role in processes of cellular protection from actions of harmful agents (metals, free radicals, etc.) and in mechanisms which control growth, differentiation and proliferation of human cells (Dziegiel, 2004), for review) explaining their nuclear vs. cytoplasmic localization. In addition, the essential role of constitutive HSP70 molecular chaperone has been also previously determined for mitosis during early embryo cleavage of undifferentiated cells (Sconzo et al., 1999).

High levels of MTs in oocytes could increase the chance of larval survival in a variable environment. Early embryo–larval stages of bivalve mollusks have been shown to be highly sensitive to micropollutants, particularly to metals (Calabrese et al., 1977; Martin et al., 1981). The importance of MTs in ameliorating metal toxicity in bivalves has been well demonstrated in adults (Roesijadi, 1992) and also in embryo–larval stages of mollusks (Roesijadi et al., 1996). MT induction in larvae of *C. gigas* exposed to metal contamination occurs only when gametes are obtained from parents at maximum sexual maturity (Damiens et al., 2006); e.g. when gametes reach maximal size). Induction of HSP70 in American horseshoe crab, *Limulus*

polyphemus L. larvae occurs a few hours after heat shock and is correlated to high larvae survival; however, this stress protein was not similarly induced in embryos (Botton et al., 2006). (Anderson and Nusslein-Volhard, 1984) showed that during the oogenesis, maternal mRNA and proteins are transported from follicle cells into the oocytes and affect embryo development. In this study, high levels proteins in oocytes suggest that HSP70 and MTs levels in embryos are provided via maternal transmission. The high baseline of these proteins in *C. gigas* oocytes may be an effective strategy to respond to environmental stress encountered by benthic, negatively buoyant embryos and pelagic larvae of these intertidal organisms.

4.2. Seasonal and intertidal variations of stress proteins in mantle, gills and digestive gland

Contrary to observations in gonads, no significant differences were measured in HSPs and MTs levels during gametogenesis of *C. gigas* in gills, mantle and digestive gland over the course of the year examined. However, stress protein levels have been shown to be differentially expressed among these tissues in response to various stressors (David et al., 2005) and references therein). Sessile intertidal invertebrates are of particular interest, because they are often exposed to extreme environmental fluctuations, including seasonal and tidal cyclic temperature changes during periods of emersion and immersion (Helmuth, 1999). Physiological stressors such as hypoxia and desiccation may contribute to the influence of temperature on HSPs induction (Feder and Hofmann, 1999). HSP70 levels are often studied using gill or digestive gland tissue to examine responses to stress with higher levels found in the digestive gland than in the gills (David et al., 2005). Bivalve HSPs or MTs expression in response to seasonal thermal changes were followed over the course of the year in several bivalves (English and Storey, 2003; Hamdoun et al., 2003). For example, HSPs levels in gills mussels showed higher HSP70 levels in summer than in winter (Hofmann and Somero, 1995; Chapple et al., 1998). Seasonal HSPs levels varied also with tidal height of mussels in the rocky intertidal zone, corresponding to different environmental stress (Helmuth and Hofmann, 2001). *C. gigas* higher HSP72 levels were measured in winter than in summer in gills of cultured individuals and were also positively correlated to tidal height (Hamdoun et al., 2003). Contrary to this study, we observed few differences in stress proteins expression between individuals at high than at low tidal heights. Tidal height did not strongly influence HSPs or MTs levels in wild oysters. It is important to consider that physiological and biological factors in response to culture practices, such as hypoxia, high density of pathogens and proximity to sediment, are typically strong stressors (Soletchnik et al., 2005; Burge et al., 2007) and could induce HSPs (David et al., 2005; Encomio and Chu, 2005). In contrast, the absence of strong variation in the baseline levels of MTs and constitutive HSP70 during the year and at two different tidal heights in our study could suggest an absence of strong stress during the 2005 year in wild oyster's populations or perhaps reflecting differences between culture and wild oysters due to culture practices.

Finally, high levels of MTs and constitutive HSP70 were only correlated with the presence of gametes suggesting a protective role for progeny. Its important to remember that oyster spawning in summer is triggered by elevated temperature and is associated with the expenditure of energy (Berthelin et al., 2000; Mao et al., 2006). HSP69 can be induced after a heat shock in gills of adult oysters before spawning and has been correlated to an increase of thermotolerance before but not after spawning (Li et al., 2007). The energy expended during gametogenesis appears to compromise their thermotolerance, leaving oysters easily subjected to mortality if stress occurs in post-spawning. In contrast, high HSP70 and MTs levels in oyster oocytes could increase the potential for larval survival and, consequently, of this species by protecting the early embryo–larval stages from stress (Hamdoun and Epel, 2007). Despite the energetic demand of stress

protein production, high levels of HSPs and MTs in oocytes likely increase the ability of developing embryos and larvae to survive in stressful environments, and therefore would constitute a strong adaptation strategy for this species.

Acknowledgements

We are grateful to A. Marhic for his help during the sampling and to L. Coïc for her help in the histological study. We are grateful to C. Segueineau and Kyung-II Park for supplying of the polyclonal antibody developed from egg proteins, to D. Moraga for the antibody against HSC72 and MTs of *Crassostrea gigas*. We applied the F.L.A.E. (first-last-author emphasis) approach for the sequence of authors. This research program was financially supported by the national program PROGIG (Prolifération de *Crassostrea gigas*, LITEAU II). Sincere thanks are due to C. Friedman for her helpful suggestions and English corrections.

References

- Airaksinen, S., Jokilehto, T., Rabergh, C.M.J., Nikinmaa, M., 2003. Heat- and cold-inducible regulation of HSP70 expression in zebrafish ZF4 cells. *Comp. Biochem. Physiol.* 8, 136, 275–282.
- Anderson, K.V., Nusslein-Volhard, C., 1984. Information for the dorsal-ventral pattern of the *Drosophila* embryo is stored as maternal mRNA. *Nature* 311, 223–227.
- Aschner, M., Conklin, D.R., Yao, C.P., Allen, J.W., Tan, K.H., 1998. Induction of astrocyte metallothioneins (MTs) by zinc confers resistance against the acute cytotoxic effects of methylmercury on cell swelling, Na⁺ uptake, and K⁺ release. *Brain Res.* 813, 254–261.
- Berthelin, C., Kellner, K., Mathieu, M., 2000. Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (west coast of France). *Comp. Biochem. Physiol.* 8, 125, 359–369.
- Botton, M.L., Pogorzelska, M., Smoral, L., Shehata, A., Hamilton, M.G., 2006. Thermal biology of horseshoe crab embryos and larvae: a role for heat shock proteins. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 336, 65–73.
- Boutet, I., Tanguy, A., Auffret, M., Riso, R., Moraga, D., 2002. Immunohistochemical quantification of metallothioneins in marine mollusks: characterization of a metal exposure bioindicator. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 1009–1014.
- Boutet, I., Tanguy, A., Rousseau, S., Auffret, M., Moraga, D., 2003. Molecular identification and expression of heat shock cognate 70 (hsc70) and heat shock protein 70 (hsp70) genes in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Cell Stress Chaperones* 8, 76–85.
- Burge, C.A., Judah, L.R., Conquest, L.L., Griffin, F.J., Cheney, D.P., Suhrieber, A., Vadopalas, B., Olin, P.G., Renault, T., Friedman, C.S., 2007. Summer seed mortality of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) grown in Tomales Bay, California, USA: the influence of oyster stock, planting time, pathogens, and environmental stressors. *J. Shellfish Res.* 26, 163–172.
- Cai, L., Koropatnick, J., Chenian, M.G., 1995. Metallothionein protects DNA from copper-induced but not iron-induced cleavage in vitro. *Chem. Biol. Interact.* 96, 143–155.
- Calabrese, A., MacInnes, J.R., Nelson, D.A., Miller, J.E., 1977. Survival and growth of bivalve larvae under heavy-metal stress. *Mar. Biol.* 41, 179–184.
- Chapple, J.P., Smerdon, G.R., J. B.R., S., H.J., 1998. Seasonal changes in stress-70 protein levels reflect thermal tolerance in the marine bivalve *Mytilus edulis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 229, 53–68.
- Chavez-Villalba, J., Cochard, J.C., Pennec, M., Barret, J., Enriquez-Diaz, M., Caceres-Martinez, C., 2003. Effects of temperature and feeding regimes on gametogenesis and larval production in the oyster *Crassostrea gigas*. *J. Shellfish Res.* 22, 721–731.
- Clegg, J.S., Uhlinger, K.R., Jackson, S.A., Cherr, G.N., Riklin, E., Friedman, C.S., 1998. Induced chaperonin and the heat shock protein-70 family in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 7, 21–30.
- Coe, W.R., 1943. Sexual differentiation in molluscs. *Quart. Rev. Biol.* 18, 154–164.
- Damiens, C., Mouneyrac, C., Quiniou, F., His, E., Grassia-Barelli, M., Roméo, M., 2006. Metal bioaccumulation and metallothionein concentrations in larvae of *Crassostrea gigas*. *Environ. Pollut.* 140, 492–499.
- David, E., Tanguy, A., Pichavant, K., Moraga, D., 2005. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hypoxia exposure under experimental conditions. *FEBS J.* 272, 5635–5652.
- Dunn, M.A., 1987. Metallothionein. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 185, 107–119.
- Dziegiel, P., 2004. Expression of metallothioneins in tumor cells. *Pol. J. Pathol.* 55, 3.
- Eddy, E.M., 1998. HSP70-2 heat-shock protein of mouse spermatogenic cells. *J. Exp. Zool.* 282, 261–271.
- Encarnio, V.G., Chu, F.L.E., 2005. Seasonal variation of Heat Shock Protein 70 in eastern oysters (*Crassostrea virginica*) infected with *Perkinsus marinus* (Dermo). *J. Shellfish Res.* 24, 167–175.
- English, T.E., Storey, K.B., 2003. Freezing and anoxia stresses induce expression of metallothionein in the foot muscle and hepatopancreas of the marine gastropod *Littorina littorea*. *J. Exp. Biol.* 206, 2517–2524.
- Fabio, C., Pouvreau, S., Le Roux, F., Huvel, A., 2004. The oyster vasa-like gene: a specific marker of the germline in *Crassostrea gigas*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 315, 897–904.
- Feder, M.E., Hofmann, G.E., 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annu. Rev. Physiol.* 61, 243–282.
- Fink, A.L., 1999. Chaperone-mediated protein folding. *Physiol. Rev.* 79, 425–449.
- Gabe, M., 1968. *Techniques Histologiques*. Paris.
- Galtsoff, P.S., 1964. The American oyster *Crassostrea virginica* Cmelin. *Fish. Bull.* 64, 1–480.
- Geraci, F., Agueli, C., Giudice, C., Sconzo, G., 2003. Localization of HSP70, Cdc2, and cyclin B in sea urchin oocytes in non-stressed conditions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310, 748–753.
- Gourdon, I., Gricourt, L., Kellner, K., Roch, P., Escoubas, J.M., 2000. Characterization of a cDNA encoding a 72 kDa heat shock cognate protein (Hsc72) from the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *DNA Seq.* 11, 265–270.
- 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* Thunberg. *Evolution* 52, 394–402.
- Halpin, P.M., Sorte, C.J., Hofmann, G.E., Menge, B.A., 2002. Patterns of variation in levels of Hsp70 in natural rocky shore populations from microsites to mesoscales. *Integr. Comp. Biol.* 42, 815–824.
- Hamdoun, A., Epel, D., 2007. Embryo stability and vulnerability in an always changing world. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 1745.
- Hamdoun, A.M., Cheney, D.P., Cherr, G.N., 2003. Phenotypic plasticity of HSP70 and HSP70 gene expression in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): implications for thermal limits and induction of thermal tolerance. *Biol. Bull.* 205, 160–169.
- Helmuth, B., 1999. Thermal biology of rocky intertidal mussels: quantifying body temperatures using climatological data. *Ecology* 80, 15–34.
- Helmuth, B.S., Hofmann, G.E., 2001. Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. *Biol. Bull.* 201, 374–384.
- Hofmann, G., Somero, G., 1995. Evidence for protein damage at environmental temperatures: seasonal changes in levels of ubiquitin conjugates and hsp70 in the intertidal mussel *Mytilus trassulus*. *J. Exp. Biol.* 198, 1509–1518.
- Kang, S.G., Choi, K.S., Bulgakov, A.A., Kim, Y., Kim, S.Y., 2003. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) used in quantification of reproductive output in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Korea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 282, 1–21.
- 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). *J. Shellfish Res.* 19, 183–199.
- Li, Y., Qin, J.G., Abbott, C.A., Li, X., Benkendorf, K., 2007. Synergistic impacts of heat shock and spawning on the physiology and immune health of *Crassostrea gigas*: an explanation for summer mortality in Pacific oysters. *Am. J. Physiol.* 293, R2353–R2362.
- Lubet, P., 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (Mollusques, Bivalves). *Revue des Travaux de l'Office des Pêches Maritimes* 23, 389–545.
- Lubet, P., Herlin-Hourteville, P., Mathieu, M., 1976. La lignée germinale des mollusques pélecypodes. Origine et évolution. *Bull. Soc. Zool. Fr.* 101, 22–27.
- Mann, R., 1979. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 59, 95–110.
- Mao, Y., Zhou, Y., Yang, H., Wang, R., 2006. Seasonal variation in metabolism of cultured Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 253, 322–333.
- Martin, M., Osborn, K.E., Billig, P., Glickstein, N., 1981. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae. *Mar. Pollut. Bull.* 12, 305–308.
- Moraga, D., Meistertzheim, A.L., Tanguy-Royer, S., Boutet, I., Tanguy, A., Donval, A., 2001. Stress response in Cu²⁺ and Cd²⁺ exposed oysters (*Crassostrea gigas*): an immunohistochemical approach. *Comp. Biochem. Physiol. C* 141, 151–156.
- Newell, R.C., 1979. *Biology of Intertidal Animals*. Faversham, Kent: Marine Ecological Surveys Ltd. UK London.
- Parsell, D.A., Lindquist, S., 1993. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins. *Annu. Rev. Genet.* 27, 437–496.
- Quayle, O.B., 1969. Pacific oyster culture in British Columbia. *Fish. Res. Board Can. Bull.* a 169–192.
- Ringwood, A.H., Brouwer, M., 1995. Patterns of metallothionein expression in oyster embryos. *Mar. Environ. Res.* 39, 101–105.
- Roberts, D.A., Hofmann, G.E., Somero, G.N., 1997. Heat-shock protein expression in *Mytilus californianus*: acclimatization (seasonal and tidal-height comparisons) and acclimation effects. *Biol. Bull.* 192, 309–320.
- Roesijadi, G., 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquat. Toxicol.* 22, 81–114.
- Roesijadi, G., Hansen, K.M., Unger, M.E., 1996. Cadmium-induced metallothionein expression during embryonic and early larval development of the mollusk *Crassostrea virginica*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 140, 356–363.
- Sconzo, G., Palla, F., Agueli, C., Spinelli, C., Giudice, C., Cascino, D., Ceraci, F., 1999. Constitutive hsp70 is essential to mitosis during early cleavage of *Paracentrotus lividus* embryos: the blockage of constitutive hsp70 impairs mitosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 260, 143–149.
- Solotchnik, P., Lambert, C., Costil, K., 2005. Summer mortality of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in relation to environmental rearing conditions. *J. Shellfish Res.* 24, 197–207.
- Tanguy, A., Moraga, D., 2001. Cloning and characterization of a gene coding for a novel metallothionein in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (CGMT2): a case of adaptive response to metal-induced stress? *Gene* 273, 123–130.
- Thornalley, P.J., Vasak, M., 1985. Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochim. Biophys. Acta* 827, 36–44.
- Viarengo, A., Not, J.A., 1993. Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol. C* 104, 355–372.
- Wolff, W.J., Reise, K., 2002. Oyster imports as a vector for the introduction of alien species into Northern and Western European coastal waters. In: Leppäkoski, E., Gollasch, S., Olenin, S. (Eds.), *Invasive Aquatic Species of Europe: Distribution, Impacts and Management*. Kluwer, Dordrecht, pp. 193–205.

Résumé

L'huître creuse du Pacifique, *Crassostrea gigas* a été introduite en France à la fin des années 60 pour remplacer l'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, décimée par des maladies. Ce n'est cependant qu'à partir des années 90 que des populations sauvages se sont établies sur les estrans bretons. La première partie de cette étude a permis de montrer, qu'à l'exception de la zone nord-Finistère et des baies de Douarnenez et Audierne, l'ensemble des côtes bretonnes est actuellement colonisé par *C. gigas*. Des stocks de 10 000 et 6 420 tonnes ont été recensés en Rade de Brest et dans le Golfe du Morbihan. La seconde partie de cette étude a permis de préciser les facteurs déterminant la dynamique du processus invasif de *C. gigas*. La responsabilité du changement climatique dans l'établissement de *C. gigas* en Bretagne a ainsi été confirmée. Aucun recrutement de *C. gigas* n'a été observé dans la zone subtidale, réfutant ainsi les accusations d'exclusion de l'huître plate, *Ostrea edulis*. Enfin, l'impact de l'épisode de mortalité estivale massive des huîtres cultivées pendant l'été 2008 a été très faible dans les populations sauvages. L'analyse des conséquences écologiques de la prolifération de *C. gigas* sur les estrans bretons a été réalisée dans la dernière partie de cette étude. L'impact de *C. gigas* sur la communauté est net lorsque la colonisation s'intensifie et que de véritables récifs se forment, augmentant alors l'abondance et la diversité de la macrofaune. Les mesures de la production annuelle de carbone de la communauté intertidale rocheuse ont montré qu'elle est multipliée par plus de 20, lorsque *C. gigas* colonise le substrat en forte densité, atteignant 761,77 g C m⁻² an⁻¹.

Mots clés : Huître creuse, *Crassostrea gigas*, espèce invasive, réchauffement climatique, récif d'huîtres, reproduction, métabolisme, Bretagne, SIG.

Abstract

The Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, was introduced in France at the end of the sixties to replace the Portuguese oyster, *Crassostrea angulata*, decimated by disease. But only since the nineties that wild populations established on Brittany's shores. The first part of this study shows all Brittany coasts now to be colonized by *C. gigas*. Stocks of wild oysters are estimated at 10 000 and 6 420 tons in the Bay of Brest, and the Morbihan Bay, respectively. The second part of this study concerns factors determining *C. gigas* invasive process dynamics. The responsibility of climate change in the establishment of *C. gigas* in Brittany is confirmed. Results also highlight that *C. gigas* does not recruit in the subtidal zone, which refutes accusations of European oyster, *Ostrea edulis*, exclusion. Finally, monitoring of the summer 2008 massive mortalities reveals that wild populations were little impacted. Analysis of ecological consequences of *C. gigas* invasion on Brittany shores is done in the last part of this study. Impacts on communities become marked when colonization intensifies with the creation of oyster reefs, which increase macrofaunal abundance and diversity. Studies on respiration and calcification processes show that total annual carbon production of rocky intertidal communities is increased twenty fold, reaching 761,77 g C m⁻² year⁻¹ when high density populations of *C. gigas* establish (nearly 700 ind. m⁻²).

Keywords: Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, invasive species, global warming, oyster reef, reproduction, metabolism, Brittany, GIS.