



HAL
open science

Modélisation basée sur la théorie des budgets d'énergie dynamique de la cinétique de bioaccumulation des toxines paralysantes par l'huître creuse *Crassostrea gigas*

Emilien Pousse

► To cite this version:

Emilien Pousse. Modélisation basée sur la théorie des budgets d'énergie dynamique de la cinétique de bioaccumulation des toxines paralysantes par l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Ecotoxicologie. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2017. Français. NNT : 2017BRES0158 . tel-03670390

HAL Id: tel-03670390

<https://theses.hal.science/tel-03670390>

Submitted on 17 May 2022

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.

UNIVERSITE SCIENCES
BRETAGNE DE LA MER
LOIRE ET DU LITTORAL

THÈSE / UNIVERSITÉ DE BRETAGNE
OCCIDENTALE

sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE
OCCIDENTALE

Mention : Écologie Marine

École Doctorale des Sciences de la Mer et du
Littoral

présentée par

Émilien Pousse

Préparée à L'institut Universitaire
Européen de la Mer,
Laboratoire des Sciences de
l'Environnement Marin

Modélisation basée sur la théorie
des budgets d'énergie dynamiques
(DEB) de la cinétique de
bioaccumulation des toxines
paralysantes (PST) par l'huître
creuse *Crassostrea gigas*

Thèse soutenue le 21 Décembre 2017

devant le jury composé de :

Laurent BARILLÉ

Professeur, Université de Nantes / *Président du Jury*

Marion RICHARD

Chargée de Recherche, IFREMER / *Examinatrice*

Gary WIKFORS

Directeur de Recherche, NOAA / *Rapporteur*

Sébastien LEFEBVRE

Professeur, Université de Lille / *Rapporteur*

Fred JEAN

Professeur, Univ. de Bretagne Occidentale / *Directeur de Thèse*

Marianne ALUNNO-BRUSCIA

Chargée de Recherche, Ifremer / *Encadrant Scientifique*

Jonathan FLYE-SAINTE-MARIE

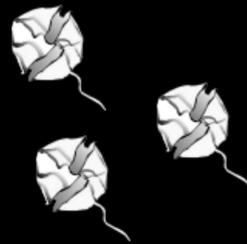
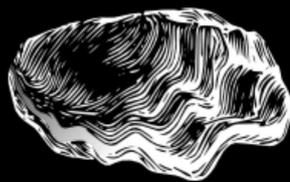
Maître de Conférence, Univ. de Bretagne Occidentale / *Encadrant Scientifique*

UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE – BREST
École doctorale des Science de la Mer – IUEM

Thèse de Doctorat de l'UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE
Mention : Écologie Marine

Modélisation basée sur la théorie des budgets
d'énergie dynamiques (DEB) de la cinétique de
bioaccumulation des toxines paralysantes (PST) par
l'huître creuse *Crassostrea gigas*

Emilien Pousse



Remerciements

Je souhaite exprimer ma gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à cette thèse.

Je remercie ainsi les financeurs de ce projet de thèse, la Région Bretagne, l'Université de Bretagne Occidentale ainsi que l'Agence Nationale de la Recherche.

Je remercie également les deux directeurs de laboratoire qui se sont succédé durant mon contrat, Olivier Ragueneau et Luis Tito de Morais de m'avoir accueilli au sein du LEMAR.

Je tiens à remercier Gary Wikfors et Sebastien Lefebvre d'avoir accepté d'être rapporteurs de mon manuscrit de thèse ainsi que Marion Richard et Laurent Barillé d'avoir examiné ma soutenance.

J'exprime ma profonde gratitude à mes trois encadrants Jona, Marianne et Fred pour la confiance que vous avez placée en moi durant ces trois années. J'ai beaucoup appris à votre contact, que ce soit le travail expérimental et la rigueur de Marianne, la pédagogie et la rédaction scientifique de Jona ou encore la capacité "multi-tâche" de Fred. Je pense que maintenant j'arriverai à me poser "LA" bonne question. J'ai beaucoup aimé travailler avec vous et je vous remercie pour toutes les discussions et échanges que nous avons eut et qui m'ont permis de progresser dans ce métier de chercheur et d'en être là aujourd'hui. Enfin, je retiendrai bien sûr tous ces bons moments de bonne humeur passés à vos côtés, j'espère sincèrement que nos chemins se recroiseront ! Je souhaite également remercier Hélène qui m'a beaucoup aidé tout au long de ce doctorat, à la fois pour les expérimentations et la rédaction des articles et de la thèse. Ça aura été un vrai plaisir de pouvoir travailler avec toi.

Je souhaite également remercier les porteurs et plus généralement les participants du projet ACCUTOX. Philippe, Caro, Arnaud, Audrey, Malwenn, Damien, Laura, Justine, Floriane, merci pour ces échanges enrichissant qui m'ont permis de découvrir de nouveaux domaines et de prendre du recul sur mon sujet de thèse.

Un gros merci à toute l'équipe d'Argenton qui m'a très bien accueilli et m'a donné un énorme coup de main pendant mes manips, Dom et Jacqueline aux algues, Bruno et Christian à l'élevage, Matthias, Loann et Valérian en salle de manip et de biom, Marion pour les mesures physico-chimiques et surtout Isa pour toutes ces tâches confondues. Je ne compte plus le nombre de fous rires et de rigolades sur fond de gipsy king ! En tout cas je compte sur toi pour bien t'occuper de Cassius ! Merci également à Steph, Mélaine, Marc, Seb et Carole pour la bonne humeur que vous faites régner dans ce labo ! Je vous reprends quand vous voulez à la pêche à la ligne !

Je remercie aussi Yves, Anne-So et Gene. Merci d'avoir été là (et toujours avec le sourire) quand j'arrivais un peu perdu avec mes problèmes administratifs. Je remercie également ceux qui m'ont formé à différentes machines ou techniques : Virgile à l'histologie, Adeline au broyage, Christophe et Nelly à la cytométrie.

Je remercie aussi particulièrement Mohamed, tu m'as initié aux joies de la recherche et à l'étude du phytoplancton. Sans toi je n'aurais certainement pas pu obtenir cette thèse.

Je remercie également celle qui aura été mon compagnon de galère du DEB, Mélaine. Même si au début c'était loin d'être gagné on aura réussi à aller au bout ! Je te souhaite plein de bonnes choses dans ta nouvelle vie de maman ! J'espère qu'on se reverra très vite. Et face à ces questions de modélisation, ces paramètres complexes et ces variables forçantes embêtantes, je voudrais remercier ceux qui m'ont permis d'avancer : Eric pour ces discussions sur fond de SU et ces

digressions toujours très intéressantes, Gonçalo, Yoann, Stéphane, Antoine, Romain pour m'avoir permis de me lancer et d'avancer dans le DEB et puis Laure. Tes mails ont parfois été synonymes de stress, souvent d'une grosse charge de travail mais toujours de bienveillance, merci pour ton aide.

Je souhaite dire un grand merci à tous ceux qui se sont succédés dans notre cher bureau A107, Lalo, Nolwenn, Laura, Bruno, Gael, Marc, Kevin, Morgan, Cloé, Mojito et Guinness. Quel plaisir c'était de voir vos tronches tous les matins (après-midi pour toi Gael) et de partager ces journées avec vous, je ne pense pas pouvoir retrouver une équipe comme ça !

Enfin je remercie l'équipe café/ping-pong/péteux de l'luem. C'est aussi grâce à vous que cette thèse s'est si bien déroulée, je vous en suis énormément reconnaissant et j'espère pouvoir retravailler ou juste boire un café avec vous très prochainement. Promis je repasse vous voir rapidement. Et puis il y a ceux qui sont devenus de vrais amis pour moi. Ceux avec qui j'ai pu partager une partie de pêche après une journée de boulot, un match de foot en amphî ou à Le Blé, un épisode de koh-lanta, une session surf, une discussion enflammée sur pourquoi Excelsior allait battre Mouscron, un tuning de voiture, un bon petit JUL, un jacuzzi à 4h du mat', des JDL sans pantalon ou à réaliser des formes bizarres avec nos doigts, une excursion sous le soleil de minuit en Laponie, des festivals tatoués en jouant à la roulette Suze ou à l'algopop, une partie de ramassage d'escargot ou de pêche à pied, une mamie Jeanine, un saut en parachute, des voyages à chanter du Shy'm et du Kendji, la construction d'une oeuvre d'art moderne dans un jardin de Lambé, un élevage de chat, une aventure en renault Captur, un apéro chez Pierrot, un épisode des recettes soviet, la dissimulation d'un camembert, une bière dans un bar ou même un simple café, je vous dis un énorme MERCI, je me rappellerai longtemps de tous ces moments, à très bientôt vous me manquez déjà !

Je remercie aussi Dorian, Guillaume et Paulin qui se sont déplacés jusqu'à Brest pour ma soutenance (et aussi un peu pour la soirée), ceux restés dans la Drôme et ceux qui ont partagé mes années fac. Merci pour tous les moments que l'on partage ensemble.

Je remercie ma famille, mes oncles, tantes, cousins, cousines et grands-parents, j'ai été beaucoup touché par votre présence à Brest et par vos soutiens, mes grands-pères qui m'ont permis de développer mon intérêt pour l'environnement. Je remercie particulièrement Clément, simplement merci d'avoir toujours été là. Je veux remercier celle qui m'a soutenu du début à la fin, je ne t'ai pas fait endurer que des choses faciles. Il a fallu surmonter l'éloignement et apprécier la cohabitation. Sache que je n'aurais pas pu aller au bout sans toi Éva, tu m'as rendu la période de rédaction agréable et ça ce n'est pas rien. J'ai énormément apprécié partager tous ces moments avec toi et je sais qu'il y en aura encore beaucoup d'autres, merci. Merci à ma soeur et mes frères, Honorine, Colin et Virgile, je suis très fier de vous. Je veux également remercier mes parents, vous avez toujours été d'un soutien indéfectible et n'avez jamais douté de moi. J'ai beaucoup de chance de vous avoir. Merci à vous tous, je vous aime.

À mes deux anges gardiens,

Table des matières

1	Introduction générale	1
1.1	Contexte	2
1.2	Le modèle biologique d'étude : <i>Crassostrea gigas</i>	5
1.2.1	Une espèce écologiquement et économiquement importante	5
1.2.2	Cycle de vie, reproduction et ploïdie	7
1.2.3	Anatomie	8
1.2.4	Nutrition et sélection des particules	10
1.3	Efflorescences de micro-algues toxiques, phycotoxines et leurs principaux effets sur les bivalves filtreurs	12
1.3.1	Généralités	12
1.3.2	Accumulation des PST chez les bivalves	18
1.3.3	Effets des PST sur les bivalves filtreurs	22
1.4	Modélisation et théorie des budgets d'énergie dynamiques (DEB)	27
1.4.1	La théorie DEB	27
1.5	Plan du manuscrit	31

I La variabilité inter-individuelle dans l'accumulation des PST chez *C. gigas* **33**

2	Sources de variabilité dans l'accumulation des PST chez <i>C. gigas</i>	37
2.1	Introduction	39
2.2	Material and methods	40
2.2.1	Biological material	40
2.2.2	Experimental setup and data collection	41
2.2.3	Data analysis	43
2.3	Results	44
2.3.1	Toxin accumulation in oyster tissues	44
2.3.2	Temporal evolution of oyster clearance rates	44
2.3.3	Inhibition of oyster clearance rate when exposed to <i>A. minutum</i>	46
2.3.4	Relationship between oyster algal consumption and toxin accumulation	46
2.3.5	Oyster tissues toxin concentration and toxins consumed	48
2.4	Discussion	49
2.4.1	Feeding behavior during an exposure to <i>A. minutum</i> drives toxin accumulation	49
2.4.2	Initial feeding response to <i>A. minutum</i> exposure	49
2.4.3	Mechanisms behind behavioral variability facing <i>A. minutum</i>	50
2.4.4	Toxin accumulation efficiency	52

2.5	Conclusion	53
2.6	Acknowledgements	54
3	Quelles différences physiologiques entre les groupes d'huîtres à potentiel d'accumulations de toxines différents ?	59
3.1	Introduction	60
3.2	Matériel et méthodes	61
3.2.1	Efficacité d'assimilation	61
3.2.2	Taux de respiration	61
3.2.3	Fréquence cardiaque	62
3.2.4	Données biométriques	62
3.3	Résultats	63
3.3.1	Efficacité d'assimilation	63
3.3.2	Taux de respiration	64
3.3.3	Fréquence cardiaque	65
3.3.4	Données biométriques	66
3.4	Discussion	67
 II Modéliser l'accumulation des toxines paralysantes par <i>Cras-</i>		
<i>sostrea gigas</i>		73
4	Comment prendre en compte la préférence alimentaire ?	77
4.1	Contexte et objectifs	78
4.2	Modèle "naïf"	79
4.2.1	Hypothèses	79
4.2.2	Mise en équation	79
4.2.3	Cas d'un bac fermé	79
4.2.4	Cas d'un système ouvert	81
4.3	Synthesizing units : modèle proposé pour <i>Pecten maximus</i>	84
4.3.1	Hypothèses et schéma	84
4.3.2	Mise en équation	84
4.3.3	Paramètres	85
4.3.4	Analyse dimensionnelle	86
4.3.5	Dérivation	86
4.3.6	Analyse des proxys pour les deux types de substrat	87
4.4	Synthesizing units : modèle simplifié	89
4.4.1	Hypothèse et objectifs	89
4.4.2	Mise en équation	89
4.4.3	Simulations	90
4.5	Comparaison des taux de consommation	92
4.5.1	Équations	92
4.5.2	Simulations	92
5	Accumulation des PST par <i>C. gigas</i> : modèle basé sur la théorie DEB	97
5.1	Introduction	99
5.2	Material and methods	100
5.2.1	Model formalization	100
5.2.2	Experimental datasets	105
5.2.3	Validation datasets	108

5.2.4	Simulations and inter-individual variability	109
5.3	Results	110
5.3.1	Parameter estimation	110
5.3.2	Model validation	113
5.4	Discussion	118
5.4.1	Relationship between <i>A. minutum</i> concentration during exposure and PST accumulation	118
5.4.2	Toxin dynamics	119
5.4.3	ρ_{PST} parameter	119
5.4.4	Links between oysters energy budget and PST dynamics in their tissues	121
5.5	Conclusion	123
5.6	Acknowledgements	123
6	Huître diploïde vs triploïde : qui accumule le plus de PST?	127
6.1	Introduction	129
6.2	Material and methods	131
6.2.1	Model	131
6.2.2	Forcing variables	133
6.2.3	Scenarios	133
6.3	Results	135
6.4	Discussion	139
6.5	Conclusion	143
6.6	Acknowledgements	143
III	Conclusion générale	145
7	Synthèse	147
7.1	Synthèse	147
7.2	Discussion générale et perspectives	151
7.2.1	Variabilité inter-individuelle : plasticité phénotypique ou variabilité génétique?	151
7.2.2	Sélection, attention...	154
7.2.3	Du tri sélectif	155
7.2.4	Des effets difficiles à appréhender	156
7.2.5	Un modèle perfectible mais généralisable	158
7.2.6	Gestion des risques	160
	Bibliographie	161

Abbreviations

Acide Désoxyribonucléique : *ADN*

Adénosine Triphosphate : *ATP*

Assimilation Efficiency : *AE*

Clearance Rate : *CR*

Clearance Rate Inhibition Index : *CRII*

Dynamic Energy Budget : *DEB*

Harmful Algal Bloom : *HAB*

Infra-rouge : *IR*

Paralytic Shellfish Toxins : *PST*

Reactive Oxygen Species : *ROS*

Réseau d'Observation et de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines :
REPHY

Respiration Rate : *RR*

Saxitoxine : *STX*

Synthesizing Units : *SU*

Toxin Accumulation Efficiency : *TAE*

Table des figures

1	Aire de répartition mondiale de <i>C. gigas</i>	6
2	Schéma anatomique d'une huître	9
3	Schéma représentatif des voies de sélection alimentaire chez l'huître	10
4	Efflorescence de micro-algues au large des côtes bretonnes	12
5	Localisation des efflorescences toxiques de 1970 à 2015	15
6	Schéma descriptif du modèle DEB	28
7	Schéma descriptif des quatre systèmes de SU	30
8	The COSA measurement system	42
9	Evolution of standardized clearance rates over the 4 experimental days for all experiments	45
10	Individual clearance rate inhibition index (<i>CRII</i>) as a function of final toxin accumulation	46
11	Individual toxin concentration in oyster tissues against the cumulated number of <i>A. minutum</i> cells consumed	47
12	Individual toxin concentration in oyster tissues at the end of the exposure against the daily algae consumption	47
13	Ratio between final toxin content and toxins consumed for the three accumulation clusters.	48
14	Graphical summary showing the three different oysters accumulation "phenotypes", their level of feeding on non-toxic and toxic algae, feeding inhibition when exposed toxic algae and toxin accumulation efficiency	53
15	Histogramme des potentiels d'accumulation des 42 huîtres exposées à <i>Alexandrium minutum</i>	60
16	Comparaison de l'efficacité d'assimilation entre les groupes avant et pendant l'exposition	63
17	Évolution du taux de respiration standardisé en fonction des groupes	64
18	Comparaison des fréquences cardiaques moyennes en fonction des groupes avant et pendant l'exposition	65
19	Diagrammes en barre des paramètres biométriques mesurés sur les 42 huîtres suivies, en fonction de leur potentiel d'accumulation	66
20	Simulation de l'évolution des concentrations X et Y dans un système fermé	80
21	Simulation des quantités de cellules consommées de substrat X et Y par individu dans un système fermé en fonction du temps	81
22	Simulation des quantités de cellules consommées par individu et par jour de substrat X et Y dans un système ouvert en fonction des concentrations en substrat	82
23	Simulation des quantités consommées de cellules de substrat X et Y par individu et par jour, dans un système ouvert avec saturation	83

24	Représentation graphique des interactions préférentielles entre les substrats dans le contexte des Synthesizing Units	85
25	Évolution tridimensionnelle du proxy de nourriture pour le substrat X (à gauche) et Y (à droite) en fonction de la concentration en substrats X et Y	88
26	Représentation graphique des interactions préférentielles entre les substrats dans le contexte des Synthesizing Units (Kooijman, 2010), sans la fonction de substitution d'un substrat par un autre.	89
27	Évolution tridimensionnelle du proxy de nourriture pour le substrat X (à gauche) et Y (à droite) en fonction de la concentration en substrats X et Y, à partir du modèle simplifié de Lavaud <i>et al.</i> (2014)	91
28	Quantité sommée des cellules de substrat X et Y consommées par heure en fonction de leur concentration	93
29	Quantité de cellules de substrat X et Y consommées par heure pour une concentration égale des deux substrats à partir des trois modèles	93
30	Quantité de cellules de substrat X et Y consommées par jour en fonction de leur concentration pour les trois modèles étudiés	94
31	Observations and simulations of the evolution of oysters dry flesh mass in experimental conditions 1 and 2	111
32	Simulations and observations of oyster PST accumulation during conditions 3 and 4	112
33	Observed versus predicted PST accumulation after 6 short term exposures to <i>A. minutum</i>	113
34	Simulations and observations of oysters growth in dry flesh mass (g) with and without PST effects on maintenance during conditions 3 and 4	114
35	Simulations and observations of PST accumulation and growth of <i>C. gigas</i> while feeding on both toxic and non-toxic algae	115
36	Simulations of PST accumulation and detoxification during the 2012 monitoring realized in the bay of Brest	116
37	Observations and simulations of PST accumulation during the monitoring realized during summer 2013 in the bay of Brest	117
38	Observations and simulations of PST accumulation during the monitoring realized during summer 2014 in the bay of Brest	117
39	DEB-PST model conceptual scheme	131
40	Environmental conditions used as forcing variables	133
41	Comparison of the mean PST accumulation of triploid and diploid oysters of the same mass directly exposed to an <i>A. minutum</i> bloom .	135
42	Comparison of the mean PST accumulation and growth of triploid and diploid oysters of the same age over a 2-years period	136
43	Sub-scenario 1: simulation of the mean PST accumulation and growth of triploid and diploid oysters of the same age over a 1-year period face to two identical <i>A. minutum</i> blooms during gametogenesis and resting stage	137
44	Sub-scenario 2: simulation of the mean PST accumulation and growth of triploid and diploid oysters of the same age over a 1-year period face to two identical <i>A. minutum</i> blooms during gametogenesis and resting stage with a spawning occurring in summer for diploids	138

45	Comparison of the mean PST accumulation and spawning effect on this last, in triploid and diploid oysters during a whole gonad cycle development	139
46	Distribution mondiale de la production de <i>C. gigas</i> et des épisodes de blooms de micro-algues produisant des toxines paralysantes . .	148

Liste des tableaux

1	Results of the Tukey test performed on linear mixed-effects models in order to compare clearance rates of oysters before (day 2 only) and during (day 4 only) exposure to <i>A. minutum</i> for the three accumulation clusters	45
2	Comparaison des taux de respiration entre les groupes avant et pendant l'exposition à <i>A. minutum</i>	64
3	Paramètres utilisés pour les graphiques 20 et 21.	81
4	Paramètres, symboles et unités présentés dans Lavaud <i>et al.</i> (2014) pour le modèle théorique des SU dans un contexte de sélection préférentiel.	85
5	Équivalence entre les paramètres théoriques utilisés dans la formulation du modèle et les paramètres biologiques correspondants, ainsi que leurs valeurs et unités.	87
6	Paramètres utilisés pour la comparaison tridimensionnelle des quantités de cellules ingérées (Fig. 30).	94
7	Set of parameters of the DEB-PST model for <i>C. gigas</i>	106
8	Parameter set corresponding to spawning and triploid oysters.	132

Avant-Propos

Les travaux effectués dans le cadre de cette thèse s'intègrent dans le projet ACCUTOX 13-CESA-0019 (2013-2017) financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) dans le cadre du programme CESA1. Coordonné par le Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR, UMR 6539), ce projet vise à caractériser les facteurs qui influencent le niveau d'accumulation des toxines paralysantes (PST) chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Le premier objectif du projet ACCUTOX porte sur la description et la compréhension du déterminisme de l'accumulation des phycotoxines paralysantes chez *C. gigas*, avec deux hypothèses non exclusives testées : (1) le polymorphisme du canal sodium voltage-dépendant, cible des PST, influencerait sur l'accumulation des toxines ; (2) l'état physiologique des huîtres au moment de l'exposition à l'algue toxique *Alexandrium* sp. ainsi que leurs réactions face à cette algue, pourraient induire une variabilité dans l'accumulation des PST au sein d'une population. Le deuxième objectif de ce projet vise à développer un modèle intégratif décrivant les cinétiques d'accumulation et de détoxification des toxines dans l'huître en prenant en compte les paramètres physiologiques de *C. gigas* (tâche 6). *In fine*, ce modèle pourra permettre d'identifier certaines conditions liées à l'environnement ou au statut physiologique de l'huître, pouvant présenter un risque pour la consommation humaine. C'est sur ce second objectif qu'ont porté les travaux menés dans le cadre de ma thèse, financée pour la partie fonctionnement des expérimentations et missions par le projet ACCUTOX. Le salaire de ma thèse provient de la région Bretagne et du LabexMer (bourse ARED-LABEX, 50 %) et d'une demi bourse du président de l'Université de Bretagne Occidentale (50 %). Ce travail de thèse a été réalisé sous la direction du professeur Frédéric Jean et l'encadrement scientifique des docteurs Marianne Alunno-Bruscia et Jonathan Flye-Sainte-Marie au sein du LEMAR et de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM) de l'Université de Bretagne Occidentale.

Les frais de missions liés à la présentation de résultats ont également été pris en charge par le projet ACCUTOX. J'ai ainsi pu participer à différentes réunions et congrès, et mettre en avant les résultats de ma thèse, notamment lors du Groupement de Recherche (GdR) PHYCOTOX en 2016 à Villefranche-sur-Mer (France), du congrès de la National Shellfisheries Association (NSA 2017, Knoxville, USA) avec un cofinancement du "Student Endowment fund" de la NSA et une bourse de l'Ecole Doctorale des Sciences de la Mer et du symposium DEB 2017 (Tromsø, Norvège) avec, en complément, une bourse de mobilité dédiée aux doctorants du LabexMer.

Chapitre 1

Introduction générale

1.1 Contexte

La consommation de coquillages est une pratique particulièrement ancrée dans le patrimoine français. Depuis la période gallo-romaine, puis pendant l'empire et la renaissance, les huîtres étaient des mets particulièrement prisés à tel point qu'au XVIII^{ème} siècle les premières ordonnances visant à protéger les bancs naturels ont été publiées. Au XIX^{ème}, le développement des chemins de fer permet alors au commerce de l'huître de progresser. La pénurie menace ainsi certaines régions. Face à cela, des méthodes d'élevage se développent, et les premières concessions voient le jour (Buestel *et al.*, 2009); l'ostréiculture était née. En 1860, on dénombrait plus de 2000 concessions présentes majoritairement sur l'Île de Ré et dans le bassin d'Arcachon. De nos jours, les techniques se sont modernisées, les moyens ont évolué et plus de 2650 entreprises permettent l'emploi de 17 000 personnes dans les 7 bassins de production français : Normandie Mer du Nord, Bretagne Nord, Bretagne Sud, Pays de la Loire, Poitou Charentes, Aquitaine et Méditerranée. Pour permettre la vente d'huîtres tout au long de l'année, l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (Ifremer) a déposé un brevet en 2007 qui porte sur l'obtention artificielle d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) à croissance rapide et qui ne disposent pas de période de reproduction. Ces huîtres sont dites triploïdes puisqu'elles comportent trois jeux de chromosomes, contre deux chez les huîtres "naturelles" diploïdes. Aujourd'hui, elles sont communément utilisées par les ostréiculteurs. Au début des années 1990, la production française d'huîtres creuses (*C. gigas*) dépassait les 140 000 tonnes (FAO, 2015). Cependant cette profession doit constamment faire face à de nouvelles crises. Au cours des dernières années, des épisodes de mortalités dues à des maladies ou des parasites ont mis à mal la production d'huîtres plates indigènes (*Ostrea edulis*; Alderman, 1979 ; Pichot *et al.*, 1979) et fait périr la production d'huîtres creuses portugaises (*Crassostrea angulata*; Comps et Duthoit, 1979) au début des années 1970. La production française d'huîtres creuses japonaises a aussi chuté ces dix dernières années et s'est stabilisée autour de 80 000 tonnes au début des années 2010 (FAO, 2015). Des épizooties successives (vibrioses, herpesvirus; Lacoste *et al.*, 2001 ; Garnier *et al.*, 2007 ; Segarra *et al.*, 2010), ainsi que des conditions environnementales anormales (Berthelin *et al.*, 2000) ont induit d'importantes mortalités estivales allant jusqu'à 60 à 80 % des huîtres élevées en 2013 suivant les bassins concernés.

Au cours des dernières décennies, le secteur conchylicole mondial a également dû faire face à d'autres crises liées aux efflorescences de micro-algues toxiques (Anderson *et al.*, 2002 ; Hoagland et Scatasta, 2006). Ces efflorescences se caractérisent par de très fortes concentrations, pouvant aller jusqu'à plusieurs millions de cellules par litre d'eau de mer de micro-algues phytoplanctoniques, ayant des effets délétères sur l'environnement et/ou les organismes marins (Hallegraeff, 1995). Dans certains cas, ces micro-algues sont si concentrées qu'elles donnent à l'eau de mer

une coloration rouge ou brune (Anderson, 1989). Ces phénomènes d'efflorescences de micro-algues toxiques sont rapportés de plus en plus fréquemment sur les côtes du monde entier (Van Dolah, 2000). Parmi ces micro-algues, certaines espèces produisent des composés toxiques pouvant avoir des effets diarrhéiques, amnésiants, neurotoxiques ou paralysants chez l'Homme (Hallegraeff *et al.*, 2003). La consommation de coquillages ayant accumulés ces toxines est le mode d'empoisonnement le plus répandu. En filtrant au travers de leurs branchies, les particules en suspension dans l'eau de mer, dont les micro-algues toxiques, les bivalves filtreurs peuvent accumuler de grandes quantités de toxines, qui sont ensuite transférées aux consommateurs secondaires (Choi *et al.*, 2006 ; Kvitek *et al.*, 2008). En raison des pathologies qu'elles induisent chez l'Homme, les efflorescences de micro-algues toxiques sont à l'origine de crises sanitaires. En France, et notamment en Bretagne, des espèces du genre *Alexandrium* sp. synthétisant des toxines paralysantes (PST) sont régulièrement observées dans les eaux côtières (Fremy *et al.*, 1989). Pour protéger les consommateurs, un suivi basé sur deux seuils a donc été développé (directive européenne 91/492/EEC) et mis en place par le réseau d'observation et de surveillance des phycotoxines (REPHY). Dans le cas d'*Alexandrium*, le seuil d'alerte est franchi lorsque la concentration en cellules de cette micro-algue dépasse 1000 à 10 000 cellules par litre selon les régions. Le franchissement de ce seuil déclenche alors le dosage des toxines dans les bivalves de la zone où le phytoplancton toxique a été détecté. Dans le cas des toxines paralysantes, le seuil est fixé à 80 μg équivalent saxitoxine (STX) pour 100 g de chair de coquillage, au delà duquel un arrêté préfectoral est pris, signifiant l'interdiction de prélèvement de coquillages contaminés et de leur commercialisation. Ces mesures présentent un énorme manque à gagner pour les conchyliculteurs (i.e. 23 millions de dollars en Nouvelle-Angleterre en 2005 ; Jin *et al.*, 2008) et provoquent la méfiance des consommateurs vis-à-vis des produits de la mer. Pour lever ces interdictions, la réglementation oblige l'obtention de deux tests favorables à 48 heures d'intervalle. Dans les faits, le REPHY et les laboratoires assermentés réalisent des dosages sur les coquillages de façon hebdomadaire durant les périodes de l'année considérées comme à risque. Depuis l'instauration de cette méthode en 1984, aucune intoxication liée aux PST n'a été relevée en France. Cependant, la surveillance de toutes ces zones représente une tâche lourde et coûteuse. Dans le but de prédire les périodes de contamination, la modélisation pourrait être un outil complémentaire aux mesures effectuées par le REPHY. En raison de son importance économique, l'huître creuse *C. gigas* a été choisie comme modèle biologique pour cette étude.

Différents modèles ont déjà été développés pour prédire l'accumulation de phycotoxines chez les bivalves (Hurst et Gilfillan, 1977 ; Blanco *et al.*, 1997 ; Chen et Chou, 2001 ; Blanco *et al.*, 2003 ; Yamamoto *et al.*, 2003 ; Lassus *et al.*, 2007 ; Guéguen *et al.*, 2011). Ces derniers basent généralement le processus d'accumulation sur les taux de filtration (volume d'eau débarrassé de ses particules par unité

de temps, équivalent du "clearance rate" en anglais) des bivalves et les concentrations en micro-algues toxiques dans le milieu. La détoxification se déroulant via un processus passif. Quelques uns ont évalué l'impact de facteurs environnementaux comme le seston ou la température sur l'accumulation. Cependant, aucun d'eux ne prend en compte l'état physiologique du bivalve filtreur (poids, état reproducteur) ou la présence dans le milieu d'autres micro-algues. Ce dernier facteur n'est pas à négliger puisqu'en présence de micro-algues aux propriétés chimiques, physiques et nutritives différentes, les bivalves sont capables d'effectuer un tri préférentiel des particules (Ward et Shumway, 2004). Les quantités de micro-algues toxiques ingérées peuvent donc varier en fonction de la présence, ou pas, d'autres micro-algues dans l'eau de mer au moment d'efflorescences toxiques.

Par ailleurs, l'accumulation de PST chez *C. gigas* montre une très forte variabilité inter-individuelle, selon un facteur de 5000 comme l'ont montré Mat *et al.* (2013) entre les huîtres présentant les plus faibles concentrations en toxines et celles avec les plus fortes concentrations, ou selon un facteur de 80 (Haberkorn *et al.*, 2011). Cette variabilité inter-individuelle demeure inexpliquée. L'hypothèse d'une différence de sensibilité des nerfs à la toxine a été invalidée (Bouillot, 2017a). En revanche, l'hypothèse d'une différence dans le comportement de nutrition des huîtres en présence de micro-algues toxiques reste à tester. Enfin, bien que les bivalves soient considérés comme étant plutôt résistants aux PST (Bricelj et Shumway, 1998), plusieurs travaux ont montré que ces toxines causaient des impacts délétères chez ces organismes (Bricelj *et al.*, 1990 ; Haberkorn *et al.*, 2010a;b). Il a ainsi été mis en évidence que ces toxines affectaient les budgets d'énergie de deux bivalves (Li *et al.*, 2002). Comme discuté par Guéguen (2009), un couplage entre un modèle de contamination/détoxification et un modèle bioénergétique de croissance permettrait de prédire plus précisément les dynamiques d'accumulation des toxines chez les bivalves. L'intérêt de ce couplage réside en deux points : (1) l'accumulation des toxines va dépendre de la taille de l'individu ; en grandissant, le bivalve peut consommer plus de micro-algues toxiques, cependant les toxines sont diluées dans un volume de chair plus important. (2) À partir de la concentration en PST simulée par le modèle d'accumulation, les effets de ces toxines sur la bioénergétique du bivalve vont pouvoir être intégrés dans le modèle de croissance.

Parmi les différents modèles de croissance existants, ceux basés sur la théorie des budgets d'énergie dynamiques (DEB) sont particulièrement bien adaptés à la problématique de l'accumulation des toxines paralysantes chez l'huître creuse (Kooijman, 2010). Grâce à une approche mécaniste, les modèles prennent en compte les fonctions associées à la prise alimentaire (voie d'accumulation des PST) et permettent de formaliser la sélection préférentielle chez les bivalves grâce au concept des "synthesizing units" (SU, Kooijman, 1998). L'utilisation du modèle DEB pour décrire l'effet des substances toxiques sur la croissance et la reproduction d'organismes marins a été faite sur les poissons en couplant un modèle d'accumulation

de composés organiques à un modèle DEB de croissance et reproduction (Bodiguel *et al.*, 2009b ; Eichinger *et al.*, 2010) et en traitant des effets des substances sur la bioénergétique (approche DEBtox, Jager et Zimmer, 2012 ; Jager *et al.*, 2014). La forte variabilité inter-individuelle dans l'accumulation peut être traitée puisque ce modèle est basé sur l'individu. Enfin, les paramètres du modèle DEB ont été estimés, validés et améliorés à plusieurs reprises pour *C. gigas* et permettent donc de décrire précisément la croissance et la reproduction de cette espèce.

1.2 Le modèle biologique d'étude : *Crassostrea gigas*

1.2.1 Une espèce écologiquement et économiquement importante

L'huître creuse *C. gigas* (Thunberg, 1793) aussi appelée huître du Pacifique ou huître japonaise est un bivalve filtreur de l'ordre des *Ostreoida*. Sa systématique est détaillée ci-dessous :

Phylum	<i>Mollusca</i>
Classe	<i>Bivalvia</i> (Linné, 1758)
Ordre	<i>Ostreida</i> (Férussac, 1822)
Famille	<i>Ostreidae</i> (Rafinesque, 1815)

Endémique du Japon, elle est la plus cosmopolite de toutes les espèces d'huîtres au monde. Naturellement, elle s'est établie de l'extrême Est de la Russie jusqu'au Sud de la Chine. Mais c'est bien suite à des introductions imputables à l'Homme qu'elle a pu coloniser les océans Indien et Atlantique. Ruesink *et al.* (2005) ont relevé pas moins de 66 cas d'introduction de *C. gigas*, la plupart du temps pour l'aquaculture mais parfois de façon accidentelle comme en Norvège, Suède, Danemark ou Nouvelle-Zélande. Ainsi, les premières introductions de l'espèce se sont déroulées au début du XX^e siècle en Amérique du Nord (Colombie Britannique, état de Washington, Californie, Maine) pour faire face à l'épuisement des stocks de *Saccostrea palmula*. En Australie, c'est la surexploitation menant à l'épuisement des gisements d'huîtres plates *Ostrea angasi* à la fin du XIX^e siècle qui a conduit aux transferts successifs d'huîtres creuses en 1947-1948, 1951-1952 et en 1969. Les années 1960 sont marquées par un arrivage massif d'huîtres creuses en provenance du Japon et d'Amérique du Nord vers l'Europe. En France, depuis la période romaine, l'huître endémique *Ostrea edulis* était l'unique huître récoltée sur le littoral. À partir de 1920, des épisodes de mortalité associés à deux maladies causées par un protozoaire (*Marteilia refringens*) et un parasite (*Bonamia ostreae*) ont presque mis un terme à la production de cette espèce. L'huître portugaise (*Crassostrea angulata*) introduite dans les années 1820 est alors devenue l'huître produite majoritairement en France (Heral, 1989) jusqu'à ce qu'elle soit décimée à son tour en 1971 par l'iridovirose, une maladie touchant les branchies (Grizel

et Héral, 1991). Pour maintenir le secteur ostréicole, des naissains japonais de *C. gigas* et des adultes provenant de Colombie Britannique ont alors été transportés jusqu'en France. Face aux succès de ces différentes importations, d'autres transferts ont été effectués en Amérique du Sud (Argentine, Brésil, Chili), en Afrique (Afrique du Sud, Tunisie, Algérie, Sénégal) et en Océanie (Nouvelle-Calédonie, Fidji ; Miossec *et al.*, 2009).

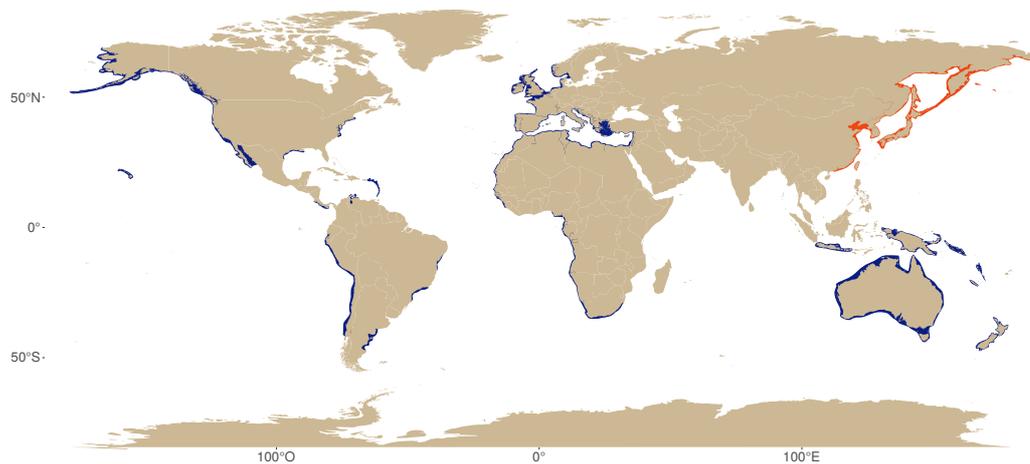


FIG. 1 – Carte montrant l'aire de répartition mondiale de *C. gigas* avec la zone de répartition originelle de l'espèce en rouge, et les régions où elle s'est établie incluant celles où on la cultive en bleue. D'après Ruesink *et al.* (2005) ; Miossec *et al.* (2009) ; CABI (2014) ; FAO (2017)

Espèce euryhaline et eurytherme, l'huître creuse s'est établie avec succès dans les pays où elle a été introduite (Ruesink *et al.*, 2005). En effet, sa croissance optimale se situe dans une gamme de températures de 8 à 22 °C et de salinités de 24 à 28 PSU ; elle peut cependant survivre dans des environnements plus extrêmes (Shamseldin *et al.*, 1997 ; Shatkin *et al.*, 1997). On la retrouve fixée sur des substrats durs ou meubles, dans les zones intertidales et subtidales, dans les milieux marins et estuariens. Sa grande plasticité environnementale lui permet ainsi de coloniser de nombreux biotopes et de remplacer parfois d'autres espèces endémiques d'huîtres ou plus généralement de bivalves. Aussi, on considère *C. gigas* comme une espèce ingénieur de l'écosystème lorsque dans certains cas, l'accumulation de nombreux individus permet la formation d'importants récifs modifiant la structure du substrat. Elle est aussi considérée comme une espèce invasive dans plusieurs pays (Orensanz *et al.*, 2002).

Depuis le début des années 90, la conchyliculture mondiale s'est énormément développée et a franchi en 2010 le seuil des 14 millions de tonnes de mollusques produits pour un chiffre d'affaires de 14,4 milliards de dollars. Un tiers de cette production mondiale était des huîtres creuses en 2014 (FAO, 2015). Si la Chine fournit 82 % de la production ostréicole mondiale, la France se classe au 4^{ème} rang

avec environ de 80 000 tonnes d'huîtres produites en 2016. Cependant ce nombre a fortement diminué puisqu'il dépassait les 150 000 tonnes durant les années 1990 (Buestel *et al.*, 2009). Cette diminution au début des années 2000 s'explique par un faible recrutement, des événements climatiques exceptionnels (tempête Marennes-Oléron 1999) et des épisodes de mortalités estivales. En effet, pendant une décennie, l'herpès virus (OsHV-1 μ Var ; Segarra *et al.*, 2010) ainsi que les bactéries *Vibrio splendidus* (Lacoste *et al.*, 2001) et *V. aestuarianus* (Garnier *et al.*, 2007) ont causé des maladies ayant provoqué jusqu'à 100 % de mortalités parmi les élevages. Avec 7 bassins de production majeurs, un quart des huîtres produites en France le sont en Bretagne (www.cnc-france.com). Dans cette région, le naissain est capté à partir de gisements naturels ou produit directement en éclosérie et est placé pour grossissement dans des poches maillées sur des tables ou à plat au niveau de la zone intertidale pendant 1 à 2 ans. Les quantités vendues dépendent fortement de la saison : elles sont peu consommées pendant la période de gamétogénèse (mai à août) au contraire des mois de décembre et janvier où elles sont très prisées.

1.2.2 Cycle de vie, reproduction et ploïdie

L'huître creuse est une espèce hermaphrodite protandre de type alternatif irrégulier (Amemiya, 1929 ; Galtsoff, 1964). Elle commence généralement par être mâle puis elle change de sexe de façon irrégulière entre deux saisons de reproduction. On retrouve également dans une fraction de la population des individus hermaphrodites simultanés présentant des cellules germinales mâles et femelles en même temps (Amemiya, 1929). La première maturation des cellules germinales sexuelles se déroule généralement au cours de la première année. Sur les côtes européennes, l'huître creuse possède un cycle de reproduction saisonnier. De septembre à Octobre, la gamétogénèse est très lente, l'huître est en phase de repos sexuel. La fin de l'hiver marque ensuite le début du développement des cellules germinales par mitose (Lango Reynoso, 1999). Puis, au début du printemps, les changements de photopériode et la multiplication du phytoplancton déclenchent la maturation de ces cellules par méiose (Deslous-Paoli *et al.*, 1981 ; Dinamani, 1987 ; Olive, 1995). Chez l'huître, la fécondation est externe, ce qui signifie que les gamètes (ovocytes et spermatozoïdes) sont libérés dans le milieu. Cette ponte se déroule durant la période estivale sur les côtes européennes, à partir d'un certain seuil de température (19 °C), lorsque la nourriture est abondante et que la quantité de gamètes présents dans la gonade est suffisamment conséquente (Galtsoff, 1938 ; Delaporte *et al.*, 2006 ; Bernard, 2011). Dans les zones où la température ne dépasse pas le seuil nécessaire, la ponte n'a pas lieu et les ovocytes résiduels sont alors lysés (Enríquez-Díaz *et al.*, 2009). À l'inverse, dans les eaux plus chaudes, lorsque le seuil de température est franchi pendant une longue période, plusieurs pontes partielles peuvent se produire (Enríquez-Díaz *et al.*, 2009). Une fois l'ovo-

cyte fécondé, l'œuf devient alors une larve trochophore, une larve D puis une larve véligère avant de se métamorphoser et de se fixer autour du 20^e jour. Cette fixation marque la fin de la phase pélagique et le début de la phase benthique de *C. gigas*. La larve métamorphosée et fixée peut devenir un naissain puis un adulte.

L'huître accélère sa gamétogenèse au début de l'hiver et développe donc une laitance jusqu'à la ponte à la fin de l'été, peu appréciée des consommateurs. Pour proposer un produit commercialisable toute l'année, des huîtres triploïdes (3 exemplaires de chaque chromosome; 3N) théoriquement stériles sont produites en éclosion à partir des gamètes d'un géniteur mâle tétraploïde (4N chromosomes) obtenu en laboratoire en retenant l'expulsion du deuxième globule polaire par traitement chimique inhibiteur de la méiose (Guo *et al.*, 1992a;b) et de gamètes d'individus femelles diploïdes (2N; Guo *et al.*, 1996). Ces triploïdes n'investissent pas d'énergie dans la reproduction et ont une croissance plus rapide (Shpigel *et al.*, 1992; Gouletquer *et al.*, 1996) et il a été montré que les huîtres creuses triploïdes pouvaient grandir quatre fois plus vite que les diploïdes (Allen et Downing, 1986). Ce meilleur potentiel de croissance s'explique surtout par la libération des gamètes, car là où les diploïdes peuvent perdre jusqu'à 75 % de leur masse totale, les triploïdes ne subissent quasiment aucune variation de masse (Deslous-Paoli et Héral, 1988). On peut donc observer pour un âge donné que les triploïdes sont significativement plus grandes que les diploïdes, ce constat ayant aussi été validé chez d'autres espèces d'huîtres comme *O. edulis* (Hawkins *et al.*, 1994) ou *Saccostrea glomerata* (Hand *et al.*, 2004). Aujourd'hui, l'huître 3N représente un quart des huîtres en élevage. L'intérêt d'utiliser des huîtres triploïdes réside également dans leur stérilité qui limite la dissémination de ces animaux dans le milieu naturel. Ainsi, la variabilité génétique des huîtres sauvages et diploïdes cultivées n'est pas altérée (Piferrer *et al.*, 2009).

1.2.3 Anatomie

L'huître *C. gigas* est un mollusque bivalve constitué d'un corps mou enfermé dans une coquille à deux valves asymétriques, l'une plane et l'autre plus concave, qui lui confère son nom d'huître creuse. Ces deux valves sont reliées au niveau de la charnière, partie étroite de la coquille, par un ligament. Un muscle adducteur en deux parties (lisse et striée) lie les deux valves et permet à l'huître de se fermer. À l'intérieur de la valve la plus creuse se trouve la cavité palléale abritant les organes de l'huître (Fig. 2). Le manteau, responsable de la production de la coquille, est parcouru par de nombreuses terminaisons nerveuses et permet de stocker des réserves sous forme de glycogène (Berthelin *et al.*, 2001). Les deux branchies, composées de deux feuilletts, participent à la nutrition et à la respiration. En effet, grâce à des cils situés sur les faces latérales des feuilletts, un courant inhalant amène les particules alimentaires jusqu'aux branchies où elles sont retenues. Une fois ingé-

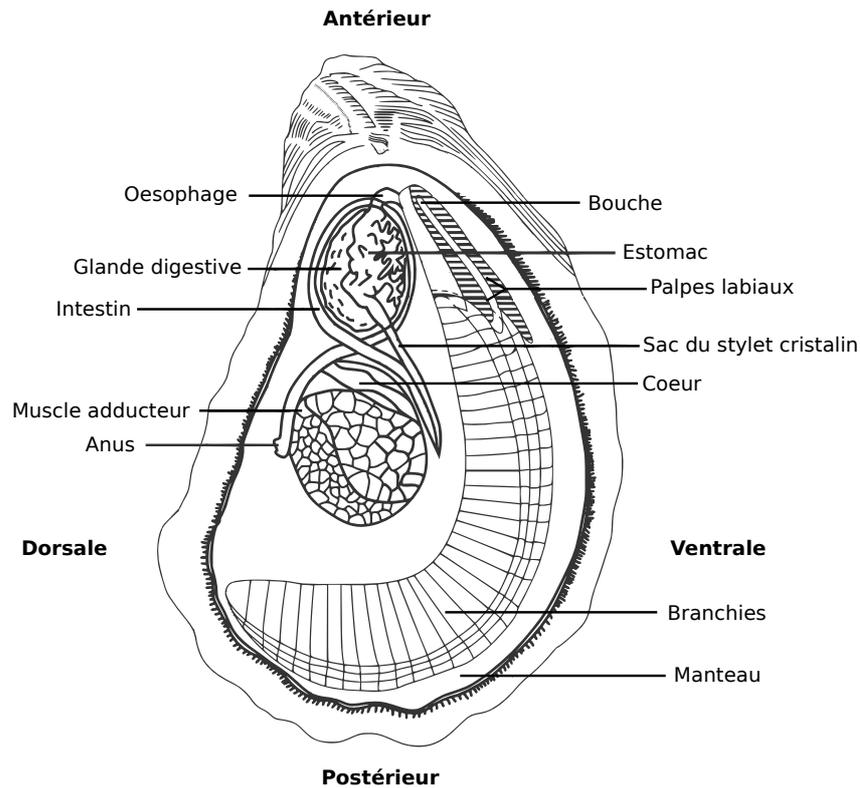


FIG. 2 – Schéma anatomique d'une huître dans sa valve gauche. Modifié d'après Galtsoff (1964), exemple de *C. virginica*.

rées, ces particules passent successivement dans l'œsophage, l'estomac et la glande digestive où une fraction est assimilée. Enfin les fèces sont libérés à l'extrémité de l'intestin par l'anus. La respiration se déroule également au niveau des branchies, où l'oxygène présent dans l'eau de mer est intégré dans le système circulatoire. Chez les huîtres, ce dernier est semi-ouvert, les organes baignent dans un liquide circulatoire, l'hémolymphe. Les cellules circulantes composant l'hémolymphe sont les hémocytes, ils participent à la formation de coquille ou encore à la réponse immunitaire. En effet, on les retrouve en grande quantité lors d'une réaction inflammatoire, ils assurent la phagocytose et l'encapsulation de corps étrangers ainsi que la réparation des tissus endommagés. Ils couvrent ainsi l'ensemble des fonctions réalisées chez les vertébrés par les granulocytes, macrophages et plaquettes. Pour assurer l'irrigation de tous les organes et l'oxygénation de l'hémolymphe, l'huître dispose de vaisseaux et d'un cœur composé de deux oreillettes et d'un ventricule dans une cavité péricardique. La gonade (non représentée sur le schéma) est dite diffuse puisqu'on la retrouve dans le tissu conjonctif entourant la masse viscérale lorsque l'huître est mature.

1.2.4 Nutrition et sélection des particules

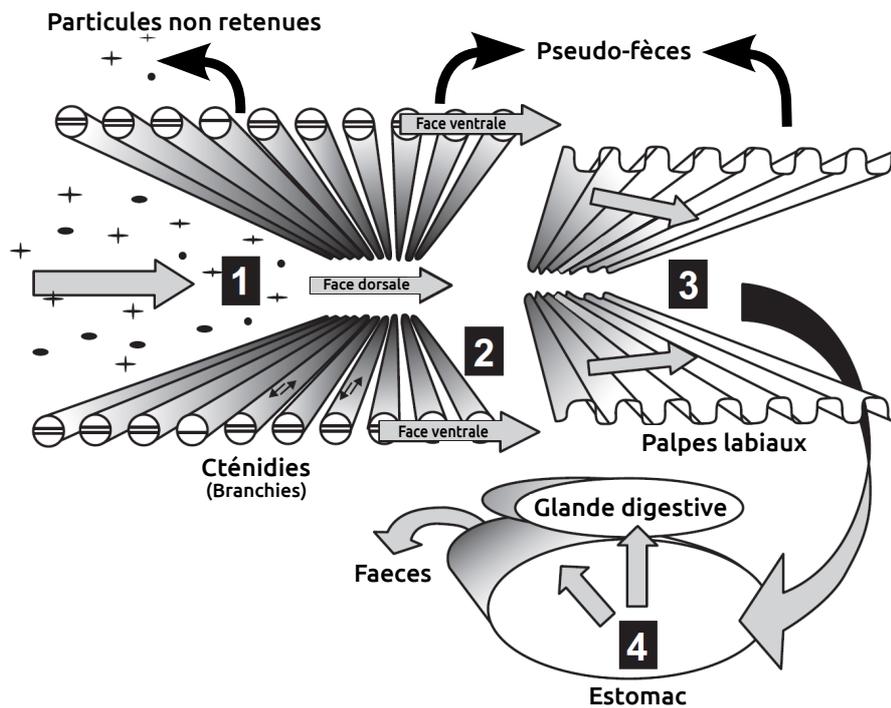


FIG. 3 – Schéma représentatif des sites où se déroule la sélection de la nourriture chez l'huître (*C. gigas*). Les flèches indiquent le mouvement des particules depuis l'extérieur de l'animal vers les cténidies, les palpes labiaux et le système digestif. Cette sélection s'opère principalement par : (1) la capture des particules alimentaires et (2) leur transport différentiel par les branchies; (3) un tri des particules au niveau des palpes labiaux; (4) la sélection dans l'estomac et le transport préférentiel des particules vers les diverticules digestifs. Modifié d'après Ward et Shumway (2004).

Les huîtres, et particulièrement *C. gigas*, sont capables de sélectionner leur nourriture grâce à différents mécanismes (Kiørboe et Møhlenberg, 1981). Comme évoqué précédemment, l'huître est un bivalve filtreur microphage qui se nourrit en retenant sur ses branchies les particules sestoniques en suspension dans l'eau de mer telles que le phytoplancton ou les bactéries. C'est à ce niveau que le premier processus de sélection des particules s'exerce (site numéro 1, Fig. 3). Ensuite, un tri est opéré par les cellules ciliées en fonction de la qualité du seston (site numéro 2, Fig. 3). Il a été montré que la sélection s'opérait en partie en fonction des carbohydrates recouvrant la surface des micro-algues (Espinosa *et al.*, 2010). Certains se lient préférentiellement aux lectines présentes dans le mucus qui recouvrent les organes de nutrition des bivalves. Un modèle a même permis de prédire les préférences alimentaires de *C. virginica* et *M. edulis* en se basant sur la signature en carbohydrates de certaines micro-algues (Espinosa *et al.*, 2016). Les particules alimentaires sélectionnées sont transportées par un mouvement ciliaire ascendant grâce aux filaments principaux vers la face ventrale des branchies. Les autres sont déplacées par mouvement descendant sur la face dorsale par les filaments ordinaires où elles seront ensuite rejetées par le courant pallial ou par une

micro-fermeture des deux valves (Beninger *et al.*, 2008). Cette sélection qualitative s'effectue exclusivement sur les particules assez petites pour passer au travers des branchies par les ouvertures plicales; elle constitue une fonction inhérente aux familles hétérorhabdiques comme les *Ostreidae* ou les *Pectinidae* (Beninger *et al.*, 1997 ; Ward *et al.*, 1998 ; Baker *et al.*, 2000). Une fois sur la face dorsale des branchies formant une sorte de petite gouttière, les particules sont enveloppées dans un mucus. Elles sont ensuite acheminées grâce à un réseau de cellules ciliées jusqu'aux palpes labiaux. Ces derniers possèdent deux rôles particuliers : d'une part, ils permettent d'amener le filament de nourriture jusqu'à la bouche, et d'autre part ils sont le siège du deuxième niveau de sélection. Grâce à leur surface striée, les palpes labiaux peuvent trier les petites et les grosses cellules une par une et rejeter sous forme d'agrégats enrobés de mucus, appelés pseudo-fèces, les particules non désirées (site numéro 3 Fig. 3). Un lien a d'ailleurs été démontré entre la taille des palpes labiaux et l'efficacité de sélection de *C. gigas* (Barillé *et al.*, 2000). Cette sélection également qualitative dépend beaucoup de la quantité et de la qualité du seston. Elle se met en place à partir d'un seuil de concentration de matières en suspension (MES) égal à $4,6 \text{ mg L}^{-1}$ (Deslous-Paoli *et al.*, 1992), ce seuil correspond au remplissage du système digestif. Lorsque le milieu est trop chargé en particules ou que l'appareil digestif est déjà plein, les palpes perdent leur fonction de sélection et n'assurent plus que la régulation du flux d'ingestion (Foster-Smith, 1975; 1978 ; Beninger *et al.*, 1997). Une fois ingérée, la nourriture passe par l'œsophage et arrive dans l'estomac.

À ce niveau, les particules ayant la plus forte densité sont directement évacuées vers l'intestin sans passer par la glande digestive (Reid, 1965) ; on les appelle fèces intestinaux (site numéro 4, Fig. 3). Les particules plus légères et plus grosses subissent d'abord la digestion extracellulaire grâce au stylet cristallin qui mélange et broie le contenu de l'estomac. Cette tige gélatineuse qui fait saillie dans la lumière stomacale assure à la fois une dégradation chimique grâce à sa forte teneur en enzymes digestives, et mécanique en tournant sur elle même sur une plaque chitineuse. Les particules devenues assez petites sont transportées par mouvements ciliaires jusqu'à l'entrée de la glande digestive où se déroule la digestion intracellulaire. Cette dernière est composée d'une multitude de cavités appelées tubules digestifs. À l'intérieur, des cellules digestives assimilent la nourriture par pinocytose et le produit de l'assimilation est transporté par des cellules ciliées jusqu'à l'intestin où il sera ensuite égesté par l'anus sous forme de fèces glandulaires (Purchon, 1956). Lorsque le milieu est chargé en particules non organiques, cette capacité de sélection permet à l'huître d'enrichir son bol alimentaire en fraction organique et donc assimilable.

1.3 Efflorescences de micro-algues toxiques, phyco-toxines et leurs principaux effets sur les bivalves filtreurs

1.3.1 Généralités



FIG. 4 – Photographie spatiale d'un bloom de coccolithophoridés au large de la Bretagne (Desclotres, MODIS Rapid Response Team, NASA/GSFC)

Les micro-algues marines sont des organismes unicellulaires, procaryotes ou eucaryotes, pour la plus grande majorité photosynthétiques. Ces dernières constituent la base des réseaux trophiques et sont ubiquistes. D'une taille microscopique, elles vivent en suspension dans l'eau de mer et sont donc soumises aux déplacements des masses d'eau. Lorsque les conditions sont favorables, ces micro-algues prolifèrent à de très fortes concentrations pouvant atteindre plusieurs centaines de milliers de cellules par millilitre d'eau de mer donnant lieu à des efflorescences ou "blooms". Ces épisodes surviennent le plus souvent du printemps à l'automne lorsque la photopériode augmente, que l'eau se réchauffe et que le milieu est riche en nutriments. Ces phénomènes sont parfois si importants qu'une coloration de l'eau liée aux pigments photosynthétiques des micro-algues est visible depuis l'espace (Fig. 4). Certaines espèces comme *Noctiluca scintillans* sont bioluminescentes, d'autres comme *Karenia brevis* colorent les eaux en brun ou en rouge, on parle alors de marées rouges (red tides). L'existence des efflorescences est connue depuis très longtemps. Les premiers écrits relatant ce phénomène correspondraient même à deux versets de l'ancien testament (-1000 av. J.-C.) : "Et toutes les eaux qui étaient

dans la rivière (le Nil) s'étaient changées en sang, et les poissons qui se trouvaient dans la rivière moururent; et la rivière empestait et les Égyptiens ne pouvaient pas boire l'eau de la rivière". Comme détaillé dans ces deux versets, certaines micro-algues peuvent avoir des effets importants sur l'écosystème, on parle alors de micro-algues nuisibles.

Les micro-algues nuisibles

En fonction de l'impact engendré par ces efflorescences sur l'écosystème, Hallegraeff *et al.* (2003) ont classé les micro-algues nuisibles en différentes catégories.

- Lors d'épisodes d'efflorescences longs et intenses, l'accumulation de biomasse phytoplanctonique peut priver le fond et la colonne d'eau de lumière et engendrer des conditions hypoxiques (voire anoxiques) impactant *in fine* tout l'écosystème (Sellner *et al.*, 2003 ; Glibert *et al.*, 2005). Prises individuellement, ces micro-algues appartenant souvent aux dinoflagellés et cyanobactéries sont inoffensives, en revanche, en nombre, elles ont un effet physico-chimique sur l'environnement et donc sur les organismes qui vivent dans cet environnement.
- Certaines espèces, appartenant principalement aux diatomées, dinoflagellés, raphidophytes et prymnesiophytes, impactent directement les organismes marins mais n'ont pas d'effets sur l'homme. En général, elles agissent en obstruant ou en endommageant certaines structures vitales comme les branchies chez les poissons.
- Enfin, la dernière catégorie regroupe les micro-algues produisant des composés toxiques. Ces toxines s'accumulent dans les différents maillons de la chaîne alimentaire ; on parle alors de bioaccumulation (Burkholder, 1998 ; Zaccaroni et Scaravelli, 2008). Ainsi, les poissons et bivalves élevés ou pêchés pour la consommation humaine peuvent se contaminer en se nourrissant de ces micro-algues et leur ingestion peut provoquer des pathologies gastro-intestinales ou neurologiques chez l'homme. Les principaux taxons responsables de ces intoxications sont les dinoflagellés, les diatomées et les cyanobactéries.

Par la suite nous allons focaliser notre intérêt sur les micro-algues de la 3^{ème} catégorie, les micro-algues toxiques.

Les micro-algues toxiques

Sur toutes les espèces de phytoplancton identifiées, environ 80 sont capables de synthétiser des toxines bioaccumulables dangereuses pour l'homme (Hallegraeff *et al.*, 2003) et tout l'écosystème. Ces vingt dernières années, une augmentation de l'occurrence et de l'intensité de ces blooms a été observée (Hallegraeff, 1995, voir Fig. 5). Bien que ces efflorescences de micro-algues toxiques se développent

de façon naturelle, le réchauffement climatique et les pollutions anthropiques terrigènes ont eu tendance à augmenter leur fréquence (Anderson *et al.*, 2002 ; Heisler *et al.*, 2008 ; Gobler *et al.*, 2017). La mondialisation, marquée par l'augmentation du trafic maritime, a également facilité l'introduction de micro-algues toxiques *via* les eaux de ballast. Des études ont aussi montré que le transfert d'espèces exploitées, comme les moules et les huîtres, pouvaient être à l'origine de l'introduction de micro-algues toxiques dans certaines régions en survivant au passage par le tube digestif de ces bivalves (Laabir *et al.*, 2007 ; Hégaret *et al.*, 2008). Cependant, le lien entre l'action humaine et l'augmentation de ces efflorescences de micro-algues toxiques est toujours discuté (Wells *et al.*, 2015). En effet, la recrudescence du signalement de ces blooms pourrait être un artefact dû à un effort de surveillance plus efficace et/ou à l'accroissement de la population sur les côtes (Sellner *et al.*, 2003).

Ces micro-algues toxiques posent deux problèmes sociétaux majeurs : le premier est d'ordre sanitaire, puisque ces toxines peuvent provoquer de graves pathologies chez les consommateurs de mollusques ou poissons contaminés (Van Dolah, 2000 ; Hégaret *et al.*, 2009b) ; le second est d'ordre économique car les organismes contaminés ne peuvent pas être commercialisés lors de blooms importants. Dans certains pays, où la pêche fournit à la fois les produits de base de l'alimentation et représente un vivier d'emplois importants, ces fermetures peuvent alors entraîner une crise sociale. Hoagland et Scatasta (2006) ont chiffré les impacts économiques de ces efflorescences de micro-algues à un coût total de 813 millions de dollars en 2005 au niveau de l'Europe. Les quatre principaux secteurs touchés étant les activités récréatives et le tourisme (637 millions de dollars), les pêcheries (147 millions de dollars), la gestion et surveillance des littoraux (18 millions de dollars) et la santé ($\$11 \times 10^6$). Ces coûts sont d'autant plus préoccupants pour les pêcheries et aquacultures que les premiers organismes touchés sont des filtreurs (huîtres, moules et pectinidés) avec une forte valeur commerciale.

Les phycotoxines

Parmi les 80 espèces de micro-algues potentiellement toxiques pour l'homme, il existe une multitude de phycotoxines produites par les micro-algues. Ces dernières sont généralement classées en fonction des syndromes qu'elles génèrent chez les êtres humains. Si la plupart du temps, l'ingestion est la voie de l'empoisonnement (Van Dolah, 2000), il a déjà été fait mention d'intoxications par voie aérienne (Backer *et al.*, 2005 ; Pierce *et al.*, 2005) ou par voie cutanée (Kermarec *et al.*, 2008).

Les phycotoxines amnésiantes (amnesic shellfish toxins, AST). Ces toxines se distinguent des autres phycotoxines puisque elles sont synthétisées exclusivement par des diatomées et quelques macro-algues rouges (Van Dolah, 2000). Le genre

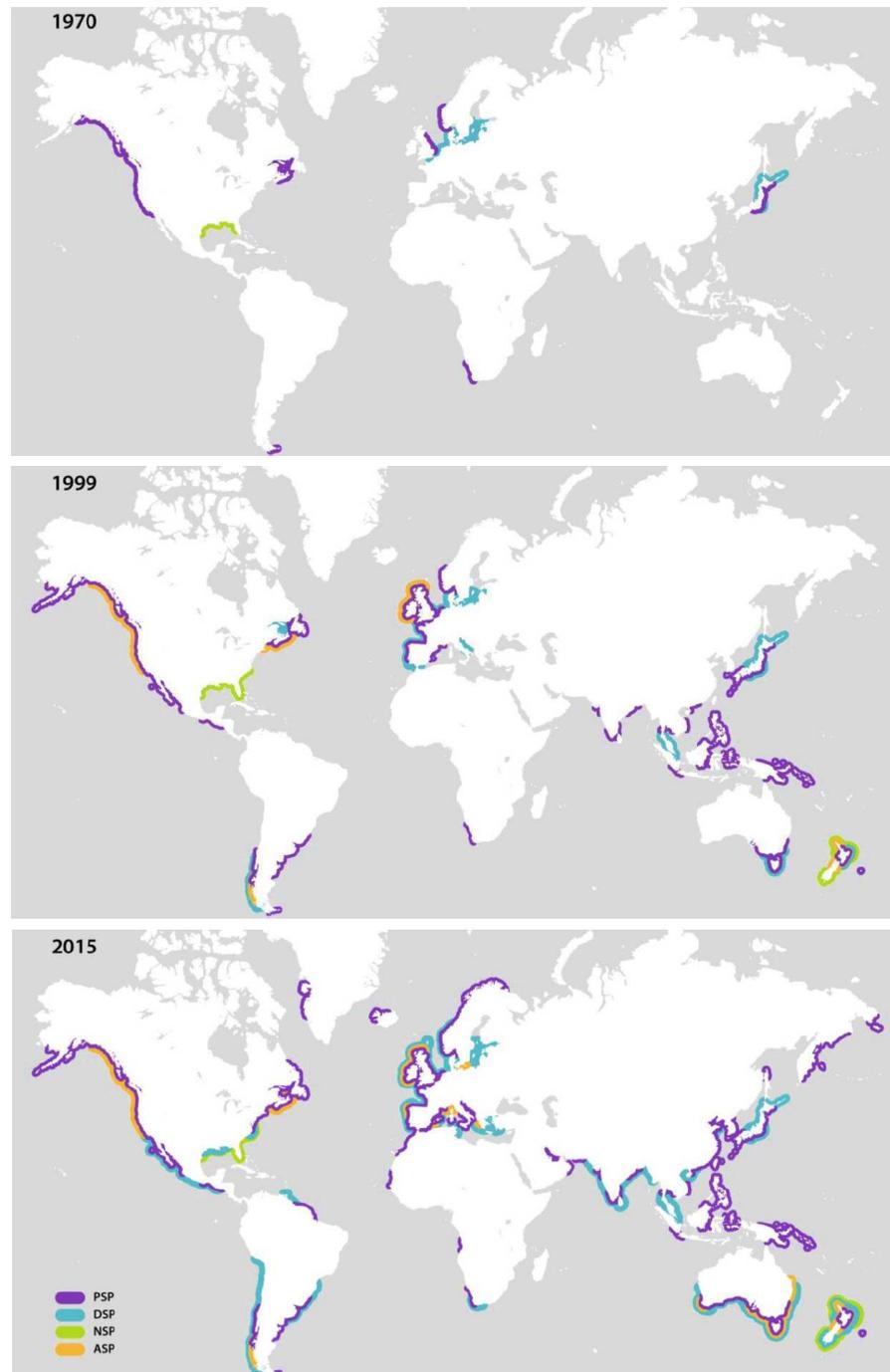


FIG. 5 – Évolution des efflorescences de micro-algues toxiques de 1970 à 2015. Les liserés colorés correspondent aux zones où des micro-algues toxiques ont impacté la santé humaine ou l'environnement. PSP : paralytic shellfish poisoning, DSP : diarrhetic shellfish poisoning, NSP : neurotoxic shellfish poisoning, ASP : amnesic shellfish poisoning. (Bouillot, 2017b; modifié d'après Van Dolah, 2000 et WHOI 2007)

Pseudo-nitzschia sp. (diatomée) est régulièrement répertorié en France dans les eaux côtières de Méditerranée et de l'Océan Atlantique. Mais c'est sur les côtes de l'Amérique du Nord que les blooms sont les plus intenses. L'acide domoïque responsable du syndrome amnésique (Bates *et al.*, 1989), a été découvert en 1987 au Canada où 153 cas d'intoxication aigüe après l'ingestion de moules contaminées ont été rapportés (Wright *et al.*, 1989). Trois d'entre eux furent mortels. Suite à une intoxication, le sujet est atteint durant les premières 24 heures de troubles gastro-intestinaux auxquels s'ajoutent par la suite des nausées, des troubles et des confusions et dans les cas les plus graves des amnésies pouvant mener à un coma mortel. Le seuil sanitaire pour cette toxine a été fixé par la commission européenne à 20 μg d'acide domoïque par g de chair. De façon plus anecdotique, c'est le comportement de Puffins intoxiqués par cette toxine qui aurait inspiré à Alfred Hitchcock son célèbre film "Les Oiseaux" (Bargu *et al.*, 2012).

Les phycotoxines diarrhéiques (diarrhetic shellfish toxins, DST). Ces phycotoxines correspondent généralement à l'acide okadaïque, ses dérivés et quelques autres toxines (dinophysistoxines et pectenotoxines; Kat, 1979; Yasumoto *et al.*, 1985). On les retrouve principalement accumulées par les mollusques bivalves (Frémy et Lassus, 2001). Lipophile et thermostable, l'acide okadaïque est synthétisé par certains dinoflagellés du genre *Dinophysis* et *Prorocentrum* que l'on retrouve dans de nombreuses régions du monde (Europe de l'ouest, Golfe du Saint-Laurent, Amérique centrale et du sud, Asie, Afrique du Sud, Océanie...; Hallegraeff, 1993; Reguera *et al.*, 2012). Si ces toxines ne sont pas mortelles pour l'homme, elles provoquent d'importants troubles gastro-intestinaux dans les deux heures suivant l'ingestion (Barceloux, 2008). Ces 40 dernières années, des milliers d'intoxications ont été reportées (Hallegraeff *et al.*, 2003). La norme européenne CE n°853/2004 légifère actuellement sur ces toxines et interdit la vente de coquillages contenant plus de 160 μg d'équivalent-acide okadaïque par kilogramme de chair.

Les phycotoxines neurotoxiques (neurotoxic shellfish toxins, NST). Les dinoflagellés de l'espèce *Karenia brevis* sont les principaux phytoplanctons neurotoxiques. On les retrouve aux Etats-Unis, Océanie, Japon et Pays-bas (Bowers *et al.*, 2006; Plakas et Dickey, 2010). Ils synthétisent la brevetoxine et quelques dérivés provoquant des problèmes gastro-intestinaux et neurologiques chez les consommateurs de mollusques bivalves contaminés. L'inhalation d'embruns marins contenant ces micro-algues peut également affecter les voies respiratoires (Pierce *et al.*, 2005). Plusieurs cas d'intoxication ont déjà été enregistrés; cependant aucun d'eux n'a été mortel.

Les phycotoxines paralysantes (paralytic shellfish toxins, PST). Des intoxications par ces phycotoxines ont été recensées partout dans le monde. Seules les latitudes les plus équatoriales d'Afrique et d'Amérique du sud ainsi que les eaux arctiques sont épargnées (Van Dolah, 2000). Les premiers cas d'intoxications humaines ont été décrits en 1793 dans les carnets de voyage du capitaine britannique George Vancouver, alors en Colombie Britannique. Une partie de son équipage ayant consommée des moules contaminées fut intoxiquée. Cinq heures après ce repas, un matelot décéda même des suites de cet empoisonnement. Ces toxines peuvent induire dans la première heure après la consommation de bivalves, gastéropodes ou crustacés contaminés des céphalées, troubles gastro-intestinaux, paresthésie du visage ou des extrémités (Camacho *et al.*, 2007 ; Etheridge, 2010). Dans les cas de contamination les plus aiguës, une paralysie musculaire peut provoquer des troubles respiratoires potentiellement mortels. De nos jours, 2000 cas d'empoisonnement (15 % de mortalité) sont recensés au niveau mondial chaque année (Hallegraeff *et al.*, 2003) : l'ingestion d'une seule dose de 500 μg de ces toxines (équivalent d'une tête d'épingle) peut être fatale et aucun antidote n'est pour le moment connu. La saxitoxine (STX) et sa vingtaine de dérivés (gonyautoxine, neosaxitoxine...) sont les principales PST. Elles sont thermostables, hydrophiles et stables en milieu acide. Elles peuvent être bioaccumulées dans les différents niveaux trophiques, et des mortalités dues à ces toxines ont été constatées chez certains mammifères marins (Geraci *et al.*, 1989 ; Reyero *et al.*, 1999). Leur action principale est le blocage de l'influx nerveux au niveau des canaux sodium voltage-dépendants empêchant la transmission du potentiel d'action jusqu'aux nerfs et aux muscles (Narahashi et Moore, 1968 ; Ritchie et Rogart, 1977). Ces toxines sont synthétisées par des dinoflagellés du genre *Alexandrium*, *Pyrodinium* et *Gymnodinium* et quelques cyanobactéries. En France on retrouve surtout *Alexandrium minutum* sur les côtes atlantiques et méditerranéennes et *A. catenella/tamarense* dans l'étang de Thau. La norme actuelle pour la consommation de coquillages contaminés est fixée à 80 μg d'équivalent STX pour 100 g de chair dans la plupart des pays (Shumway, 1990). Dans la suite de ce travail, nous allons nous intéresser exclusivement à ce type de phycotoxine.

Phycotoxines émergentes De nouvelles substances toxiques sont actuellement surveillées de très près. Parmi celles-ci, les ciguatoxines qui provoquent la ciguatera (ou gratte) dans les régions coralliennes circumtropicales sont synthétisées par le dinoflagellé *Gambierdiscus toxicus* (Vernoux, 1988). Suite à la consommation de poissons contaminés, ces toxines peuvent provoquer des troubles neurologiques susceptibles de persister pendant des mois, voire des années. Aussi, au début des années 1990, trois nouvelles toxines possédant un cycle imine dans leur molécule ont été identifiées. Ces azaspiracides (Satake *et al.*, 1998), spirolides (Hu *et al.*, 1995) et gymnodimines (Seki *et al.*, 1995), potentiellement synthétisées par des

dinoflagellés ont des effets diarrhéiques ou neurotoxiques. Les palytoxines et les ovatoxines font également partie de ces phycotoxines émergentes et sont de plus en plus étudiées (Amzil *et al.*, 2012).

1.3.2 Accumulation des PST chez les bivalves

La quantité de toxines concentrée dans la chair des bivalves peut donc être représentée par un équilibre entre la quantité de toxines ingérées moins les toxines biotransformées et celles éliminées (Bricelj *et al.*, 1990 ; Lassus *et al.*, 2004; 2005; 2007 ; Guéguen *et al.*, 2011).

Intoxication et détoxification des PST par les bivalves

Ces toxines étant intracellulaires et non libres dans le milieu, la seule voie d'accumulation chez les bivalves filtreurs est l'ingestion. Ces derniers peuvent filtrer plusieurs litres d'eau de mer en une heure (Bayne, 2004). Avec des concentrations en *A. minutum*, pouvant dépasser le million de cellule par litre (Chapelle *et al.*, 2015), les bivalves peuvent concentrer de nombreuses quantités de toxines dans leur appareil digestif. Contrairement à certains contaminants organiques (PCB) qui se lient préférentiellement aux lipides (Bodiguel *et al.*, 2009a), les PST formant une famille composée de 21 molécules dérivées de la saxitoxine (Oshima, 1995b), ne se lient pas à un type de tissu en particulier. On retrouve ainsi la majeure quantité des toxines (65 à 95 %) dans les viscères (Bricelj *et al.*, 1990 ; Silvert et Cembella, 1995 ; Guéguen *et al.*, 2008a). Ces toxines sont ensuite biotransférées par ordre décroissant de quantité vers le manteau, les branchies et le muscle adducteur et dans une moindre mesure la gonade et les gamètes (Cembella *et al.*, 1994 ; Shumway *et al.*, 1994 ; Estrada *et al.*, 2007b).

La détoxification des PST chez les bivalves est généralement décrite comme une succession de deux dynamiques (Silvert et Cembella, 1995 ; Yamamoto *et al.*, 2003 ; Lassus *et al.*, 2007). D'ailleurs, les modèles simulant la concentration de phycotoxines dans les tissus des bivalves les plus efficaces se basent sur l'utilisation de deux compartiments (Silvert et Cembella, 1995 ; Yamamoto *et al.*, 2003 ; Yu *et al.*, 2005 ; Baron *et al.*, 2006 ; Lassus *et al.*, 2007 ; Guéguen *et al.*, 2008a). La première, rapide, correspond à l'égestion sous forme de fèces des toxines non-assimilées par les bivalves ; elle permet d'éliminer une grande quantité de toxines. La seconde, beaucoup plus lente résulte de processus cellulaires qui permettent la biotransformation des toxines en composés moins toxiques puis leur élimination via l'excrétion (Blanco *et al.*, 1997 ; Silvert et Cembella, 1995 ; Yamamoto *et al.*, 2003 ; Lassus *et al.*, 2007 ; Guéguen *et al.*, 2008a). Cette dernière voie de détoxification serait activée par les branchies dès les premiers contacts avec une micro-algue toxique (Fabioux *et al.*, 2015).

Variabilité

Variabilité inter-spécifique Les différences d'habitats, de nutrition ou de sensibilité à la toxine peuvent expliquer cette variabilité. La sensibilité aux PST a été mise en évidence par Twarog *et al.* (1972) en mesurant les quantités nécessaires de saxitoxines pour bloquer le potentiel d'action de nerfs isolés provenant de différents bivalves. Cette sensibilité, ne présentant pas de logique phylogénique, s'est avérée être corrélée aux différences d'accumulation observées entre les bivalves. Ainsi, les espèces les plus sensibles accumulent peu quand les espèces les moins sensibles peuvent accumuler de grandes quantités de toxines. En outre, cette sensibilité a également été reliée à différents comportements. Bricelj *et al.* (1990; 1991; 1996) ont montré que les bivalves les plus sensibles évitaient les micro-algues toxiques en fermant leurs valves, en arrêtant de filtrer, en s'enfouissant ou en fuyant par claquement de valves (pectinidés). Dans le cas de *C. gigas*, les travaux de Boullot (2017b) ont montré que les nerfs de cette espèce étaient relativement peu sensibles à la saxitoxine. La corrélation sensibilité des nerfs - accumulation de toxines est donc aussi valable avec cette espèce puisque *C. gigas* a tendance à accumuler des quantités significatives de toxines. Certaines études ont montré que le temps de dépuración varie énormément d'un bivalve à l'autre (Lin *et al.*, 2004). Des espèces comme *C. gigas* ou *Mytilus edulis* n'auront besoin que de quelques semaines pour entièrement dépurar tandis que d'autres comme le pétoncle *Placopecten magellanicus*, la palourde *Saxidomus giganteus* et la mactre *Spisula solidissima* peuvent rester contaminés par les PST pendant plusieurs mois ou années (Bourne, 1965 ; Kvitek et Beitler, 1991 ; Shumway *et al.*, 1994). Ceci représente d'ailleurs une des raisons pour lesquelles on retrouve une importante variabilité interspécifique (jusqu'à un facteur 100) dans l'accumulation des PST chez les bivalves.

Variabilité intra-spécifique Contrairement à la variabilité inter-spécifique qui a été plus largement étudiée, peu de travaux de recherche n'ont pour le moment traité de la variabilité intra-spécifique. Shumway et Cucci (1987) ont par exemple montré que l'historique d'exposition à des micro-algues toxiques pouvait influencer sur les accumulations futures. En effet, les moules (*M. edulis*) qui avaient déjà été en contact avec des micro-algues toxiques ont accumulé des plus faibles quantités de PST. La taille peut également être un facteur de variabilité intra-spécifique. En effet, les plus petits individus possèdent un ratio taux d'ingestion par unité de biomasse plus important que les gros individus. Ainsi, Aalvik et Framstad (1981) ont observé une plus forte accumulation de toxines chez les petits individus de *M. edulis*. Chez la mye (*Mya arenaria*), Bricelj *et al.* (2005) ont remarqué que deux populations relativement éloignées accumulaient des quantités de PST assez différentes. En s'intéressant aux récepteurs de la STX, les auteurs ont pu mettre en évidence une mutation d'un acide aminé dans la région codant pour une sous-unité des canaux à sodium chez les individus résistants. Grâce à cette mutation, ces récepteurs

avaient ainsi une affinité beaucoup plus faible à la STX. Bien que cette étude permette d'expliquer cette variabilité intra-spécifique entre deux populations de mye, aucun autre travail n'a pu mettre en évidence cette même mutation chez d'autres bivalves. Cette variabilité intra-spécifique n'est donc toujours pas expliquée, et pourtant au sein même de certaines espèces, les quantités de toxines accumulées varient énormément. Ainsi, MacQuarrie et Bricelj (2008) ont relevé une différence d'accumulation d'un facteur égal à 40 entre deux populations de myes sauvages.

Cas de *C. gigas* Comme expliqué précédemment, peu d'études ont étudié la variabilité inter-individuelle chez *C. gigas*. Et pourtant plusieurs résultats montrent qu'elle est significative. Lorsque l'on s'intéresse aux résultats présentés par Haberkorn *et al.* (2011), on peut remarquer qu'il existe un facteur 80 entre l'huître ayant le moins accumulé et celle ayant accumulé la plus grande quantité de toxines, alors que celles-ci ont subi la même exposition expérimentale à *A. minutum* pendant seulement 4 jours. L'étude de Mat *et al.* (2013) fait même état d'un facteur allant jusqu'à 5000 après 48 heures d'exposition.

Concernant l'effet de la ploïdie, Haberkorn *et al.* (2010a) ont dans un premier temps montré que les huîtres triploïdes accumulaient deux fois plus que les diploïdes. Dans un second temps, en partant de ce résultat, Guéguen *et al.* (2012) ont comparé les différences d'accumulation en fonction des stades de maturité des huîtres. Leurs résultats ont permis de mettre en évidence que les triploïdes accumulaient significativement plus que les diploïdes seulement lorsque ces dernières étaient dans leur pic de maturation sexuelle. En étudiant des triploïdes allouant différentes quantités d'énergie à la reproduction, les résultats d'Hermabessiere *et al.* (2016) n'ont cependant pas pu mettre en évidence un lien entre l'effort reproductif et l'accumulation de toxines.

Facteurs influençant l'accumulation des PST chez *C. gigas*

Micro-algue toxique Les caractéristiques de la micro-algue et en particulier la concentration à laquelle les bivalves sont exposés jouent un rôle primordial dans l'accumulation des PST. La quantité de toxines paralysantes synthétisée par la micro-algue est une autre caractéristique capitale qui dépend de l'espèce et de la souche utilisée. En effet, toutes les espèces et souches de micro-algues ne synthétisent pas le même cortège toxinique, les mêmes quantités de toxines et dans les mêmes proportions. D'ailleurs, au sein d'une souche, la quantité de toxines synthétisées peut dépendre de la phase de croissance de la culture, des nutriments et/ou de la lumière (Cembella *et al.*, 1987 ; Anderson *et al.*, 1990 ; Laabir *et al.*, 2013). Aussi, certaines espèces de dinoflagellés peuvent s'enkyster lorsque les conditions sont défavorables modifiant ainsi la quantité de toxines produites par cellule (Yentsch et Mague, 1979 ; Oshima *et al.*, 1992 ; Persson *et al.*, 2006). Les micro-algues toxiques sont capables de produire en plus des toxines paralysantes certains com-

posés extracellulaires aux propriétés hémolytiques (Arzul *et al.*, 1999 ; Fistarol *et al.*, 2004) ou cytotoxiques (Flores *et al.*, 2012). Ces composés, dispersés dans le milieu, empêchent la croissance d'autres espèces de phytoplancton en compétition pour les nutriments et/ou la lumière (Graneli et Hansen, 2006). Des études ont montré que ces composés avaient un effet inhibiteur sur la nutrition des bivalves (Borcier *et al.*, 2017, Castrec *et al.*, in prep). Par ailleurs, les propriétés physiques (taille, forme, présence de spicules), chimiques (signature en carbohydrates) et nutritives de l'algue peuvent également influencer sur leur appétence vis à vis des bivalves (Espinosa *et al.*, 2008; 2016).

Conditions environnementales Les paramètres de l'environnement peuvent affecter l'intoxication et la détoxification des PST. Selon la loi d'Arrhenius, la température influe sur les fonctions physiologiques de l'huître ; à une valeur optimale de température correspond le maximum de la fonction physiologique considérée (Hawkins, 1995 ; Angilletta *et al.*, 2002 ; Clarke et Fraser, 2004). La filtration, qui influe sur l'accumulation de toxines, est dépendante de la température (Boucaud *et al.*, 1983). Hégaret *et al.* (2007b) ont ainsi observé une accumulation plus forte de PST à 18 °C qu'à 12 °C chez des individus de *C. virginica* exposés au dinoflagellé toxique *Alexandrium fundyense*. Pour ce qui est de la détoxification, l'effet de la température est plus difficilement interprétable puisque des résultats opposés ont été publiés. Il a été suggéré que *M. edulis* détoxiquait plus rapidement à 21°C qu'à 12°C (Prakash *et al.*, 1971). À l'inverse, Moroño *et al.* (2001) ont montré que seule l'accumulation de la gonyautoxine (GTX1) variait chez la moule (*M. galloprovincialis*) avec la température et Madenwald (1985) n'ont observé aucun effet chez *S. giganteus* entre 7.5 et 16.5 °C. Cependant, il a été prouvé que la température avait un effet significatif sur la toxicité des cellules d'*Alexandrium* (Ogata *et al.*, 1987). L'hydrodynamisme aurait également un effet sur l'accumulation de toxines. En effet, les dinoflagellés comme certaines espèces du genre *Alexandrium* sont très sensibles aux turbulences qui induisent chez elles un enkystement temporaire (Laanaia *et al.*, 2013). Ces cellules sont d'une part généralement plus toxiques (Yentsch et Mague, 1979 ; Oshima *et al.*, 1992 ; Persson *et al.*, 2006), d'autre part elles sédimentent et ne sont plus disponibles pour les bivalves filtreurs. La présence dans l'eau de mer d'autres micro-algues est également un paramètre à prendre en compte. Puisque les huîtres ont une capacité de sélection très efficace, un tri en faveur ou en défaveur de la micro-algue toxique peut ainsi être opéré. Par ailleurs, Lassus *et al.* (2000) ; Guéguen *et al.* (2008a) ont montré que le fait de nourrir les bivalves pendant la phase de détoxification par des micro-algues non-toxiques accélérerait l'élimination des toxines. Enfin, la quantité de matière en suspension (seston) joue un rôle important sur la prise alimentaire. Lorsque le milieu est très turbide, la filtration peut être stimulée (Kiørboe et Møhlenberg, 1981) et l'efficacité de sélection des particules par les bivalves est diminuée (Urrutia *et al.*, 1996; 2001).

Les modèles décrivant la dynamique d'intoxication et de détoxification chez les bivalves

Différents modèles ont été développés pour décrire l'accumulation et la détoxification des PST chez plusieurs espèces de bivalves, principalement sur la base de deux méthodes différentes.

- La première méthode repose sur la modélisation des cinétiques des différents composés toxiques Chen et Chou (2001) ; Blanco *et al.* (2003). Selon cette méthode, les modèles les plus satisfaisants décrivent l'accumulation à partir d'un taux de rétention calculé depuis un taux de filtration (clearance rate ; CR), d'une efficacité d'assimilation (assimilation efficiency ; AE), d'une concentration en micro-algues et de son profil toxinique. Des taux de réduction et d'épimérisation propres à chaque toxine permettent la transformation d'un composé en un autre. Enfin, des taux de détoxification distincts, suivant une cinétique du premier ordre, permettent l'élimination de chaque toxine.
- La seconde méthode repose sur une ségrégation en deux compartiments : les toxines assimilées et les toxines non-assimilées. Cette méthode a été largement décrite dans la littérature (Silvert et Cembella, 1995 ; Yamamoto *et al.*, 2003 ; Yu *et al.*, 2005 ; Baron *et al.*, 2006 ; Lassus *et al.*, 2007) et brièvement abordée dans la partie 1.3.2. Dans ce cas, les toxines assimilées représentent l'ensemble des toxines internalisées suite au processus de digestion dans la glande digestive. Ces toxines peuvent être ensuite transférées depuis le milieu interne de la glande digestive vers le manteau, le muscle, les branchies, etc. Le second compartiment, les toxines non-assimilées, décrivent les toxines ingérées qui traversent le tube digestif sans être assimilées par l'animal. Comme expliqué dans la partie 1.3.2 les toxines assimilées subissent une détoxification lente puisqu'elles dépendent de processus successifs de transfert, de dégradation des composés en composés moins toxiques puis de l'excrétion. En revanche, le compartiment des toxines non-assimilées présente un turnover assez rapide. Le taux d'élimination de ces toxines dépend uniquement du temps de traversée d'une particule de la bouche à l'anus, (gut transit time GST).

Un modèle couplant ces deux méthodes a été développé (Guéguen *et al.*, 2011) et a montré que le fait d'ajouter des compartiments, décrivant les différents tissus où s'accumulent les toxines, ne permettait pas d'améliorer la précision des simulations.

1.3.3 Effets des PST sur les bivalves filtreurs

Dans cette étude, en plus de modéliser l'accumulation des PST, nous proposons une approche nouvelle qui vise à intégrer l'effet des toxines sur la bioénergétique du bivalve contaminé. Ainsi, même si les bivalves sont capables d'accumuler de grandes quantités de toxines paralysantes (Hwang *et al.*, 1990 ; Lu et Hwang, 2002), de

nombreux travaux ont mis en évidence que les PST avaient un impact important sur leur physiologie. Deux revues assez complètes rassemblent ainsi les différents impacts des PST répertoriés sur les bivalves (Shumway, 1990 ; Landsberg, 2002). L'étude des effets des toxines paralysantes sur les bivalves reste cependant assez fragmentaire, se limitant aux espèces de bivalves emblématiques ou à celles dotées d'un fort intérêt économique. De plus, les équipes de recherche qui s'intéressent à ce sujet travaillent souvent avec l'espèce de micro-algue productrice de toxines paralysantes endémique ou présente dans leur région. La littérature se compose donc d'une mosaïque d'études analysant l'effet des PST sur de nombreux bivalves exposés à différentes micro-algues toxiques. À partir de toutes ces études, il est difficile de tirer des conclusions générales puisque de très nombreux paramètres sont à prendre en compte lorsque l'on traite de l'interaction micro-algue toxique - bivalve.

Nutrition La nutrition constitue pour le moment le seul vecteur d'entrée avéré des toxines paralysantes dans l'organisme des bivalves. Associée au comportement valvaire, elle représente une fonction importante dans l'accumulation des toxines. Les bivalves opèrent un refus alimentaire en présence de certaines micro-algues toxiques, soit en gardant les valves fermées, soit en triant les particules, ou soit en diminuant leur taux de filtration (Haberhorn *et al.*, 2010b ; Tran *et al.*, 2010). Basti *et al.* (2009) ont décelé une fermeture totale mais temporaire des valves de *R. philippinarum* dès le premier contact avec *Heterocapsa circularisquama*. Ce comportement d'évitement primaire est à mettre en parallèle avec les travaux de Bardouil *et al.* (1993) ; Wildish *et al.* (1998) ; Lassus *et al.* (2004) qui ont observé chez différents bivalves un arrêt de l'alimentation durant les premières heures suivant une exposition à des micro-algues toxiques. Ensuite, les réponses semblent assez hétérogènes selon les espèces (Leverone *et al.*, 2007 ; Hégaret *et al.*, 2007a ; Contreras *et al.*, 2012). Chez les *Crassostreinae* dont fait partie *C. gigas*, la filtration tend à diminuer face à un bloom de micro-algues toxiques (Shumway et Cucci, 1987 ; Gainey et Shumway, 1988a ; Wildish *et al.*, 1998 ; Laabir *et al.*, 2007). Tran *et al.* (2010) ont par également étudié la réponse valvaire de *C. gigas* durant une exposition à *A. minutum* et ont observé un nombre plus important de micro-fermetures (fermeture rapide et incomplète des valves) avec cette micro-algue. Selon toute vraisemblance, ce comportement servirait à expulser les cellules non sélectionnées par les cils branchiaux de l'huître. Haberhorn *et al.* (2011) ont fait les mêmes constatations sur ce couple bivalve-micro-algue toxique, en ajoutant que le nombre de micro-fermetures était corrélé à la concentration en micro-algues toxiques et à la proportion de cette micro-algue par rapport à une micro-algue non toxique. Une très faible concentration en micro-algues toxiques déclencherait ce comportement (Basti *et al.*, 2009). Par ailleurs, Haberhorn *et al.* (2010b) ont démontré que les huîtres creuses exposées à *A. minutum* avaient leurs branchies

beaucoup plus chargées en mucus. Ces résultats confirmeraient l'hypothèse de rejet de ces micro-algues puisque le mucus permet l'agglomération de cellules non sélectionnées pour faciliter leur rejet sous forme de pseudo-fèces. Cependant, il est peu probable que ce tri pré-ingestif soit basé sur la toxicité des micro-algues. En marquant des cellules toxiques et non-toxiques d'*A. tamarense*, Li et Wang (2001) ont montré que la moule verte (*Perna viridis*) et la palourde (*Ruditapes philippinarum*) étaient incapables de sélectionner les micro-algues non toxiques. La sélection des particules s'appliquant surtout en fonction de critères nutritionnels, physiques (taille, forme, concentration, turbidité du milieu) et chimiques (Cognie *et al.*, 2003 ; Ward et Shumway, 2004 ; Beninger *et al.*, 2008 ; Espinosa *et al.*, 2010). Il convient, cependant, de faire la distinction entre la réponse engendrée par la micro-algue elle-même, comme présenté ci-dessus, et l'effet à proprement parler de la toxine sur le bivalve. Pour ce faire, Estrada *et al.* (2010) se sont affranchis du filtre que représente le processus nutritif en injectant directement différentes doses de toxines paralysantes dans l'organisme de *Nodipecten subnodosus*. Si cela a induit une paralysie dont la durée est proportionnelle à la dose dans le muscle adducteur, les fonctions associées à la prise alimentaire n'ont pas été altérées. Pour ce qui est du système digestif, Haberkorn *et al.* (2010b) ont mis en évidence une réaction inflammatoire au niveau de la glande digestive de *C. gigas* après la consommation d'*A. minutum*. Un nombre important d'hémocytes étaient mobilisés autour des intestins, certains ont même franchi l'épithélium (diapédèse) de la glande digestive et des conduits intestinaux pour aller encapsuler les cellules algales. Ces observations ont également été effectuées pour d'autres espèces de bivalves (Estrada *et al.*, 2007a ; Galimany *et al.*, 2008b;c;a ; Hégaret *et al.*, 2009b). Trois hypothèses ont été avancées pour expliquer cette réaction : elle pourrait permettre de limiter les dégâts tissulaires dus aux toxines, de détoxiquer ou alors de neutraliser une invasion bactérienne opportuniste. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les huîtres n'étaient pas capables de digérer complètement les cellules de micro-algues toxiques (Galimany *et al.*, 2008b;a ; Hégaret *et al.*, 2008 ; Haberkorn *et al.*, 2010b). Li *et al.* (2002) ont observé une diminution de l'efficacité d'assimilation chez *P. viridis* et *R. philippinarum* après une exposition à *A. tamarense*. Les auteurs ont également remarqué que les fèces des bivalves exposés étaient mélangés à du mucus suggérant aussi des altérations du système digestif. Fernández-Reiriz *et al.* (2008) ont corroboré ces observations suite à l'exposition de *Mytilus chilensis* à *A. catenella*.

Métabolisme Le métabolisme se définit comme l'ensemble des fonctions physiologiques impliquées dans l'utilisation et la production d'énergie fournie par l'environnement. En affectant de nombreuses fonctions, les toxines paralysantes et les micro-algues qui la produisent modifient le métabolisme des bivalves. Gainey et Shumway (1988a) ont étudié l'impact de micro-algues toxiques sur quatre espèces

de bivalves et observé des réponses hétérogènes. Tandis que *S. solidissima* et *P. magellanicus* ont diminué leur consommation d'oxygène, *M. arenaria* l'a augmentée. Deux populations de moules *M. edulis* ont été suivies. L'une avait déjà été exposée à des micro-algues toxiques et n'a pas modifié sa respiration, tandis que l'autre qui n'avait jamais été en contact avec des micro-algues productrices de PST a augmenté son taux de respiration. Cependant, une deuxième étude utilisant des souches d'*A. tamarense*, produisant ou non des PST, sur 6 espèces de bivalves n'a pas permis de rendre compte d'un effet de la souche sécrétant des PST sur la consommation d'oxygène (Marsden et Shumway, 1993). Li *et al.* (2002) a étudié l'effet de concentrations croissantes de micro-algues toxiques sur des moules et des palourdes sans observer d'effet significatif sur le taux de respiration. Les travaux présentés par Marsden et Shumway (1993) ont également évalué l'impact de micro-algues toxiques sur le rythme cardiaque de 8 espèces de bivalves. Les réponses sont là aussi assez hétérogènes en fonction des espèces et des individus. Le rythme cardiaque des hétérodontes comme *M. arenaria*, *S. solidissima*, *Mercenaria mercenaria* ou *Arctica islandica* change pas ou peu. Celui des pteriomorphes (*M. edulis*, *Geukensia demissa*, *O. edulis*) a subi différentes modifications (inhibitions, excitations, arythmies). Chez *O. edulis* l'espèce la plus proche de *C. gigas* suivie dans cette étude, 22 % des individus ont subi une inhibition (les 78 % restant n'ont pas subi de modification). Par ailleurs, l'évaluation du budget énergétique de deux bivalves (*P. viridis* et *R. philippinarum*) à travers une approche "scope for growth" a permis de montrer une diminution du taux de croissance lorsqu'ils étaient exposés à des micro-algues toxiques (Li *et al.*, 2002).

Système immunitaire Différentes études ont montré que les micro-algues synthétisant des PST provoquaient une importante réaction immunitaire chez les bivalves, notamment au niveau des branchies en déclenchant une activation des gènes antioxydants (Fabioux *et al.*, 2015). Chez les bivalves, ce sont les hémocytes, des cellules circulantes dans l'hémolymphe (le circuit semi-ouvert qui passe par tous les tissus), qui sont responsables de la réaction immunitaire (Cheng, 1996) et qui peuvent intervenir lors de contacts avec des polluants ou des pathogènes par exemple (Chu et La Peyre, 1993 ; Ford *et al.*, 1993 ; Fisher *et al.*, 2000) mais aussi avec des micro-algues toxiques (Wikfors et Smolowitz, 1993; 1995 ; Galimany *et al.*, 2008a;b;c). Il existe une variabilité inter-spécifique importante dans la réponse immunitaire face aux micro-algues toxiques chez les bivalves. Dans certains cas le système immunitaire apparaît stimulé (augmentation des capacités d'adhésion, de phagocytose et de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les hémocytes), dans d'autres inhibé. L'espèce de micro-algue sécrétrice de toxines paralysantes jouerait également un rôle important. Dans le cas de *C. gigas*, Haberkorn *et al.* (2010b) ont observé une importante réaction inflammatoire au niveau de l'appareil digestif de *C. gigas* après l'ingestion de cellules d'*A. minutum*.

Cette réaction s'est manifestée par un regroupement massif d'hémocytes autour de l'estomac, de la glande digestive et de l'intestin, suggérant une mobilisation très localisée. Un nombre important de ces cellules ont franchi la paroi épithéliale de la glande digestive pour encapsuler les débris et kystes d'*A. minutum*. Cependant aucune diminution du nombre d'hémocytes circulants n'a été observée. Les hémocytes seraient donc assez résistants aux toxines paralysantes (Hégaret *et al.*, 2007b).

Reproduction et développement embryonnaire L'exposition aux micro-algues toxiques peut affecter la reproduction et les premiers stades de vie des bivalves, notamment le développement larvaire et embryonnaire (Yan *et al.*, 2001 ; Springer *et al.*, 2002 ; Yan *et al.*, 2003 ; Leverone *et al.*, 2006 ; Padilla *et al.*, 2006 ; Shumway *et al.*, 2006). Différentes études ont fait état d'altération des gamètes, notamment mâles, suite au contact de géniteurs avec des micro-algues toxiques. Chez l'huître perlière *Pinctada fucata*, les spermatozoïdes étaient ainsi moins mobiles, moins rapides, avaient un taux de fécondation plus faible et donnaient des embryons moins viables. Haberkorn *et al.* (2010b) et Le Goïc *et al.* (2013) ont aussi mis en évidence une réduction de la mobilité, une diminution du contenu en ATP et en ADN des spermatozoïdes et une augmentation de la production de ROS (dérivés réactifs de l'oxygène) dans les ovocytes de *C. gigas*. Ces résultats indiquent également une altération de la structure du noyau et une modification de l'activité mitochondriale. La micro-algue toxique *A. tamarense* induirait une diminution de la survie, du taux de croissance et du taux de fixation de larves de pectinidés (Yan *et al.*, 2001; 2003). Il apparaît donc probable que ces altérations puissent modifier le succès reproducteur des bivalves. Le premier bloom de *Karenia brevis* dans une baie de Caroline du Nord a ainsi diminué le recrutement d'*Argopecten irradians concentricus* à 2 % du recrutement annuel habituel (Summerson et Peterson, 1990).

Les PST affectent donc de façon importantes la nutrition, le métabolisme et les jeunes stades des bivalves chez qui ils induisent aussi une importante réponse immunitaire. Dans cette étude, nous allons quantifier à partir d'expériences dédiées les coûts énergétiques associés aux effets des PST chez *C. gigas* pour pouvoir les retranscrire dans un modèle de bioénergétique basé sur la théorie des budgets d'énergie dynamiques.

1.4 Modélisation et théorie des budgets d'énergie dynamiques (DEB)

1.4.1 La théorie DEB

Généralités La théorie des budgets d'énergie dynamiques (DEB) (Kooijman, 2010) pose un certain nombre de principes biologiques permettant l'étude de flux de masse et d'énergie au sein d'un organisme. De par ses bases biologiques et thermodynamiques, cette théorie permet de quantifier, selon une approche mécaniste et conservatrice, la prise d'énergie et son allocation aux fonctions que sont la croissance, le développement, la reproduction ou la maintenance. Aujourd'hui, les paramètres DEB de plus de 700 espèces allant des autotrophes aux mammifères en passant par des dinosaures, ont été estimés et sont en accès libre dans la collection "add-my-pet". Cette théorie a été largement appliquée pour permettre la modélisation de la croissance ou de la reproduction de plusieurs espèces de poissons et bivalves marins en fonction de paramètres environnementaux (Pouvreau *et al.*, 2006 ; Bourlès *et al.*, 2009 ; Pecquerie *et al.*, 2009 ; Rosland *et al.*, 2009 ; Alunno-Bruscia *et al.*, 2011 ; Lavaud *et al.*, 2014). Ce modèle a été largement utilisé pour étudier les différents stades de vie d'une espèce (Rico-Villa *et al.*, 2010 ; Llandres *et al.*, 2015), l'accumulation de contaminants et/ou leurs effets sur les individus (Casas et Bacher, 2006 ; Bodiguel *et al.*, 2009b ; Eichinger *et al.*, 2010 ; Augustine *et al.*, 2012 ; Jager et Zimmer, 2012), la dynamique de populations (Diekmann et Metz, 2010 ; Kearney, 2012 ; Kearney *et al.*, 2013) ou encore l'effet du changement climatique sur les organismes (Molnár *et al.*, 2011 ; Thomas *et al.*, 2016 ; Gourault *et al.*, in prep.).

Principes D'après la théorie DEB, la bioénergétique d'un organisme peut être décrite selon la dynamique de trois variables d'état : (1) Le volume structural V qui comprend l'ensemble des tissus somatiques sans les réserves, (2) les réserves E et (3) l'énergie allouée à la maturité et à la reproduction E_R (Fig. 6). Le compartiment de réserves est alimenté en énergie depuis les ressources présentes dans le milieu naturel suite à leur ingestion, puis leur assimilation. Une fraction fixe κ de cette énergie est ensuite mobilisée vers la croissance somatique et ses coûts de maintenance associés, avec une priorité pour ces derniers (Fig. 6). La partie restante égale à $(1-\kappa)$ est allouée dans un premier temps à la maintenance de la maturité puis à la maturation lorsque l'individu n'est pas encore adulte ou à la reproduction lorsque celui-ci est mature (Fig. 6).

Le modèle DEB huître creuse Le modèle DEB a été développé pour de nombreuses espèces de bivalves (van der Veer et Alunno-Bruscia, 2006) dont la moule *M. edulis* (Rosland *et al.*, 2009 ; Troost *et al.*, 2010 ; Thomas *et al.*, 2011b ; Saraiva

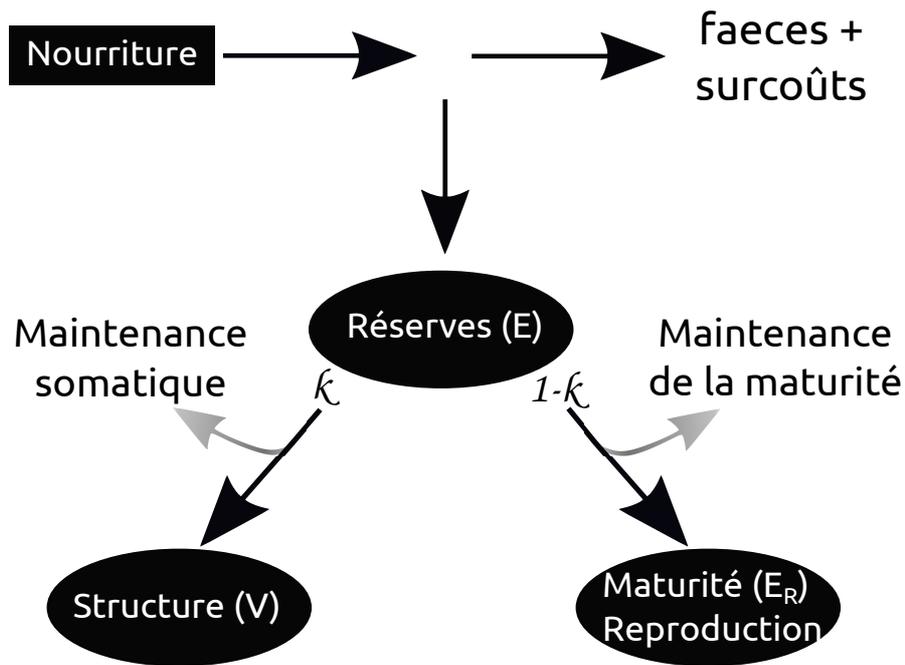


FIG. 6 – Schéma descriptif de base du modèle DEB. La variable forçante (nourriture) est représentée par un carré, les trois variables d'état (E , V , E_R) par une ellipse, les flux de maintenance par des flèches grisées et les échanges d'énergie par des flèches noires.

et al., 2012 ; Picoche *et al.*, 2014), la palourde *R. philippinarum* (Flye-Sainte-Marie *et al.*, 2009), la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* (Lavaud *et al.*, 2014), l'huître perlière *Pinctada margaritifera* (Thomas *et al.*, 2011a), la moule verte *Perna viridis* (Mcfarland, 2015), la coque *Cerastoderma edule* (Cardoso *et al.*, 2006 ; Troost *et al.*, 2010 ; Wijsman et Smaal, 2011), *Mya arenaria* (Freitas *et al.*, 2009), et l'huître américaine *Crassostrea virginica* (Filgueira *et al.*, 2014). Des versions successives du DEB-huître ont également été développées pour *C. gigas*. Pouvreau *et al.* (2006) ; van der Veer *et al.* (2006) ont estimé les paramètres puis développé les premières versions du modèle. Il a ensuite été successivement modifié par Bourlès *et al.* (2009), puis Bernard *et al.* (2011). Il a été appliqué à différents écosystèmes (Ren et Schiel, 2008 ; Alunno-Bruscia *et al.*, 2011), élargi au stade larvaire (Rico-Villa *et al.*, 2010), utilisé pour l'aquaculture (Bacher et Gangnery, 2006), l'écologie isotopique (Emmery *et al.*, 2011) ou pour étudier les impacts des changements globaux (Thomas *et al.*, 2016 ; Gourault *et al.*, in prep.).

Les dernières avancées sur ce modèle intègrent notamment une quatrième variable d'état, l'énergie contenue dans la gonade (E_{GO} , Bernard *et al.*, 2011) et des potentiels de croissance individualisés permettant de prédire de façon assez précise la croissance et les épisodes de ponte (Thomas *et al.*, 2011b).

Synthesizing units La théorie DEB est applicable à tous les organismes vivants. Dans le cas des organismes hétérotrophes, la prise alimentaire suit une réponse fonctionnelle de Holling de type II, dépendante de la densité de nourriture (X , en $nb. cell L^{-1}$) et proportionnelle à la surface corporelle (Kooijman, 2010). Le taux d'ingestion \dot{p}_X s'écrit alors :

$$\dot{p}_X = f\{\dot{p}_{X_m}\}L^2 \quad \text{avec} \quad f = \frac{X}{X + X_k}$$

avec $\{\dot{p}_{X_m}\}$ le taux d'ingestion maximum spécifique, L la longueur volumétrique et X_k la constante de demi-saturation ($cell L^{-1}$). La fonction de Michaelis-Menten f est appelée réponse fonctionnelle (sans unité).

Dans certains cas, la réponse fonctionnelle biaise le taux d'ingestion. En effet, la présence dans le milieu de plusieurs types de nourriture ayant des caractéristiques différentes peut modifier la quantité d'énergie ingérée. Pour intégrer ces variables, la réponse fonctionnelle f est calculée grâce à une approche basée sur les réactions enzymatiques, les synthesizing units (SU).

Les synthesizing units sont considérées comme des "super-enzymes" capables de transformer un flux de substrats (nourriture) en flux de produits (réserve). Elles suivent les règles de cinétique des enzymes classiques à deux exceptions près :

- La formation de produits est calculée en fonction d'un flux de substrats arrivant jusqu'à la SU, et non en fonction d'une concentration. Cependant dans les milieux aquatiques où l'environnement est spatialement homogène, on peut considérer que ce flux est proportionnel à la concentration en substrats (Kooijman, 2010).
- Le taux de dissociation d'un complexe SU-substrat est faible.

Une SU a besoin d'un certain temps pour transformer un substrat en produit; appelé temps de manipulation. À la suite de cette transformation, la SU est de nouveau libre et peut se lier avec un nouveau substrat A avec une probabilité \dot{b}_A . Sauf dans des cas spécifiques, une SU déjà liée à un substrat ne peut pas se lier avec un autre substrat A ($\dot{b}_A=0$). L'intégration des SU dans un modèle DEB permet ainsi de prendre en compte une préférence, un temps de traitement plus long, une différence de contenu énergétique ou un rejet d'un type de nourriture par rapport à un autre.

Les systèmes de SU peuvent être classés en quatre catégories (Fig. 7). Les deux premières catégories exclusives dépendent du substrat :

- Substituable. La SU peut se lier à un substrat A ou B, dans les deux cas elle pourra transformer le substrat en produit. Ce système peut par exemple être utilisé pour un organisme hétérotrophe en présence de deux sources de nourriture.
- Complémentaire. La SU a besoin de se lier successivement aux deux substrats pour pouvoir les transformer en énergie. Si seulement un des deux substrats est présent dans le milieu, la transformation ne peut pas être ef-

fectuée. Ce système se prête bien aux organismes autotrophes photosynthétiques qui ont besoin à la fois de lumière (dans ce cas là considérée comme un substrat) et de nutriments (incluant le dioxyde de carbone) pour produire de l'énergie. Une version de ce système de SU dédié aux organismes photosynthétiques a été développée par Muller (2011).

Ces deux catégories se croisent avec deux autres classes, également exclusives, basées sur le type de liaison :

- Séquentielle. La liaison est dite séquentielle lorsqu'une SU ne peut se lier qu'à un seul substrat A ou B (cas de substrats substituables) ou que cette dernière se lie aux substrats A et B seulement dans un ordre défini (cas des substrats complémentaires).
- Parallèle. La liaison parallèle n'est pas contrainte par un nombre de liaisons ou un certain ordre. Cette catégorie peut être utilisée pour traiter de phénomènes complexes comme des inhibitions, des stimulations ou des co-métabolismes.

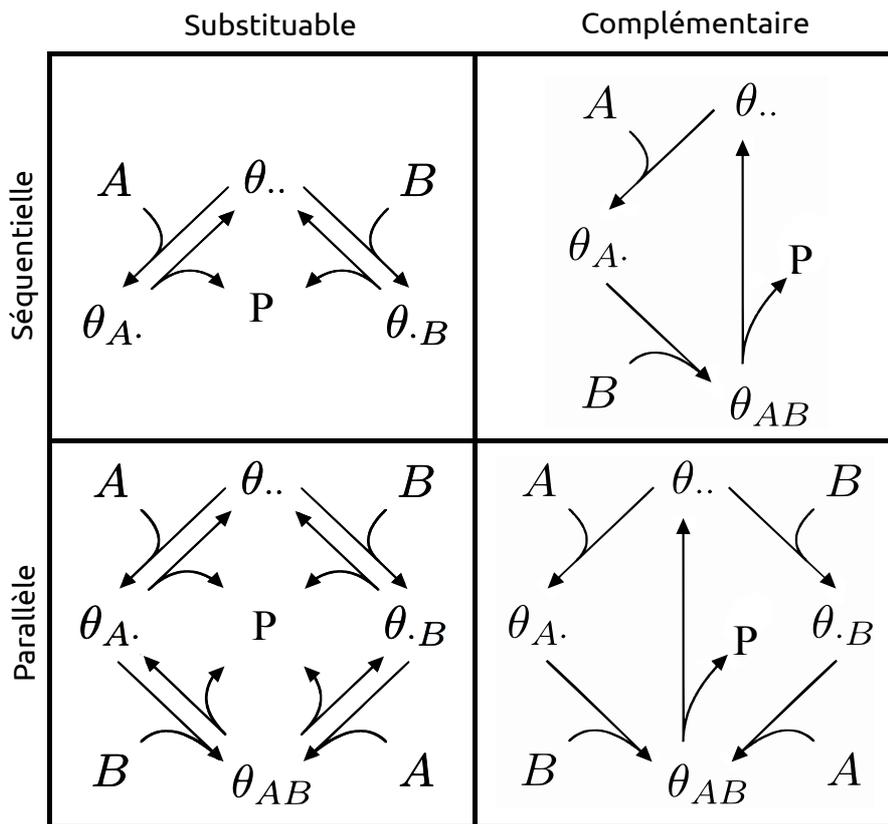


FIG. 7 – Schéma descriptif des quatre systèmes de Synthesizing Units. Les interactions entre les substrats A et B donnant un produit C peuvent être classées en fonction des substrats (substituables ou complémentaires) ou des liaisons (séquentielles ou parallèles). $\theta_{..}$ représente une SU libre, $\theta_{A..}$ une SU liée seulement au substrat A, $\theta_{B..}$ une SU liée seulement au substrat B et $\theta_{AB..}$ une SU liée aux substrats A et B. Enfin, la lettre P décrit le produit de la réaction. D'après Kooijman (2010).

DEB et substances toxiques Le modèle DEB a été utilisé pour traiter de problématiques en lien avec des xénobiotiques (Bodiguel *et al.*, 2009b ; Eichinger *et al.*, 2010), des contaminants (Ducrot *et al.*, 2010 ; Miller *et al.*, 2010) ou des pathogènes (Flye-Sainte-Marie *et al.*, 2009). L'intérêt de se servir de ce type de modèle mécaniste pour traiter de la problématique des substances toxiques réside en deux points. Premièrement, le couplage d'un modèle d'accumulation avec un modèle DEB, est assez simple lorsque la substance toxique est accumulée via l'alimentation. Dans ce dernier cas, le modèle DEB standard intègre de nombreux paramètres affectant cette accumulation comme la température, la masse, l'état reproducteur etc. L'évolution de ces paramètres permet ainsi d'ajuster l'accumulation dans le temps. Deuxièmement, les effets des substances toxiques peuvent être intégrés dans le modèle DEB. Ce dernier décrit l'allocation d'énergie à différentes fonctions potentiellement altérées par ces substances toxiques (i.e. reproduction, croissance, maintenance). L'intégration de ces effets permet ainsi de modéliser la croissance et/ou la reproduction d'organismes dans un environnement contaminé. On peut alors observer les effets de substances toxiques à plus grande échelle sur des communautés, au sein d'un écosystème ou d'un environnement. Par ailleurs il est judicieux de prendre en compte ces effets et de les coupler avec un modèle DEB standard puisqu'il peut y avoir une rétroaction des fonctions touchées (i.e. croissance, assimilation) sur l'accumulation de substances paralysantes.

1.5 Plan du manuscrit

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse visait à élaborer un modèle basé sur la théorie DEB afin de décrire les dynamiques d'accumulation et de détoxification des PST chez *C. gigas*. La présentation des résultats de cette thèse a été organisée en deux parties, précédées et suivies d'une introduction et conclusion générales.

- Une première partie (chapitres 2 et 3) est consacrée à l'exploration de la variabilité inter-individuelle de l'accumulation des PST par une approche expérimentale. Le comportement alimentaire ainsi que certains marqueurs de l'activité métabolique comme la respiration ou la fréquence cardiaque ont été étudiés en l'absence puis en présence de micro-algues toxiques. Ces mesures ont également permis de calibrer certains paramètres liés à l'accumulation de toxines lors d'une exposition monospécifique à *A. minutum*.
- Une seconde partie (chapitres 4, 5 et 6) est dédiée à la formulation du modèle et à son application. Le module permettant de traiter de la sélection préférentielle des particules a d'abord été développé par le biais de trois approches différentes qui ont été comparées. Puis l'accumulation, la détoxification, ainsi que les effets des toxines sur la bioénergétique de l'huître ont été calibrés sur la base d'une expérimentation à moyen terme. Le modèle a été validé sur un jeu de données expérimentales indépendantes et des suivis

de l'accumulation en PST d'huîtres exposées *in situ* à des blooms naturels d'*A. minutum*. Enfin, le modèle a été utilisé pour tester différents scénarios. L'accumulation de PST chez des huîtres diploïdes et triploïdes a pu être simulée et comparée dans différentes conditions dans le but d'appréhender l'incidence de la gamétogenèse, de la ponte, de la taille et de l'âge des huîtres sur leur accumulation de toxines.

Première partie

La variabilité inter-individuelle dans l'accumulation des PST chez *C. gigas*

Chapitre 2

Sources de variabilité dans l'accumulation des PST chez *C. gigas*

Sources of paralytic shellfish toxin accumulation variability in Pacific oyster *Crassostrea gigas*

Toxicon (in revision)

Emilien POUSSE, Jonathan FLYE-SAINTE-MARIE, Marianne ALUNNO-BRUSCIA, H el ene H EGARET, Fred JEAN.

Abstract

This study was designed to assess the contribution of feeding behavior to inter-individual variability of paralytic shellfish toxin (PST) accumulation in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. For this purpose a total of 42 oysters were exposed for 2 days to non-toxic algae and then for 2 other days to the PST producer *Alexandrium minutum*. Individual clearance rate (CR) of oysters was continuously monitored over the 4 days using an ecophysiological measurement system. Comparison of CR values when exposed to toxic and non toxic algae allowed to estimate a clearance rate inhibition index (CRII). Toxin concentration of oysters was quantified at the end of the experiment. These data allowed to compute the toxin accumulation efficiency (TAE) as the ratio of toxin accumulated on toxin consumed. Changes of clearance rate during the experiment indicated that all individuals stopped feeding immediately after being exposed to *A. minutum* for at least 7h. This fast response likely corresponded to a behavioral mechanism of avoidance rather than a toxin-induced response. Individuals also showed high inter-variability in their recovery of filtration after this period. Most of the inter-individual variability (78%) in PST accumulation in *C. gigas* could be explained by the consumption of *A. minutum* cells, thus emphasizing the importance of the feeding behavior in accumulation. Based on the toxin concentration in their tissues, oysters were clustered in 3 groups showing contrasted patterns of PST accumulation: the high accumulation group was characterized by high feeding rates both on non-toxic and toxic diet and subsequently a low CRII and high TAE. Inversely, the low accumulation group was characterized by low filtration rates, high CRII and low TAE. Both filtration capacity and sensitivity of oysters to toxins may account for these differences in their accumulation. The contribution of TAE in PST accumulation is discussed and might result from differences in assimilation and detoxification abilities among individuals.

Keywords:

Alexandrium minutum; Paralytic shellfish poisoning ; Accumulation ; Clearance rate ; Feeding behavior ; Pacific oyster.

2.1 Introduction

Historically, the French oyster culture has faced successive crises that threatened the cultured species and thus the industry (Buestel et al., 2009). The Pacific oyster, *Magallana* (ex. *Crassostrea*) *gigas* was introduced in the 1970s from Japan and Canada into French farming areas to allow the conservation of oyster production (Grizel and Héral, 1991). Following its import, *C. gigas* became the most cultivated bivalve in France, but also worldwide (i.e. 4.8 millions of tons worldwide in 2013, FAO, 2015). Oyster aquaculture, however, is vulnerable to global warming (Rahel and Olden, 2008) and other associated phenomena such as disease epidemics (Gouletquer et al., 1998; Petton et al., 2015), biological invasions (Stachowicz et al., 2002) or harmful algal blooms (HAB; Moore et al., 2008).

The increasing number of HAB occurrences (Van Dolah, 2000; Anderson et al., 2002) has recently been related to warming of Atlantic and Pacific oceans (Gobler et al., 2017). These events can be responsible for amnesic, neurotoxic, diarrhetic or paralytic shellfish poisoning (PSP), among others, thus raising sanitary, social and economic problems. In 2005, total annual costs of HAB were estimated to ca. 813 million \$ for Europe (Hoagland and Scatasta, 2006). Amongst dinoflagellates, the ubiquitous and hazardous genus *Alexandrium* can produce saxitoxin (STX; Persich et al., 2006; Anderson et al., 2012), and other potent paralytic shellfish toxins (PST) derivatives from STX. By accumulating toxins in their tissues, filter-feeders can become toxic for consumers (animals or humans, see e.g. Bond and Medcof, 1958; Nisbet, 1983; Kwong et al., 2006b). PSP in humans can induce numbness, tingling up to paralysis or even death (McFarren et al., 1961).

Low environmental concentrations in *Alexandrium minutum* can result in significant accumulation. For instance, environmental concentrations ranging between 9 and 140 cells mL⁻¹ during three weeks were sufficient to induce paralytic shellfish toxin accumulation in *C. gigas* above the sanitary threshold (80 µg equivalent STX 100 g⁻¹; REPHY, 2017) in the bay of Brest during summer 2015. In France, a concentration of *Alexandrium* sp. in seawater above the alert threshold (10 cells mL⁻¹) triggers the quantification of toxin concentration within bivalve tissues which results determine if shellfish harvest has to be closed by the legal authorities. This decision may sometimes be controversial since the toxin accumulation can vary with the site (Cembella et al., 1994), the bivalve species (Sagou et al., 2005), the individual and/or the organ where toxins are quantified (Kwong et al., 2006b). Individual size, seston concentration and its volume-specific toxin concentration have been identified as main sources of variability in mussel PST accumulation (*Mytilus galloprovincialis*; Moroño et al., 2001). Many studies compared behavior and physiology of different bivalve species to explain inter-species variability (Marsden and Shumway, 1993; Contreras et al., 2012; Marsden et al., 2015). Bricelj et al. (1996) showed that the feeding response of different bivalve species was correlated to the

animal sensitivity to toxins and to the algal toxicity. Bivalve sensitivity to toxins was defined after observations of neurological (Twarog et al., 1972), physiological (Bricelj et al., 1990; Contreras et al., 2012), and behavioral responses (Shumway and Cucci, 1987; Gainey and Shumway, 1988a; Bricelj et al., 1996). Under similar experimental conditions PST concentrations in bivalve tissues were shown to vary among individuals by a factor up to 5000 (Mat et al., 2013), indicating a huge inter-individual variability. Nevertheless the mechanisms explaining this variability remained poorly understood making tricky any prediction of accumulated toxins with modeling approach. Oysters exposed to *A. minutum* (Bougrier et al., 2003) showed a positive relationship between feeding time activity (percent of total time spent in active filtration) and their toxin concentration. These results suggest that the variability in toxin accumulation might also be explained by the variability in feeding behavior of *C. gigas*. In this context, it can be hypothesized that (1) inter-individual variability in the clearance rate while feeding on non-toxic algae (i.e. filtration capacity) is responsible for the variability in toxin accumulation. Nevertheless, Haberkorn et al. (2011) was not able to show any link between oyster valve behavior during acclimation (oyster fed non-toxic algae) and concentration of toxins accumulated after a subsequent exposure, but rather showed that during the exposure to *A. minutum*, some oysters tend to increase their valve-opening time and strongly accumulate (also observed in Mat et al., in prep.). Thus an additional hypothesis is that (2) behavioral inter-individual variability facing an exposure to *A. minutum* is responsible for inter-individual variability in toxin accumulation. Indeed, it can be hypothesized that when facing an exposure to *A. minutum* some oysters will reduce their clearance rate and will accumulate less toxin, while others will maintain filtration activity and will accumulate more. The present study was designed to further explore the relationships between feeding behavior and toxin accumulation and to test (1) if there is a link between feeding on non-toxic algae prior *A. minutum* exposure and PST accumulation, (2) how much feeding on toxic algae contributes to the variability in PST accumulation. For this purpose oysters' clearance rate fed 2 days on non-toxic algae and then exposed to *A. minutum* for 2 more days were monitored.

2.2 Material and methods

2.2.1 Biological material

Oysters Ten-months old diploid *C. gigas* oysters (N=42) (shell length = 32.7 mm \pm SD 3.1; total wet mass = 4.3 g \pm SD 0.7; wet flesh mass = 1.0 g \pm SD 0.2 and 0.2 g in dry flesh mass \pm SD 0.05) were used in this experiment. They originated from a cohort of specific-pathogen free oysters produced and reared according to a standardized protocol (Petton et al., 2013; 2015) in Ifremer experimental facilities

at Argenton (Brittany, France). They were born in August 2014 from 60 wild broodstock genitors collected in Marennes-Oléron (see Petton et al., 2013). During the whole rearing cycle, oysters were fed *ad libitum* on a mixture of *Tisochrysis lutea* and *Chaetoceros muelleri* and were never exposed to any harmful algal bloom.

Algae cultures *T. lutea* (CCAP 927/14) and *C. muelleri* (CCAP 1010/3) were used as the main non-toxic food for oysters. They were cultured with continuous light in separated 300-L cylinders enriched with Conway medium (Walne, 1970), and with silicium for *C. muelleri*. The dinoflagellate *Alexandrium minutum* (RCC4876, strain Daoulas 1257, isolated in the bay of Brest) was used as the paralytic shellfish toxin (PST) producer. This strain produced only PST toxins, *i.e.* no extracellular compounds responsible for any allelopathic effects (Castrec et al, in prep.), at a concentration of 52.8 fg STX equivalent cell⁻¹ (quantified by HPLC at Ifremer Nantes "Laboratoire des phycotoxines", according to Guéguen et al., 2011, protocol). This strain of *A. minutum* was cultured at 21°C in 300-L cylinders of filtered seawater enriched with L1 medium (Guillard and Hargraves, 1993) under continuous light. The culture of *A. minutum* was sampled during the exponential growth phase and diluted for further exposure of oysters to PST. Algal concentrations of the 3 algal species were monitored daily using a Beckman Coulter Multisizer 3 and expressed in number of cells per milliliter and cell volume per milliliter ($\mu\text{m}^3 \text{ mL}^{-1}$).

2.2.2 Experimental setup and data collection

Ecophysiological measurement system The COSA measurement system allowed to monitor individual clearance rates (Figure 8) and was similar to previous automatic devices (Savina and Pouvreau, 2004; Flye-Sainte-Marie et al., 2007a). The system was composed of 8 identical 0.54-L flow-through acrylic chambers supplied with algal mix pumped from a mixing tank. Each chamber contained one single oyster, except one empty control chamber (Figure 8). Flow rate in the chamber was adjusted to 40 mL min⁻¹ by means of 2 peristaltic pumps (Masterflex L/S 7551, Cole Parmer, USA). The seawater temperature (°C) and the fluorescence (FFU) were measured for 15 minutes in the outflow of each chamber by a WTW multiparameter meter (WTW Multi 3430) and a fluorometer (WETstar chlorophyll, WETLABS, Philomat, USA). Calibration lines allowed to recalculate microalgal concentrations from fluorescence. These instruments were connected to a computer that allowed the visualization and acquisition of high frequency time series data. The fluorescence of the water outflowing from chambers 2 to 8 (containing oysters) was monitored sequentially for 15-min cycle; between each chamber containing an oyster, the control chamber (chamber 1) was also measured for 15 min. This protocol allowed the monitoring of each chamber every 3.5 h. All water effluents

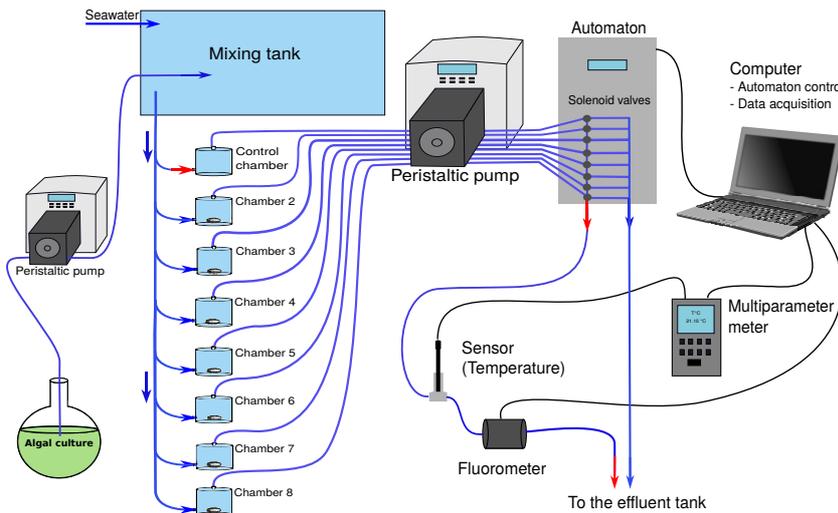


FIG. 8 – The COSA measurement system. Blue lines indicate the hydraulic circuit and black lines data connections. The control chamber (without oyster) is used as a reference of seawater passing through all chambers. Chambers 2 to 8 contain one oyster each. A peristaltic pump allows the circulation of the water throughout each chamber at a constant flow rate. The computer-controlled automaton controls the water outflowing from any chamber either to a measurement circuit (temperature sensor and fluorometer) or directly to the effluent tank. Chambers 2 to 8 are measured sequentially for 15 min every 3.5h; between each measurement on a chamber containing an oyster the control chamber is measured for 15 min. A computer allows to control the automaton, log and visualize in real-time acquired data.

were treated with chlorine.

Experimental design During 4 days, 7 oysters were monitored individually in the flow-through chambers under controlled conditions. Seawater and ambient air temperatures were maintained at 21°C. During day 1 and day 2, oysters were fed on a 50/50 algal mixture of *T. lutea* and *C. muelleri* (Tiso/Chaeto). The exposure to *A. minutum* was performed on day 3 and day 4. This trial was repeated 6 times so that a total of 42 oysters were monitored over the whole experiment. The concentration of Tiso/Chaeto mixture was adjusted as a function of the fluorescence in the control chamber thus resulting in algae concentration ranging between 16 000 and 24 000 cells mL⁻¹ due to the variability of fluorescence properties of the algae culture. For each exposure trial, *A. minutum* was distributed at different levels of concentration ranging from a mean of 650 cells mL⁻¹ for the lowest to 1800 cells mL⁻¹ for the highest exposure concentration.

The system was stopped daily during two hours for cleaning to prevent the development of a biofilm within the circuit. Oysters were removed from their chambers and maintained in 1 µm filtered seawater. The entire circuit (chambers included) was washed with a stabilized mixture of peracetic acid and hydrogen peroxide (Hydrogent) and rinsed with hot freshwater and then with filtered seawater.

Final biometry and toxin quantification At the end of each 4-days trial, oyster tissues were dissected, weighed (wet mass, g) and stored at -80°C until toxin quantification.

PST were quantified individually in total oyster body tissues using ELISA PSP kit developed by Abraxis (see methods in Lassudrie et al., 2015a;b). For this purpose, oyster tissues were mixed (1:1, w:v) in 0.1 M HCl solution, grounded (Fastprep-24 5G homogenizer) and boiled for 5 minutes at 100°C in order to acid-hydrolyse PST analogs into saxitoxins (STX). The samples were then disposed in the Abraxis ELISA PSP kit and toxin concentrations were quantified by spectrophotometry and expressed in μg of STX for 100 g of total flesh mass.

2.2.3 Data analysis

Clearance rates Individual clearance rates (CR_{oyst} , $\text{L h}^{-1} \text{ ind}^{-1}$) were calculated from the fluorescence data recorded during the last 7 minutes of each measurement period (in order to allow a full water renewal on the sensors). According to Hildreth and Crisp (1976) formula:

$$CR_{oyst} = F_R \frac{Fluo_{cont} - Fluo_{oyst}}{Fluo_{oyst}}$$

where, F_R is the flowrate throughout the chamber (L h^{-1}), $Fluo_{cont}$ the average fluorescence of the control chamber measured before and after the chamber, and $Fluo_{oyst}$ the average fluorescence of chamber 2 to 8 containing one oyster each.

In order to correct these rates from variations in individual size between chambers, individual clearance rates were standardized to a standard size of 1 g in flesh wet mass using Bayne et al. (1987) formula:

$$CR_s = \left(\frac{W_s}{W_{oyst}} \right)^b \times CR_{oyst}$$

where CR_s was the clearance rate corrected for an individual of a standard mass W_s (i.e. 1 g of wet weight), W_{oyst} the wet weight of the monitored oyster, CR_{oyst} the measured clearance rate of the oyster and b was the allometric coefficient equal to $\frac{2}{3}$ according to Pouvreau et al. (1999).

Clearance rate inhibition index For each individual, standardized clearance rates measured during days 1 and 2 ($CR_{Snon\ toxic}$) and standardized clearance rates at day 4 with toxic algae (CR_{Stoxic}) were used to compute a clearance rate inhibition index (CR_{II}) allowing to quantify the inhibition of clearance rate due to *A. minutum*. It was calculated as $CR_{II} = 1 - \frac{CR_{Stoxic}}{CR_{Snon\ toxic}}$

Statistics and clustering Statistical analyses were performed using the R software (R Core Team, 2016). Type II linear regressions with ranged major axis method were applied to adjust linear relations between number of algal cell consumed and

toxin concentration (two variables measured with error) by using the R package "lmodel2" (Legendre, 2014).

Because the concentration of *A. minutum* varied among experiments, individual oyster were clustered on the basis of their ratio between toxin concentration after exposure and quantity of *A. minutum* cells delivered during exposure. Three accumulation groups could be easily distinguished when visualizing this ratio for all experiments (N=42) thus corroborating previous observations (Boullot, 2017b; Mat et al., in prep.). A hierarchical clustering function was applied on this ratio with the Ward's method to segregate individuals into three groups.

In order to compare individual CR prior and during the exposure to *A. minutum*, among the 3 clusters, linear mixed-effect models were realized. Tukey post-hoc tests were applied to distinguish groups.

2.3 Results

2.3.1 Toxin accumulation in oyster tissues

After the 2-d exposure to *A. minutum*, all oysters accumulated toxins in their tissues at concentrations varying between 6 and 173 μg of STX per 100 g of wet flesh. Among them, half of the individuals exhibited toxins above the sanitary threshold of 80 μg of STX per 100 g of wet flesh and no mortality was observed. The ratio of the lowest to the highest concentration of toxins within each 4-d trial (i.e. for 7 oysters) varied from 2.1 to 8.5, indicating a strong inter-individual variability in toxin accumulation. In most experiments, three accumulation groups were easily distinguishable which corroborated previous observations (Boullot, 2017b; Mat et al., in prep.). Based on the ratio of the concentration of toxins to the number of *A. minutum* cells distributed, the 42 oysters were clustered into 3 groups using a hierarchical clustering function. This allowed to assign 10 oysters (24 %) into the low toxin accumulation group, 21 oysters (50%) into the intermediate and 11 oysters (26 %) to the high accumulation ones.

2.3.2 Temporal evolution of oyster clearance rates

Standardized clearance rate measurements indicated that oyster filtration activity almost stopped just after the exposure to *A. minutum* for a period of $\approx 7\text{h}$ (Fig. 9). Then a recovery was observed in some individuals, this tendency being more visible 24h after the beginning of the exposure. Nevertheless, filtration activity did not recover to values observed with non-toxic algae. Pseudo-faeces production was only exceptionally observed during the experiments.

When fed on non-toxic algae (days 1 and 2), the average CR for a standard oyster of 1 g ($CR_{Snon-toxic}$) was significantly higher for the high accumulation group

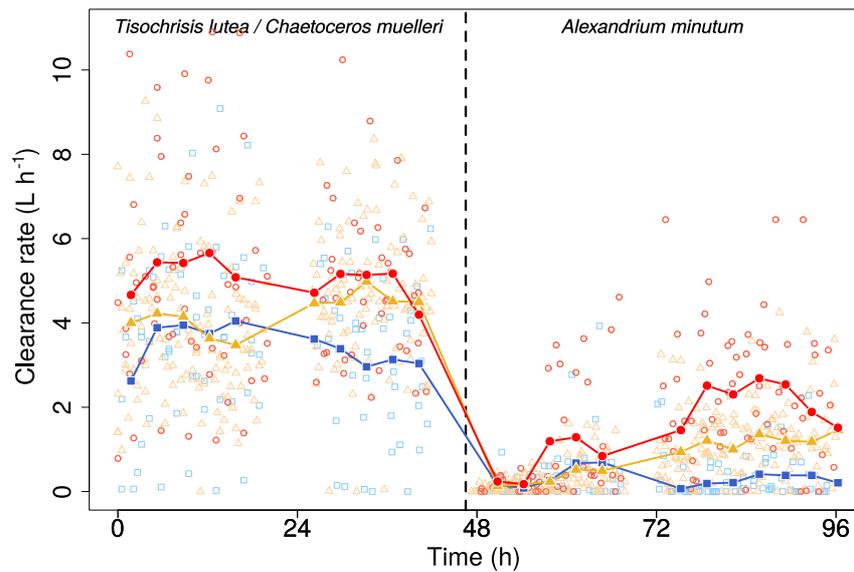


FIG. 9 – Evolution of standardized clearance rates over the 4 experimental days for all experiments. The first 2 days, oysters were exposed to a mix of *T. lutea* and *C. muelleri*, followed by a 2-day exposure to *A. minutum*. Empty markers correspond to all individual measurements performed on : \square the low accumulation cluster, \triangle the intermediate accumulation cluster and \circ the high accumulation cluster. Filled markers correspond to the average values for each acquisition cycle (3.5h) of each accumulation cluster: \blacksquare low, \blacktriangle intermediate and \bullet high accumulation clusters.

TAB. 1 – Results of the Tukey test performed on linear mixed-effects models in order to compare clearance rates of oysters before (day 2 only) and during (day 4 only) exposure to *A. minutum* for the three accumulation clusters (* highlights p-values < 0.05 and *** p-values < 0.001).

Groups	Before exposure (day 2)				During exposure (day 4)			
	Estimate	Std. Error	z value	p-value	Estimate	Std. Error	z value	p-value
Low - Intermediate	0.7154	0.2760	2.592	0.028*	0.7232	0.2494	2.899	0.011*
Low - High	1.3546	0.3241	4.179	<10 ⁻⁴ ***	1.8765	0.2927	6.412	<10 ⁻⁹ ***
Intermediate - High	0.6392	0.2852	2.242	0.075	1.1533	0.2583	4.465	<10 ⁻⁴ ***

compared to the low one. But no significant differences were observed between the low and intermediate groups and the high and intermediate groups (Tab. 1). After the early phase of CR inhibition, at the beginning of the exposure phase to *A. minutum*, mean individual standardized CR differed significantly among the 3 accumulation groups, with respectively 0.33 L h⁻¹, 1.06 L h⁻¹ and 2.24 L h⁻¹ for low, intermediate and high accumulation groups (Tab. 1).

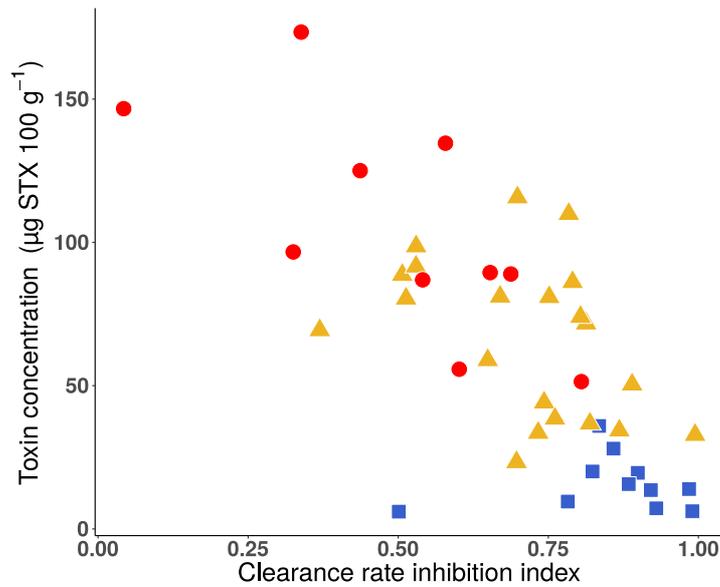


FIG. 10 – Individual clearance rate inhibition index (*CRII*) as a function of final toxin accumulation. Symbols refer to the different accumulation groups: ■ low, ▲ intermediate and ● high accumulation clusters. Spearman's rho was calculated from these data resulting in an inverse correlation equal to -0.69 ($p\text{-value} = 1.15 \cdot 10^{-6}$).

2.3.3 Inhibition of oyster clearance rate when exposed to *A. minutum*

There was a significant inverse relationship between clearance rate inhibition index (*CRII*) and the concentration of toxins in oyster tissues (Spearman's rho = -0.69 , $p\text{-value} = 1.16 \cdot 10^{-6}$; Fig. 10). *CRII* differed significantly between accumulation groups (Wilcoxon test, $p\text{-values} < 0.05$) with mean values of 0.86, 0.71 and 0.53 respectively in the low, intermediate and high accumulation groups.

2.3.4 Relationship between oyster algal consumption and toxin accumulation

Algal consumption rates ($\text{cell g}^{-1} \text{d}^{-1}$) were calculated from unstandardized clearance rates, algal concentrations and individual oyster wet weight and allowed taking into account the different algal concentrations delivered. The correlation between these values and the final toxin concentration was thus evaluated (Fig. 11 and 12). A strong and significant relationship could be observed between the total number of *A. minutum* cells consumed during the exposure and the final toxin concentration with a R^2 of 0.78 (Fig. 11). Daily relationships are shown in Figure 12.

No correlation was found between the toxin concentration in oyster tissues at day 4 and their algae consumption at days 1 and 2 (Fig. 12 a and b), suggesting that the filtration of oysters on non-toxic algae was likely not related to their accumulation capacity. Conversely, the toxin concentrations in oyster tissues were

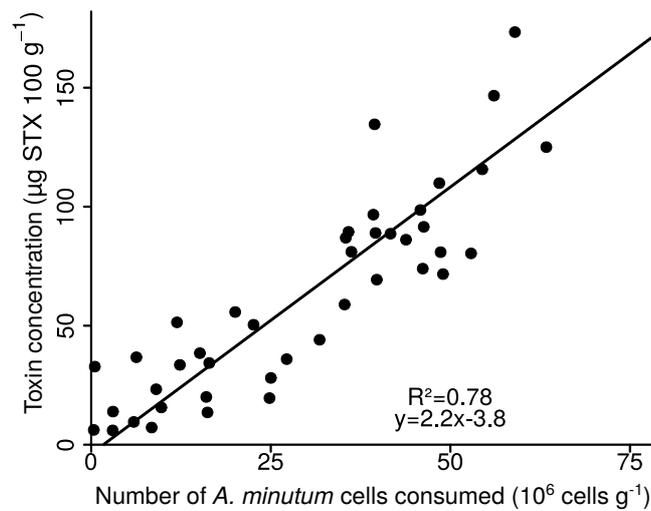


FIG. 11 – Individual toxin concentration in oyster tissues at day 4 ($\mu\text{g STX } 100 \text{ g}^{-1}$) against the cumulated number of *A. minutum* cells consumed by oysters (g^{-1} of wet mass) over all trials of the experiment. The line corresponds to the adjusted type II regression.

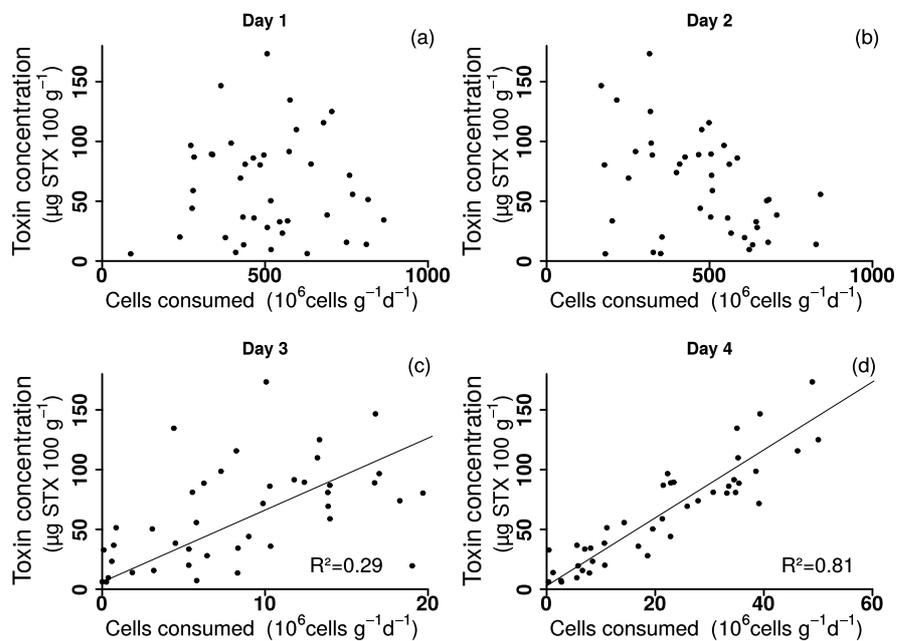


FIG. 12 – Individual toxin concentration in oyster tissues at the end of the exposure (day 4, $\mu\text{g STX } 100 \text{ g}^{-1}$) against the daily algae consumption of oysters (number of cells g^{-1}) for all trials. Lines indicate the adjusted type II regression models (when significant). Oysters were fed *T. lutea* and *C. muelleri* during days 1 (a) and 2 (b) and *A. minutum* during days 3 (c) and 4 (d).

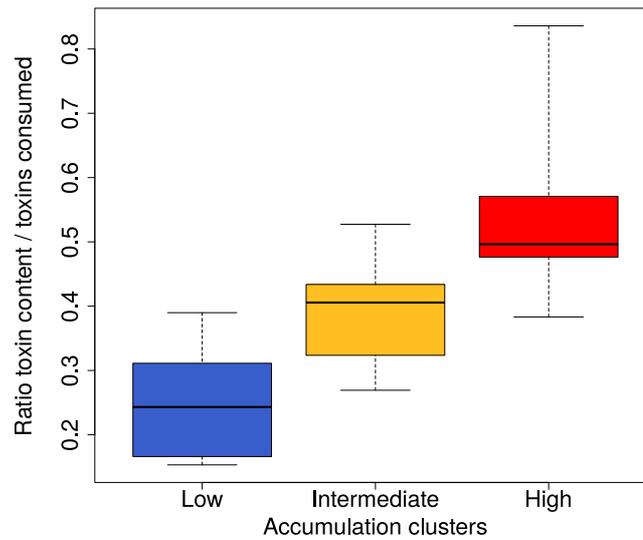


FIG. 13 – Ratio between final toxin content and toxins consumed for the three accumulation clusters. Low, intermediate and high accumulation clusters are composed of 10, 19 and 9 oysters respectively. Four aberrant values were removed from the dataset. Horizontal lines correspond to the median, boxes to 50 % of the variability and error bars to the minimum and maximum values.

significantly correlated with the number of cells they consumed on day 3 ($R^2=0.29$) and on day 4 ($R^2=0.81$) (Fig. 12 c and d). This indicated that the number of cells consumed by oysters on the second (and last) day of exposure to *A. minutum* contributed to the majority of the toxins that have been accumulated in oyster tissues.

2.3.5 Oyster tissues toxin concentration and toxins consumed

Toxin amount consumed by oysters was estimated on the basis of the number of *A. minutum* cells consumed and the STX content of each *A. minutum* cell (52.8 fg STX eq. cell⁻¹, see section 2.2.1). The ratio between the final toxin content and the amount of toxin consumed was calculated for each individual and compared between accumulation clusters (Fig. 13). Such a ratio provides an indication of the toxin accumulation efficiency (TAE; see e.g. Bougrier et al., 2003; Mafra et al., 2010a), which may depend on various processes i.e. pre-ingestion selection, toxin assimilation but also toxin depuration. This ratio significantly differed between clusters (Wilcoxon tests; $p<0.01$). The low accumulation cluster had the lowest ratio as the high accumulation cluster had the highest.

2.4 Discussion

2.4.1 Feeding behavior during an exposure to *A. minutum* drives toxin accumulation

Previous results clearly emphasize the importance of inter-individual variability in toxin accumulation by *C. gigas*. Laboratory experiments showed that oysters exposed to similar concentration of *A. minutum* exhibited a variability in toxin accumulation up to a factor 5000 (Mat et al., 2013). The aim of this study was to test if feeding behavior could be responsible for variability in toxin accumulation as hypothesized by Bougrier et al. (2003) and Haberkorn et al. (2011). Although all individuals used for this experiment came from the same cohort and were reared under the same conditions, our results emphasized a high inter-individual variability in clearance rates of both non-toxic and toxic algae. Similar to Bougrier et al. (2003) a close correlation between the number of *A. minutum* cells consumed by oyster and the final concentration of toxin in their tissues was observed (Fig. 11). Our results thus showed that inter-individual variability in harmful algal consumption during an exposure to *A. minutum* explained 78 % of the variability in final toxin accumulation.

2.4.2 Initial feeding response to *A. minutum* exposure

Despite the high inter-individual variability in CR_s , the 42 individuals exhibited the same reaction to *A. minutum* exposure: they all reduced or even stopped their filtration activity for at least 7 hours (Fig. 9). This reduction was followed by a partial recovery during which inter-individual variability was high. Such a two-phase response has already been described in *C. gigas* exposed to *Alexandrium catenella* (Dupuy and Sparks, 1968).

Although not observed in all species (Leverone et al., 2007; Hégaret et al., 2007a; Contreras et al., 2012) this inhibition in feeding activity immediately after an exposure to PSP-causing dinoflagellates seems to be a general pattern in *Crasostreinae* (e.g. Shumway and Cucci, 1987; Gainey and Shumway, 1988a; Wildish et al., 1998; Laabir et al., 2007). Several mechanisms may explain this immediate initial response: a direct impact of the toxin on gills (Medler and Silverman, 2001) and muscles (Hégaret et al., 2007b) decreasing filtration activity, or a behavioral inhibition of feeding activity allowing avoidance of poor quality or toxic seston (Lassus et al., 1999; 2004). The first hypothesis is unlikely because it would imply a delayed response (4-5 days in *C. virginica* exposed to PST Hégaret et al., 2007b), but behavioral modification was rather immediate as also observed by Tran et al. (2010). A partial recovery of filtration occurred in most of the oysters (Fig. 10) after less than 24h and oysters that accumulated more toxins were also those that filtrated more (Fig. 11). These two observations are additional elements against

the toxin effect hypothesis. Wildish et al. (1998) did not observe any differences in short-term responses of *C. gigas* exposed to toxic and non-toxic *Alexandrium* sp. and also hypothesized that PSP toxins were not directly involved. A behavioral avoidance mechanism of oysters was the most plausible explanation in our experiment. Pre-ingestive sorting is a well known strategy to avoid low-quality particles (Ward et al., 1998; Mafra et al., 2009) but it is unlikely that this phenomenon occurred because (1) pseudo-faeces production was only exceptionally observed and (2) pseudo-faeces production does not imply reduction of clearance rate as observed. Under sub-optimal condition, bivalves can adapt the filtration activity by reducing valve gape, retracting mantle edge (see review Jørgensen, 1996) decreasing ctenidia transport velocity (Ward et al., 2003). Facing a change in diet quality (size, shape, nutritive quality, species...) like shifting from forage algae to *A. minutum* it is likely that such a phenomenon occurs. Valve closure is a described mechanism facing *Alexandrium* sp. exposure (Shumway et al., 1985; Tran et al., 2010).

2.4.3 Mechanisms behind behavioral variability facing *A. minutum*

One interesting observation is the high inter-individual variability in the recovery of filtration activity in the second phase of the exposure. The three accumulation clusters exhibited significantly different clearance rates on the second day of exposure to *A. minutum* (Fig. 9 ; Tab. 1). This high inter-individual variability is also emphasized by the highly variable clearance rate inhibition index (CRII) that ranges from close to 0 for oysters in the high accumulation cluster from close to 1 for oysters in the low accumulation cluster (Fig. 10). High clearance rate inhibition index values were inversely related to low toxin accumulation. Thus variability of the clearance rate inhibition in the reaction to *A. minutum* seems to play a major role in the variability of the toxin accumulation. In other words, when facing an exposure to *A. minutum* all oysters reduce their filtration activity, some less than others, thus leading to an important variability in toxin accumulation. This variability might be explained by two non-mutually exclusive hypotheses. The first one would be that inter-individual variability in standardized clearance rate during exposure is linked to inter-individual variability in filtration capacity estimated as the standardized clearance rate on non-toxic algae. The second one would be that individuals present an inter-individual variability in their sensitivity facing *A. minutum*, either linked to behavioral differences facing *A. minutum* or linked to differences in sensitivity to the toxin itself.

When fed non-toxic algae, individuals displayed variable levels of clearance rates (Fig. 9) that might be interpreted as phenotypic variability in filtration capacity. One can wonder whether individuals presenting high filtration capacity are also those that have the highest clearance rate when exposed to *A. minutum*.

Present results show that the hierarchy of clearance rates of the different accumulation clusters remain identical before and during exposure. The level of feeding on non-toxic algae might thus constitute a first basis to predict the feeding response of oysters facing *A. minutum*. However the tendency is not that clear since non-toxic food consumed does not significantly explain the final toxin concentration (Fig. 12 a and b). Variability in filtration capacity might contribute to the observed variability facing *A. minutum* nevertheless the relative reduction in clearance rate (CRII) observed is variable between individuals.

The second hypothesis would be that individuals presented different sensitivities to an exposure to *A. minutum*. According to Twarog et al. (1972), sensitivity to saxitoxin can be characterized by measuring the block of action potential due to this toxin on isolated nerves. Interspecific differences in sensitivity have been associated with differences in toxin accumulation: the most sensitive species tend to accumulate less (see review of Bricelj and Shumway, 1998). Boullot et al. (in rev) actually demonstrated that oysters *C. gigas* sensitivity to saxitoxin is in the order of micromolar concentrations, which represents an average sensitivity compared to other bivalves (Twarog et al., 1972). They also demonstrated a large intra-specific variability of nerve sensitivity in response to saxitoxin exposure. However in the latter study the nerve sensitivity did not appear correlated to toxin accumulation in *C. gigas* oysters, as previously described for softshell clams *Mya arenaria* (Bricelj et al., 2005). Our results however, clearly show, within a single oyster population, an important inter-individual variability in the level of inhibition of the clearance rate (at day 4) that is significantly linked to the toxin concentration (Fig. 10). The mechanisms behind the variability of clearance rate inhibition after recovery of feeding (day 4) remains to be identified. Similarly to the initial inhibition of filtration (see section 2.4.2) either a behavioral variability or a variability in the toxin-induced effects as previously discussed can be hypothesized. Because a part of sensitivity to STX has been observed to have a genetic basis (sodium channel polymorphism; Kontis and Goldin, 1993; Bricelj et al., 1996), it might differ between individuals. It can be thus hypothesized that some individuals are more sensitive to the toxin, that their clearance rate is more inhibited and that they subsequently accumulate less toxins. Nevertheless, Boullot (2017b) was unable to demonstrate a link between genetic polymorphism of voltage-gated sodium channels and toxin accumulation of *C. gigas*. As discussed previously, it is likely that the initial response has a strong behavioral basis, which can thus lead to the hypothesis that an avoidance behavior is prolonged in some individuals that accumulate less, when other individuals tend to resume feeding and accumulate more. Further analyses on the three accumulation clusters, coupling electrophysiology measurements on nerves, physiological and clearance rate measurements would be needed to test these hypotheses.

To conclude, variability in feeding behavior explains 78 % (Fig. 11, $R^2=0.78$)

of the toxins accumulated, and may thus not be the unique consequence of either filtration capacity or toxin sensitivity but more likely a combination of both. The efficiency in fixating the toxin (Fig. 13) discussed thereafter might also play an important role in toxin accumulation.

2.4.4 Toxin accumulation efficiency

Toxin accumulation efficiency (TAE) is generally taken as [cumulative toxin ingested/ toxin incorporated in tissues] \times 100 and has been used for inter-species comparisons (see e.g. Bricelj et al., 1990; Bricelj and Shumway, 1998). In our study, the average toxin accumulation efficiency was equal to 35% and is in the same order of magnitude than in Bougrier et al. (2003, 20–23%) although different experimental conditions (oyster weight, temperature, time exposure, algae strain and concentration) and settings have been used (to avoid potential distribution of temporary cysts being less digestible and having a different toxin concentration, a recirculating flume was not used). Moreover, the mean TAE, calculated before, might be more likely close to 30% since the ELISA method used to measure the toxin concentration is known to overestimate with an approximate 1.2 factor compared to HPLC (Lassudrie, Pers. Comm.). These values are close to those obtained for *Mercenaria mercenaria* (35–40%, Bricelj et al., 1991) or *Pecten maximus* (30%, Bougrier et al., 2003) but lower than those observed for mussels (72% to 96% in *Mytilus californianus* Dupuy and Sparks, 1968; 50% in *Perna viridis* Wisessang et al., 1991; or 78% in *Mytilus edulis* Bricelj et al., 1990). Relating these values to Twarog et al. (1972)'s ranking of sensitivity to STX tends to indicate that species presenting a high TAE are less sensitive and, as discussed above, tend to accumulate more (Bricelj and Shumway, 1998).

These results are the first ones to emphasize intra-specific variations of TAE, which significantly differed between accumulation clusters (Fig. 13). The high accumulation cluster had a TAE twice as high as the low accumulation one. Interpretation of the variations of TAE is not straightforward, because total toxin burden is the sum of toxin content of two compartments : (1) undigested toxins that remain in the digestive tract and (2) assimilated toxin within body tissues (Bricelj et al., 1990; Lassus et al., 2007). Variations of TAE may thus be linked to variations in the inputs and/or the outputs of these compartments. Because consumption was estimated from clearance rate, pseudo-feces production could affect the ingestion and thus the estimation of TAE, but it is unlikely because pseudo-feces production was only punctually observed. Lassus et al. (2007) modeled the PST accumulation kinetics in *C. gigas* in the Thau lagoon by taking into account two depuration ways: (1) a mechanical one, via the egestion of undigested toxins (called "excretion" in Lassus et al., 2007) which is a fast pathway and thought to be the major one; (2) metabolic elimination (biotransformation; related to ammonia excretion according to

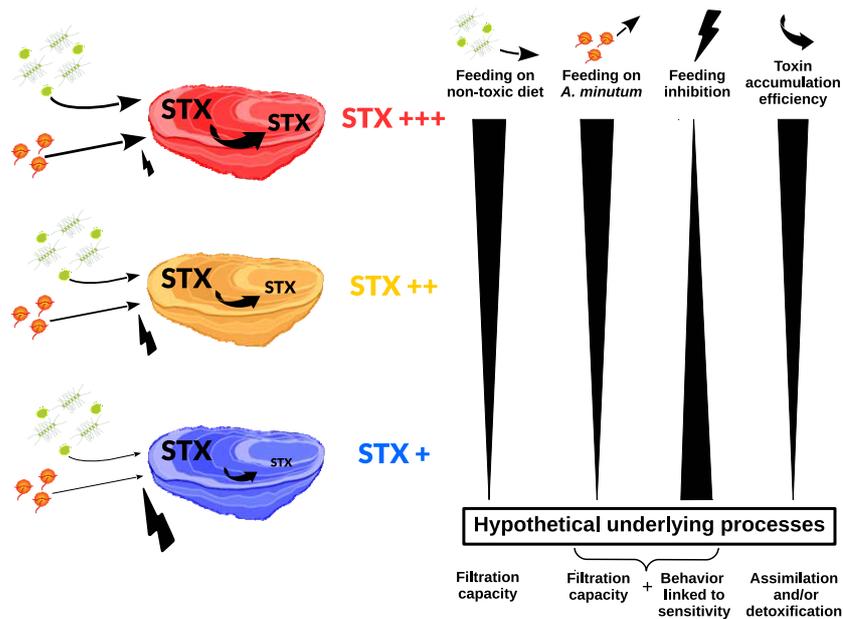


FIG. 14 – Graphical summary showing the three different oysters accumulation "phenotypes" (red:high accumulation; yellow:medium accumulation; blue:low accumulation) identified in this study, their level of feeding on non-toxic and toxic algae, feeding inhibition when exposed to toxic algae and toxin accumulation efficiency. Hypothetical processes explaining these observations are also indicated. Note that STX refers to the saxitoxin and its derivatives

Navarro and Contreras, 2010) of assimilated toxins which is a slower and minor pathway.

Two mechanisms might explain the different observed values of TAE. Firstly, high TAE values might be associated with high food (and toxin) assimilation and therefore reducing the amount of egestable toxin. According to Lassus et al. (2007), these assimilated toxins would be less efficiently eliminated. Secondly, the metabolic elimination pathway could be saturated due to the high concentrations of toxins. Thus individuals with high concentrations of PST could reach a maximum toxin elimination rate and subsequently detoxify lower in relation to the amount of toxins. Further experimental work is needed to better understand the relative contribution of the assimilation and detoxification on the variations of TAE.

2.5 Conclusion

This study clearly highlights the contribution of feeding in toxin accumulation of oysters. Indeed, 78% of the inter-individual variability in toxin accumulation can be explained by the oyster filtration behavior during the exposure to *A. minutum*. Even if all the observed oysters exhibited the same primary response to this harmful alga (i.e. strong to total inhibition of filtration activity) they differed in their level of filtration recovery. Results tend to show that this behavior is connected to the filtration capacity, since oysters filtering the most on non-toxic algae were also

the ones filtering the most on *A. minutum*. The present study cannot conclude on the underlying mechanisms leading to this inter-individual variability, however, it allows to link those ones to different phenotypes. As summarized in Fig. 14, three phenotypes could thus be observed which differed in (1) filtration before and during exposure to *A. minutum* (2) clearance rate inhibition (3) toxin accumulation efficiency. Moreover, in each of these processes, clusters responded following the same gradation; oysters from the high accumulation cluster, for example, showed high filtration on both non-toxic algae and *A. minutum* (1), a low clearance rate inhibition (2), and a high toxin accumulation efficiency (3).

All over the world, oyster farmers try to reduce their production times by working with fast-growing oysters (i.e. triploid oysters, oysters selected from fast-growing families). It is likely that such a selection also selects oysters presenting high clearance rates. Because filtration activity is closely linked to the toxin accumulation, we are thus suggesting to pay particular attention to these oysters, which might tend to accumulate more. Furthermore, this study provides new insights to improve sampling and analysis methodology used by national networks for phytoplankton monitoring (e.g. REPHY in France). Indeed, to properly consider the actual accumulation of oysters in the field, sample size (number of oysters) should take into account the high inter-individual variability in accumulation. Because of this high variability, measurements of toxin concentration in pools of oyster should be handled with care.

2.6 Acknowledgements

We are warmly grateful to Bruno Petton at the Ifremer experimental facilities in Argenton for providing SPF oysters, and also Jacqueline Legrand and Dominique Ratskol for producing the non-toxic algae. We also thank Loann Gissat, Isabelle Quéau and Méline Gourault for their technical help.

This study was carried out with the financial support of the French National Research Agency (ANR) "ACCUTOX" project (ANR-13-CESA-0019 2013–2017). This work is part of a PhD project supported by the "Laboratoire d'Excellence" LabexMer (ANR-10-LABX-19) and co-funded by a grant from the French government under the program "Investissement d'Avenir", and by a grant of the Regional Council of Brittany.

Synthèse

L'objectif principal de ce chapitre était d'évaluer la contribution du comportement de filtration d'huîtres *C. gigas* à la variabilité inter-individuelle de l'accumulation des PST. Dans le but de modéliser l'accumulation de ces toxines, il paraissait essentiel d'étudier cette variabilité inter-individuelle et d'en identifier les processus sous-jacents. Pour ce faire, un dispositif expérimental a été mis en œuvre où la filtration de 42 huîtres a été suivie durant 4 jours. L'une des originalités du protocole utilisé réside sur le fait que la filtration individuelle a d'abord été mesurée sur des algues non-toxiques puis sur une algue toxique : *A. minutum*. De plus, pour généraliser nos résultats, l'expérience a été reproduite 6 fois sur 7 huîtres, avec des concentrations en *A. minutum* allant de $6.5 \cdot 10^5$ à $1.8 \cdot 10^6 \text{ cell.L}^{-1}$ ont été distribuées. Les données de filtration ont ensuite été comparées aux concentrations en toxines accumulées à la fin de l'expérience.

Cette étude a clairement mis en évidence l'implication du comportement de filtration dans l'accumulation des toxines (Fig. 11) et ce malgré une concentration en *A. minutum* allant quasiment du simple au triple entre les expériences. Pour pouvoir expliquer ce comportement, nous avons émis deux principales hypothèses non exclusives :

1. Les huîtres qui filtrent le plus durant une exposition à *A. minutum* sont celles qui ont une capacité de filtration de base supérieure à la moyenne.
2. Ce sont les huîtres les moins sensibles à la toxine qui filtrent le plus quand elles sont exposées à *A. minutum*.

Nous avons donc comparé individuellement le "niveau basal" de filtration sur des algues non-toxiques à la concentration en toxines accumulées, sans toutefois observer de lien significatif (Fig. 12). L'hypothèse (2) semblerait donc la plus probable du point de vue individuel.

Par la suite nous nous sommes intéressés au potentiel d'accumulation (i.e. concentration en toxines accumulées par nombre de cellules d'*A. minutum* distribué) et avons observé que trois groupes différents étaient identifiables pour cette variable. Nous avons donc choisi de regrouper les 42 huîtres suivies en fonction de ces 3 clusters sous les appellations : faible, intermédiaire et fort potentiel d'accumulation. Sur la base de ces groupes, différentes analyses ont été faites. Nous avons dans un premier temps comparé les niveaux de filtration durant toute l'expérience en considérant deux conditions différentes : les deux premiers jours nourries avec des algues non-toxiques puis les deux jours suivants nourries avec l'algue toxique *A. minutum* (Fig. 9, p. 45). Une différence significative était clairement observable entre ces groupes avant et pendant l'exposition : les individus filtrant le plus étant ceux qui avaient un potentiel d'accumulation fort. À l'échelle sous-populationnelle,

l'hypothèse (1) présentée dans le paragraphe précédent, basée sur un lien entre le niveau de filtration de base et la filtration pendant une exposition à *A. minutum* peut ainsi être validée. Cependant, l'hypothèse (2) n'est pas pour autant infirmée puisque l'on remarque dans la figure 10 (p. 46), que le taux d'inhibition de la filtration face à une exposition à *A. minutum* est corrélé au potentiel d'accumulation. Il semble donc qu'une forme de sensibilité à cette algue potentiellement responsable d'une inhibition de la filtration joue un rôle dans l'accumulation. Enfin l'efficacité d'accumulation de la toxine (ratio des toxines mesurées dans l'animal sur celles consommées; TAE) témoin de processus comme l'assimilation ou la détoxification, a été mesuré et comparé entre les groupes. Encore une fois, les trois groupes identifiés différaient significativement avec un TAE croissant en fonction du potentiel d'accumulation.

Dans le but de répondre à la problématique de ce chapitre, les données liées à la prise alimentaire et ainsi l'accumulation de toxines ont été présentées. Cependant, d'autres mesures ont été faites durant cette expérience. Ainsi, la fréquence cardiaque et le taux de respiration ont été enregistrés à haute fréquence tout au long de l'expérience. En se basant toujours sur les groupes obtenus dans ce chapitre, nous allons donc nous demander dans le chapitre suivant si l'activité métabolique, mesurée à partir des taux de respiration et des battements cardiaques, peut être reliée au potentiel d'accumulation.

Chapitre 3

**Quelles différences physiologiques
entre les groupes d'huîtres à potentiel
d'accumulations de toxines différents ?**

3.1 Introduction

En étudiant les sources de variabilité inter-individuelle dans l'accumulation des toxines paralysantes (chapitre 2), 3 groupes au sein de la population de *C. gigas*, présentant des réponses et comportements différents face à *A. minutum* et à ses toxines ont été mis en évidence grâce à une fonction de regroupement appliquée sur le potentiel d'accumulation (ratio de la quantité de toxines accumulées sur le nombre de cellules d'algue toxique distribuées par huître; Fig. 15). L'analyse de différentes mesures en lien avec l'accumulation de toxines (efficacité d'accumulation de la toxine, évolution de la filtration et son indice d'inhibition) a permis de montrer que ces groupes réagissaient significativement différemment face aux algues toxiques et à leur cortège toxinique.

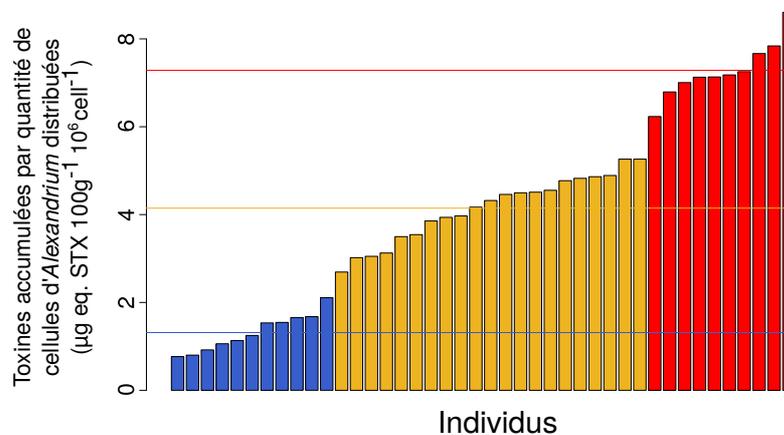


FIG. 15 – Histogramme des concentrations en toxines accumulées par quantité de cellules distribuées dans chaque enceinte individuelle contenant une huître. Les couleurs bleues, jaunes et rouges correspondent respectivement aux groupes à potentiels d'accumulation faible, intermédiaire et fort. Les lignes horizontales colorées représentent les moyennes de chaque groupe. Les individus ont été classés en fonction de leur potentiel pour distinguer plus aisément les trois phénotypes étudiés dans le chapitre 2.

En effet, les 42 huîtres issues de 60 géniteurs sauvages, élevées en conditions standards, ont présenté des valeurs graduellement différentes de leurs taux de filtration et de leur accumulation de toxines. L'étude de ces groupes, nous a permis d'émettre l'hypothèse qu'ils se différenciaient par (1) leur sensibilité à *A. minutum* et ses toxines, et (2) leur capacité de filtration de base (i.e. mesurée lors de l'exposition à des algues fourrage non-toxique). Afin de poursuivre l'identification des différences entre ces 3 groupes, c'est le processus d'assimilation qui va être développé dans le présent chapitre. L'assimilation, permettant l'entrée de l'énergie dans le milieu interne de l'huître, est une fonction clé dans l'accumulation des toxines paralysantes. Une comparaison de deux variables liées au métabolisme, le taux de respiration et la fréquence cardiaque, sera également effectuée. Enfin, pour conclure ce chapitre, les données biométriques des huîtres suivies, seront présen-

tées. Toutes ces données ont été recueillies durant l'expérience présentée dans le chapitre 2.

3.2 Matériel et méthodes

3.2.1 Efficacité d'assimilation

L'efficacité d'assimilation (ou rendement d'assimilation) correspond à la fraction de nourriture ingérée qui est assimilée par l'huître pour un régime algal donné. La méthode de Conover (Conover, 1966) permet d'évaluer cette efficacité d'assimilation en comparant la fraction organique d'une culture d'algue qui constitue la source de nourriture à celle présente dans les fèces produits par une huître. Pour ce faire, les fèces de chaque huître ont été prélevés quotidiennement, puis stockés à -20°C . Après décongélation, les échantillons ont été centrifugés (3500 rpm, 10 minutes, 10°C), puis le culot a été rincé au formiate d'ammonium pour retirer le sel de l'eau de mer restante. Les fèces ont d'abord été placés à l'étuve deux jours à 40°C puis pesés (à 10^{-4} g près). Enfin, ils ont été placés 4 heures à 450°C dans un four à moufle pour brûler la fraction organique, puis pesés de nouveau. Le même protocole a également été appliqué sur des échantillons de la culture d'algue distribuée quotidiennement. L'efficacité d'assimilation a ensuite été calculée d'après la formule de Conover (1966) :

$$AE(\%) = \left[\frac{(F' - E')}{(1 - E') \times F'} \right] \times 100$$

Avec F' la fraction organique contenue dans les fèces et E' celle contenue dans la culture algale distribuée 24 h avant la collecte des fèces.

3.2.2 Taux de respiration

Lors de l'expérience menée dans le chapitre 2, des mesures du taux de consommation en oxygène des huîtres (taux de respiration) ont également été effectuées avec l'aide du banc écophysiological (Fig. 8, p. 42). La concentration en oxygène dans le flux sortant de chaque enceinte individuelle contenant une huître (enceintes 2 à 8) a été enregistrée pendant 15 minutes, les unes à la suite des autres, grâce à une optode reliée à une sonde multiparamètres. Entre chaque enceinte contenant une huître, la concentration en O_2 dans l'eau de mer a également été mesurée pendant 15 minutes dans l'enceinte témoin (enceinte 1, sans huître). Le taux de respiration ($RR_{huître}, \text{mg } O_2 \text{ h}^{-1}$) a été calculé à partir des concentrations en oxygène des 7 dernières minutes de chaque série d'enregistrements pour garantir un renouvellement complet de l'eau de mer au niveau de l'optode. Le taux de respiration a été mesuré d'après l'équation :

$$RR_{huître} = F_R \times (Oxy_{tem} - Oxy_{huître})$$

avec, F_R le débit traversant l'enceinte ($L h^{-1}$), $Oxy_{huître}$ la concentration en oxygène ($mg O_2 h^{-1}$) dans l'enceinte contenant une huître et Oxy_{tem} la moyenne de la concentration en oxygène dans l'enceinte témoin mesurée avant et après l'enceinte suivie contenant une huître.

Pour s'affranchir des variations de masse entre les huîtres, le taux de respiration a été standardisé pour un individu de 1 g de poids frais sans coquille en suivant la formule de Bayne *et al.* (1987) :

$$RR_s = \left(\frac{M_s}{M_{huître}} \right)^{3/4} \times RR_{huître}$$

où RR_s correspond au taux de respiration standardisé pour un individu de masse égale à M_s (dans ce cas 1 g de poids frais sans coquille), $M_{huître}$ le poids frais sans coquille de l'huître dans l'enceinte suivie, $RR_{huître}$ son taux de respiration et $3/4$ le coefficient allométrique de ce taux (e.g. Savina et Pouvreau, 2004).

3.2.3 Fréquence cardiaque

Le rythme cardiaque (HBF) des huîtres a été enregistré au niveau individuel par une méthode non-invasive basée sur l'utilisation de capteurs infra-rouge IR De-pledge et Andersen (1990) ; Burnett *et al.* (2013). Ce système de mesure, construit par F. Lima et R. Seabra (Université de Porto), est composé de 8 capteurs munis d'une diode LED émettrice d'une lumière infra-rouge, couplée à un photo-récepteur, et d'un boîtier d'acquisition formé de trois cartes de circuits imprimés Arduino, incluant une carte développée par F. Lima. Chaque capteur est collé sur la coquille de l'huître au niveau de la zone cardiaque. La lumière IR passe à travers la coquille et illumine le système circulatoire de l'huître. Les changements de volume du cœur dus aux battements cardiaques entraînent des variations de quantité de lumière IR réfléchie. Ces variations sont converties en variations de tension par le circuit imprimé Arduino, elles sont électroniquement amplifiées et filtrées, puis traitées avec le logiciel R pour exprimer une activité cardiaque (HBF) exprimée en battements par minute. Un examen visuel minutieux de chaque enregistrement est nécessaire pour éliminer tous les bruits et signaux parasites irréguliers ne correspondant pas à un battement cardiaque.

L'activité cardiaque des 42 huîtres suivies dans l'expérience décrite au chapitre 2 a été estimée sur une période d'enregistrement de 3 minutes, et ce toutes les 30 minutes, sur la durée des 4 jours (2 jours avant exposition et 2 jours pendant l'exposition à *A. minutum*) de chaque expérimentation.

3.2.4 Données biométriques

À la fin de chaque série d'expérience, quatre paramètres biométriques (masse totale, masse de coquille, masse de chair fraîche et longueur de coquille) ont été mesurés sur les 42 individus suivies. Ces mesures ont été réalisées au moyen

d'un pied à coulisse (à 10^{-1} mm près) et d'une balance de précision (à 10^{-4} g près) Chaque série d'expériences ayant été menée à court terme (4 jours), nous ne considérons pas que la variabilité dans le comportement de filtration observée (voir chapitre 2) puisse avoir un effet sur ces variables biométriques mesurées.

3.3 Résultats

3.3.1 Efficacité d'assimilation

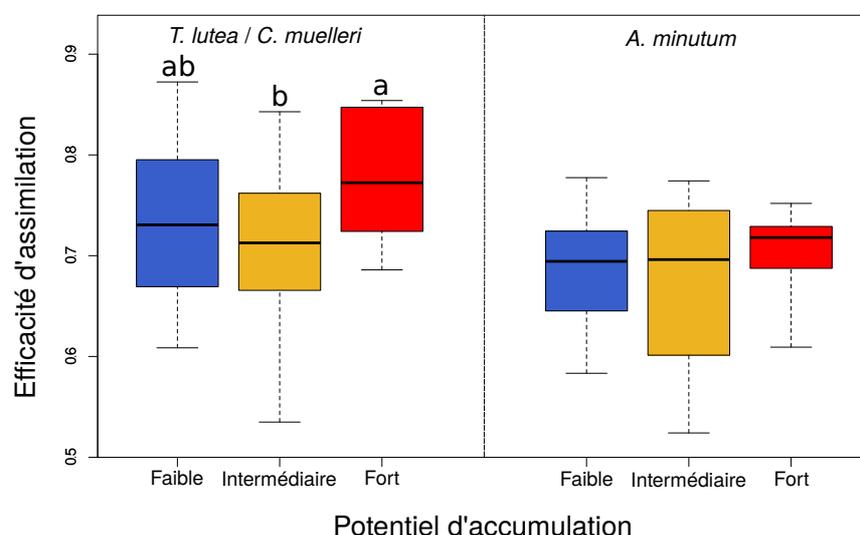


FIG. 16 – Comparaison des rendements d'assimilation entre les groupes d'huîtres moyennés sur les 2 premiers jours en condition non-toxique (mélange *T. lutea* et *C. muelleri*) puis sur les 2 jours durant l'exposition à *A. minutum*. Les barres d'erreur représentent 90 % de la variabilité totale de l'échantillon. Les lettres surmontant les boxplots expriment une différence significative (p -value=0.0113) obtenue après analyse de la variance deux à deux entre les groupes.

Les efficacités d'assimilation des huîtres en fonction de leur appartenance aux trois groupes, avant (mélange *T. lutea* et *C. muelleri*) et pendant l'exposition à *A. minutum* ont été comparées (Fig. 16). L'ANOVA a permis de mettre en évidence une différence d'accumulation entre les groupes au potentiel d'accumulation fort et intermédiaire, uniquement en condition non-toxiques. Par ailleurs, le groupe "fort potentiel" présente la variabilité la plus faible pendant les deux phases (non-toxiques et toxiques). Enfin en comparant l'assimilation entre les deux régimes alimentaires, tous groupes confondus, une diminution modérée de l'assimilation générale est observée avec *A. minutum* (AE=67.5) par rapport au mélange d'algues fourrage (AE=73.2; p -value=0.0072; ANOVA).

3.3.2 Taux de respiration

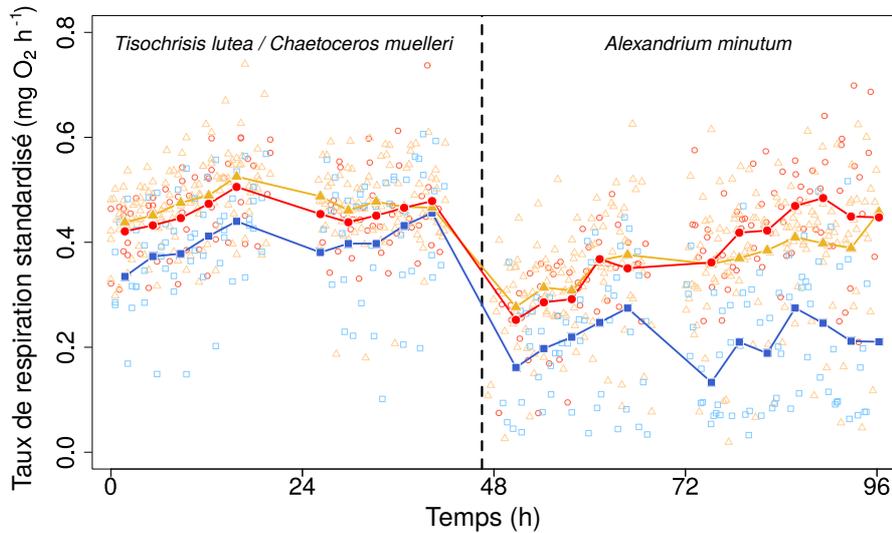


FIG. 17 – Évolution du taux de respiration standardisé en fonction de l'appartenance à chacun des groupes pendant la durée totale de l'expérience (4 jours). Les deux premiers jours, les huîtres ont été exposées à un mélange de *T. lutea* et *C. muelleri*, puis à *A. minutum* les deux jours suivants. Les symboles non pleins (□ ; △ ; ○) correspondent aux mesures individuelles effectuées tout au long de l'expérience pour les huîtres au potentiel d'accumulation respectivement faible, intermédiaire et fort. Les symboles pleins représentent la mesure moyennée du taux de respiration pendant un cycle d'acquisition complet (3.5h) : ■ faible, ▲ intermédiaire et ● fort potentiel d'accumulation.

TAB. 2 – Comparaison des taux de respiration de *C. gigas* entre les groupes à potentiel d'accumulation faible, intermédiaire et fort avant l'exposition à *A. minutum* (jours 1 et 2) puis pendant (jours 3 et 4). Le tableau représente les p-values obtenues grâce à des tests post hoc de Tukey appliqués sur des modèles linéaires à effets mixtes.

Groupes	Avant exposition	Après exposition
Faible - Intermédiaire	0.0237	$< 1e^{-4}$
Faible - Fort	NS	$< 1e^{-5}$
Intermédiaire - Fort	NS	NS

L'évolution du taux de respiration (fig. 17) permet de mettre en lumière le fait que le groupe d'huître présentant un faible potentiel d'accumulation se différencie des deux autres (Tab. 2). Ce groupe présente, en effet, tout au long de l'expérience (i.e. avant et pendant l'exposition) une activité respiratoire plus faible que les deux autres. En revanche, les groupes à potentiel d'accumulation fort et intermédiaire présentent des évolutions similaires : un niveau de respiration stable pendant les deux premiers jours, une diminution ensuite durant les premières heures de l'exposition puis un retour à la situation initiale. En revanche, le groupe à faible potentiel d'accumulation ne recouvre pas le niveau de base mesuré en l'absence d'algues

toxiques et présente des valeurs plus variables le dernier jour de l'exposition. Enfin, le taux de respiration des huîtres diminue globalement pendant l'exposition, avec une moyenne de 0.45 mg d'O₂ consommés par heure pendant la phase algues non-toxiques contre 0.33 pendant l'exposition (p-value < 0.01 ; Wilcoxon). Au plan individuel, il faut noter qu'une seule huître a vraiment augmenté son taux de respiration durant l'exposition à *A. minutum* (supérieur à 1.2 fois le taux de respiration moyen avec *T. lutea* et *C. muelleri*), 20 n'ont pas subi de réel changement (entre 0.8 et 1.2 fois le taux de respiration moyen avec *T. lutea* et *C. muelleri*) et la moitié restante a elle diminué sa consommation en oxygène de façon importante (moins de 0.8 fois le taux de respiration moyen avec *T. lutea* et *C. muelleri*).

3.3.3 Fréquence cardiaque

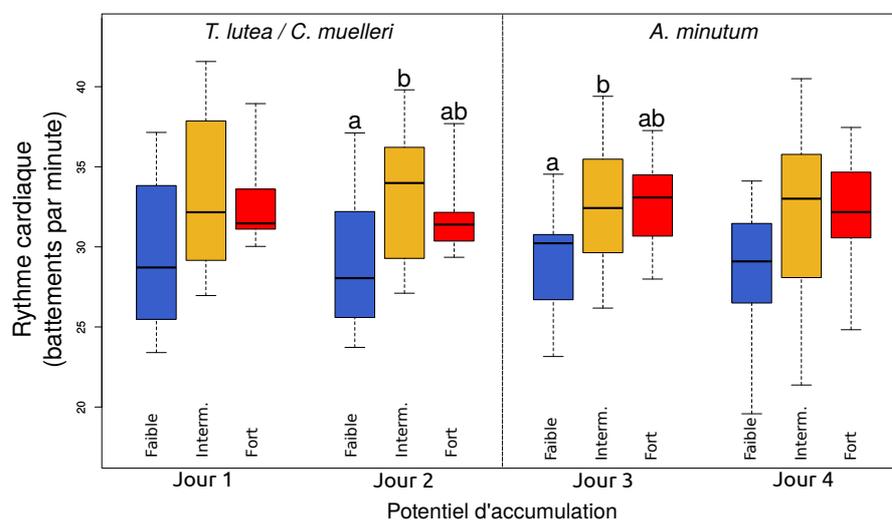


FIG. 18 – Moyenne journalière des fréquences cardiaques entre les groupes d'huîtres à potentiel d'accumulation de toxines faible, intermédiaire, fort durant la phase non-toxique (mélange *T. lutea* et *C. muelleri*; jours 1 et 2) puis pendant l'exposition à *A. minutum* (jours 3 et 4). Les barres d'erreurs représentent ici 90% de la variabilité totale de l'échantillon. Les lettres surmontant les boxplots expriment une différence significative (p-value égale à 0.046 au jour 2 et 0.048 au jour 3) obtenue après application de tests t de Student.

La figure 18 présente la moyenne par groupe et par jour du rythme cardiaque. En premier lieu, l'exposition à *A. minutum* ne semble pas induire de modifications du rythme cardiaque des huîtres suivies. L'étude statistique confirme cette observation puisque aucune différence significative n'apparaît en comparant les fréquences cardiaques moyennes des phases non-toxiques et toxiques, tous groupes confondus ou individualisés. Du point de vue individuel, la fréquence cardiaque est stable. Seuls 2 individus présentent une augmentation ou une diminution de leur activité cardiaque supérieure à 1.2 fois la fréquence cardiaque moyenne mesurée avec le mélange *T. lutea/C. muelleri* (données non présentées). À l'échelle des groupes, il

semble exister une tendance tout au long de l'expérience. Les groupes aux potentiels d'accumulation intermédiaire et fort présentent une moyenne assez proche tandis que pour chacun des jours, le groupe d'huîtres à faible potentiel d'accumulation semble avoir une activité cardiaque plus faible. Ce dernier groupe se différencie significativement du groupe à potentiel d'accumulation intermédiaire aux jours 2 et 3 (p -value respectivement égale à 0.046 et 0.048, t -test), à la fois avant exposition et pendant l'exposition à *A. minutum*.

3.3.4 Données biométriques

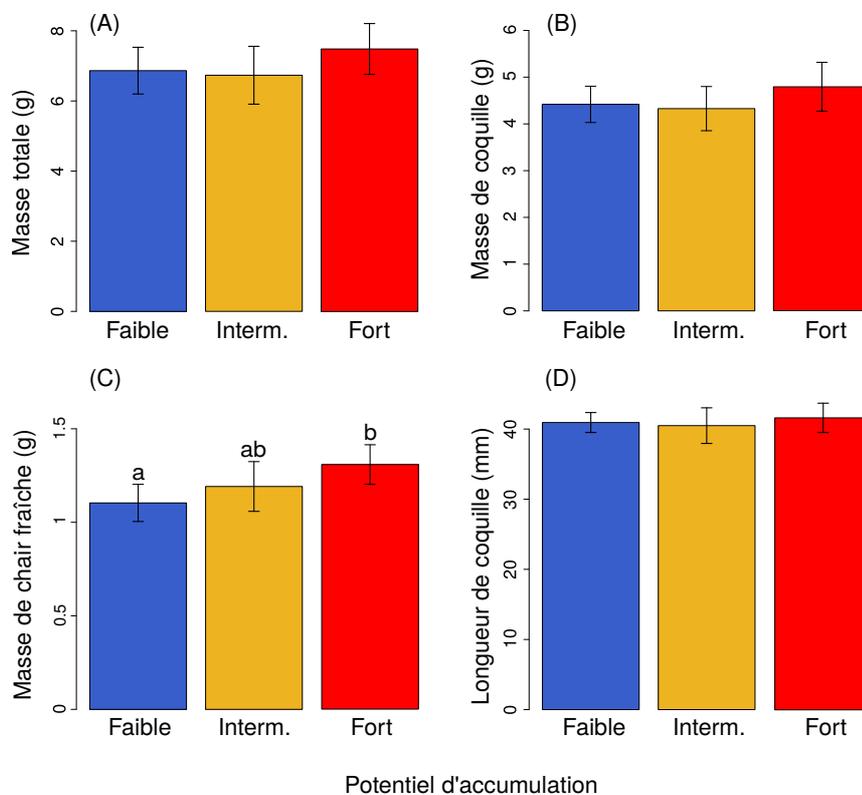


FIG. 19 – Diagrammes en barre des paramètres biométriques (Masse totale,(A) ; masse de coquille, (B) ; masse de chair fraîche, (C) ; Longueur de coquille (D)) mesurés sur les 42 huîtres de l'expérience, en fonction de leur potentiel d'accumulation de toxines. Les lettres surmontant les graphiques expriment une différence significative (p -value=0.03566; test t de Student).

La masse totale, la masse de coquille et la longueur de coquille ne présentent pas de différences entre les groupes à l'issue de l'exposition (Fig. 19). En revanche, le groupe à fort potentiel d'accumulation de toxines se distingue du groupe à faible potentiel par une masse de chair fraîche plus importante (p -value=0.03566, Student). Pour les trois autres paramètres étudiés, aucune différence significative n'apparaît.

3.4 Discussion

Efficacité d'assimilation L'efficacité d'assimilation est un processus indépendant de la taille d'un organisme, de la quantité de nourriture et qui varie dans le temps (Gerdes, 1983). En revanche il dépend de la nature de la nourriture comme le montre nos résultats (fig. 16). Pour la phase non toxique, les taux d'assimilations calculés sont dans la gamme de valeurs généralement observées chez *C. gigas* ou *C. virginica* nourries avec *T. lutea* et *C. muelleri* (Gerdes, 1983 ; Romberger et Epifanio, 1981). Nos résultats ne montrent pas de différences d'efficacité d'assimilation entre les différents groupes pendant la phase d'exposition à *A. minutum*. Toutefois, la différence d'efficacité d'assimilation entre les huîtres aux potentiels d'accumulation fort et intermédiaire pendant la phase non-toxique est à relier aux efficacités d'accumulation de la toxine (fig. 13) présentés dans le chapitre précédent. Si peu de données existent spécifiquement pour *A. minutum*, des travaux réalisés sur deux moules *Mytilus edulis* et *Perna canaliculus* qui comparent l'efficacité d'assimilation de différentes algues, ont mis en évidence que les espèces du genre *Alexandrium* étaient plutôt bien assimilées par ces espèces (Wang et Fisher, 1996 ; Ren *et al.*, 2006). Si l'on considère que le processus d'assimilation de la nourriture est positivement corrélé à l'assimilation de la toxine, il en résulte alors logiquement que des efficacités d'assimilation différentes pourraient causer à elles seules des différences d'accumulation de toxine. Pour confirmer cette hypothèse, d'autres expériences devront être menées avec un nombre plus important d'huîtres par groupe pendant une période plus longue.

Taux de respiration La respiration se définit comme l'échange d'oxygène et de dioxyde de carbone entre un organisme et son milieu. Le métabolisme correspond à la façon dont cet oxygène est utilisé pour générer et transporter de l'énergie. Ainsi, le taux de respiration est étroitement lié au métabolisme puisqu'il s'ajuste en fonction des besoins métaboliques. Ceux-ci correspondent en temps normal aux coûts de maintenance généraux, aux processus liés à la nutrition (filtration, digestion, excrétion) ou encore à la reproduction. Le taux de respiration est aussi modulable, puisqu'il a été montré qu'en cas de contact avec des contaminants (Rao et Khan, 2000), des pathogènes (Flye-Sainte-Marie *et al.*, 2007b) ou des parasites (Chambon *et al.*, 2007), les besoins métaboliques de certains bivalves augmentaient. Dans notre étude, un taux de respiration significativement plus faible pour le groupe à faible potentiel d'accumulation par rapport au groupe intermédiaire pendant la phase non-toxique a été observé (Fig. 17). Le taux de respiration est intimement lié au métabolisme, puisque l'énergie est synthétisée à partir de la nourriture en utilisant l'oxygène respiré comme accepteur final d'électrons lors de la production d'adénosine triphosphate (ATP). Le taux de respiration plus faible résulte donc sans doute d'une activité de filtration plus faible, le taux de filtration de ces deux

groupes se différenciant déjà avant l'exposition (Fig. 9). Après l'exposition, un taux de respiration plus bas chez le groupe à faible potentiel d'accumulation et plus variable par rapport aux deux autres pendant l'exposition est aussi observé, ce qui peut s'expliquer également par une activité de filtration réduite ou perturbée. En ce qui concerne la variabilité accrue observée au sein de ce groupe, il est possible qu'en présence d'*A. minutum*, les huîtres de ce groupe ne s'ouvrent que ponctuellement pour respirer et se nourrir. Ce comportement serait cohérent avec le suivi du taux de filtration pour ce groupe qui montrait une activité très faible lors de l'exposition à *A. minutum*. Cette hypothèse permettrait ainsi de confirmer le fait que ce groupe est plus sensible à *A. minutum*. Marsden et Shumway (1993) qui avaient analysé les réponses respiratoires de 5 bivalves avant, pendant et après une exposition à *A. tamarensis* avaient relié la diminution du taux de respiration à une sensibilité aiguë à la toxine. Il est donc probable que cette réponse soit aussi observable à l'échelle intra-spécifique. Pour ce qui est des deux autres groupes, en revanche, le résultat observé est plus étonnant. En effet, les différences de taux de filtration ne se retrouvent pas au niveau des taux de respiration. Par ailleurs, Li *et al.* (2002) ont montré que les toxines paralysantes avaient un effet significatif sur la bioénergétique de deux bivalves après 6 jours d'exposition. Les auteurs ont notamment mis en évidence que plus un individu accumulait, plus sa consommation en oxygène était forte. L'apparente absence de différences entre les groupes à potentiel d'accumulation fort et intermédiaire dans notre étude s'explique peut-être par un temps d'exposition plus court. Cependant, nos résultats semblent montrer que l'exposition à *A. minutum* a plutôt tendance à faire diminuer le taux de respiration moyen chez *C. gigas*, même si une grande variabilité dans la réponse respiratoire a été observée parmi les 42 individus suivis. Ces résultats confortent les observations de Marsden et Shumway (1993) qui avaient également mis en évidence une diminution du taux de respiration chez l'huître *C. virginica* après une exposition à *A. tamarensis*.

Fréquence cardiaque La fréquence cardiaque est considérée comme un marqueur fiable de la physiologie des mollusques (Helm et Trueman, 1967 ; Santini *et al.*, 1999; 2000 ; Chelazzi *et al.*, 2001 ; Marshall *et al.*, 2011). Cette fonction biologique a déjà été étudiée pour caractériser l'effet de facteurs abiotiques comme la température ou la salinité (Williams *et al.*, 2011 ; Logan *et al.*, 2012), de la prédation (Rovero *et al.*, 1999) ou de contaminants (Chelazzi *et al.*, 2004 ; Galloway *et al.*, 2004 ; Marshall *et al.*, 2004 ; Halldórsson *et al.*, 2008) sur le métabolisme de certains mollusques. Il peut arriver que pour compenser une augmentation de la demande en oxygène, un organisme élève son rythme cardiaque sans hausser son taux de respiration (Bayne, 2017). Dans notre étude, le groupe à faible potentiel d'accumulation, qui avait déjà un taux de respiration plus faible que les autres, a également un rythme cardiaque plus bas avant et durant l'exposition à *A. minutum*

par rapport au groupe intermédiaire. Ceci confirmerai que ce groupe se caractérise par un taux métabolique de base plus bas que les deux autres. Peu de travaux ont pour le moment traité de l'effet des algues toxiques comme *A. minutum* sur les bivalves. Ce travail constitue même la première étude décrivant les effets d'une algue toxique sur le rythme cardiaque de *C. gigas*. Gainey et Shumway (1988b) qui représente le seul article traitant de ce sujet à ce jour, a comparé l'activité cardiaque de huit espèces de bivalves lors d'une exposition à *Alexandrium tamarense*. Les résultats ont montré qu'il existait une grande variabilité inter- et intra-spécifique dans l'activité cardiaque (inhibition, excitation, arythmie) face à ce type d'algue. Ce sont d'ailleurs les espèces de bivalves appartenant à la sous-classe des pteriomorphes comme l'huître *Ostrea edulis* qui sont les plus affectées. Chez cette dernière espèce, trois réponses ont été constatées (inhibition, arythmies et pas d'effet) en fonction des individus. Les résultats présentés dans cette étude permettent de montrer qu'une exposition de deux jours à *A. minutum* n'a a priori aucun effet sur le rythme cardiaque de *C. gigas* puisque 40 sur 42 huîtres suivies n'ont montré aucun changement de leur activité cardiaque en présence d'*A. minutum*. Ces résultats vont donc dans le sens de Boullot *et al.* (2017) qui argumentaient d'une potentielle résistance aux PST chez *C. gigas*.

Données biométriques Selon Bricelj et Shumway (1998), la masse des individus contribue de façon importante à la variabilité interindividuelle des taux d'accumulation de toxines. En se basant sur les relations d'allométrie, les plus petits individus devraient, en théorie, avoir un taux d'ingestion de cellules par unité de biomasse plus fort que les gros individus. Cependant différentes tendances sont décrites dans la littérature. Bricelj et Shumway (1998) et Aalvik et Framstad (1981) décrivent une accumulation plus forte chez des juvéniles que chez les adultes (facteur 2). À l'inverse, Bogan *et al.* (2007) montrent que sur plusieurs classes de tailles de coquilles Saint-Jacques (*P. maximus*) et sur plusieurs années aucun lien ne pouvait être fait entre la longueur de coquille et l'accumulation d'une autre phycotoxine (acide domoïque). Sur les 10 expositions présentées, ces résultats montrent même plus de relations positives (3) que négatives (1) entre la longueur et l'accumulation d'acide domoïque. Dans le cas de cette étude, le design expérimental ne permet pas de répondre à ce questionnement lié à l'allométrie puisque les huîtres utilisées provenaient toutes de la même cohorte, ont été élevées dans les mêmes conditions et avaient donc une gamme de taille similaire. Cependant, il a été montré que le potentiel d'accumulation est relié positivement et de façon significative à la masse de chair fraîche (fig. 19). Ce résultat est à mettre en étroite relation avec les taux de filtrations (clearance rate) présentés dans le chapitre 2 et le taux d'assimilation du présent chapitre (Fig. 16). Ceci signifie que certaines huîtres ont un potentiel de nutrition (filtration et assimilation) plus fort que d'autres, leur conférant un taux de croissance plus fort. Ainsi, lorsque ces huîtres sont exposées à des algues

toxiques elles accumulent plus puisqu'elles se nourrissent plus que les autres, d'où leur potentiel d'accumulation identifié comme "fort" dans cette étude.

Synthèse

Les données présentées dans ce chapitre, permettent de compléter les résultats détaillés dans le chapitre 2. Nous avons observé que les huîtres avec un fort potentiel d'accumulation présentent une meilleure efficacité d'assimilation que celles ayant un faible potentiel d'accumulation, alors que ces dernières présenteraient en revanche une activité métabolique (taux de respiration, battement cardiaque) réduite. Enfin, ces deux groupes se différencient par leur masse de chair fraîche, les huîtres à faible potentiel d'accumulation présentant une masse significativement plus faible. Ces résultats couplés à ceux du chapitre 2, permettent d'émettre l'hypothèse qu'initialement, les huîtres étudiées possédaient une variabilité dans leur capacité de nutrition de base (filtration et assimilation) et que cette variabilité a eu plusieurs répercussions sur les individus et leur fonctions biologiques.

- En effet, sachant que les huîtres ont été nourries de la même façon, la masse de chair fraîche de ces dernières est la résultante de leur capacité de nutrition. Ensuite, puisque les taux métaboliques comme la respiration ou la fréquence cardiaque répondent à une demande proportionnelle à la masse de structure, les individus les plus petits présenteront une activité métabolique plus faible.
- Face aux toxines, les individus qui disposent d'une meilleure capacité de nutrition seront ceux qui consommeront le plus de cellules toxiques et donc qui accumuleront la plus grande quantité absolue de toxines. Cependant, le fait que ces individus soient aussi les plus gros et potentiellement les plus fournis en réserves, contribue à diluer la dose de toxines accumulées et d'autre part leur permet d'être moins impactés sur le plan bioénergétique par l'effet de ces toxines. Ce stock d'énergie leur permet en effet de tenir plus longtemps avant que l'augmentation des coûts de maintenance associée aux effets des PST n'ait un impact sur leur structure. Inversement, les huîtres les plus chétives limiteront leur prise alimentaire et réduiront leur métabolisme pendant une efflorescence d'algues toxiques puisque leur faible masse implique une accumulation plus rapide et une moins grande quantité de réserves pour répondre aux éventuels surcoûts énergétiques provoqués par la toxine.

Nous avons observé une accumulation importante lors de cette première expérimentation à court terme où la micro-algue toxique *A. minutum* était distribuée seule. Différents articles ont montré que la sélection alimentaire opérée par les bivalves pouvait avoir un effet sur l'accumulation de toxines (Mafra *et al.*, 2009; 2010b). En d'autres termes, le fait qu'à concentrations égales, *A. minutum* soit distribué mélangé ou pas avec d'autres micro-algues non-toxiques, peut induire une accumulation très différente chez les bivalves. Le modèle DEB standard n'inclue pas ce genre de processus de sélection, en revanche un système basé sur le concept des "Synthesizing units" (SU; Kooijman, 1998) a été développé pour traiter de

la préférence alimentaire chez un bivalve (Lavaud *et al.*, 2014). Dans le chapitre qui suit nous allons tenter d'expliciter le fonctionnement de ce concept puis nous comparerons trois systèmes de sélections adaptés à notre problématique.

Deuxième partie

**Modéliser l'accumulation des toxines
paralyzantes par *Crassostrea gigas***

Chapitre 4

Comment prendre en compte la préférence alimentaire ?

4.1 Contexte et objectifs

Les huîtres avec lesquelles nous travaillons sont, en milieu contrôlé comme en milieu naturel, exposées à des algues toxiques et non-toxiques. Ces huîtres perçoivent les concentrations des deux types d'algues (X l'algue non-toxique et Y l'algue toxique). Dans le but de modéliser à partir d'un modèle DEB l'accumulation de toxines toujours en lien avec le statut énergétique de l'individu et les conditions de l'environnement (Chapitre 5) nous cherchons dans ce chapitre à prédire à partir des concentrations en X et Y :

- le flux d'ingestion d'algues non-toxiques
- le flux d'ingestion d'algues toxiques

Les données expérimentales montrent une accumulation significative de toxines lorsque les individus ne sont exposés qu'à des algues toxiques (Chapitre 2; Pousse *et al.*, in rev.). En revanche, lors d'une exposition à une concentration similaire d'algues toxiques et d'algues non-toxiques, on constate une accumulation beaucoup plus faible (voir chapitre 5). Cela tend à indiquer qu'un type d'algue est préférentiellement sélectionné par rapport à un autre. Les données présentées dans le chapitre précédent ont également permis de montrer que le taux de filtration en présence d'algues non-toxiques uniquement est plus élevé qu'en présence d'algues toxiques. On sait par ailleurs que les bivalves, et notamment les huîtres (Kjørboe et Møhlenberg, 1981) sont capables de sélectionner les particules qu'ils ingèrent au travers d'un tri pré-ingestif dont résulte la production de petites pelotes appelées pseudo-faeces.

Pour rendre compte de ce phénomène de tri, le concept des Synthesizing Units (SU) a déjà été utilisé dans d'autres modèles DEB pour traiter du problème de la préférence trophique chez d'autres bivalves (Kooijman, 2006 ; Saraiva *et al.*, 2011 ; Lavaud *et al.*, 2014). Cependant, ce concept étant plutôt complexe et nécessitant un grand nombre de paramètres difficilement mesurables, nous avons exploré deux possibilités de simplifier ce modèle de sélection. Pour ce faire, nous avons d'abord développé une approche simple, basée sur une description non mécaniste des processus en jeu dans le but de fixer les hypothèses auxquelles nous voulons répondre. Dans un second temps, nous avons étudié le modèle de SU développé par Lavaud *et al.* (2014) et détaillé son fonctionnement. Nous avons ensuite exploré une version simplifiée du modèle de Lavaud *et al.* (2014). Notre objectif ici était d'évaluer la possibilité de réduire le nombre de paramètres. Finalement, puisque le but de ce modèle est de rendre compte le plus fidèlement de la quantité de chaque micro-algue ingérée, les consommations des deux types de micro-algues selon les trois modèles ont été comparées.

4.2 Modèle "naïf"

Dans un premier temps, avant d'utiliser directement les SU et les équations détaillées par Kooijman (2010), nous avons élaboré un modèle plus simple permettant de définir les hypothèses et questions auxquelles nous voulons répondre.

4.2.1 Hypothèses

- Les espèces possèdent différents niveaux d'appétence pour chaque type de nourriture. Nous introduisons donc les paramètres q_X et q_Y compris entre 0 et 1 qui correspondent à cette "appétence". Dans notre cas d'étude nous considérons $q_X > q_Y$ puisque nous avons observé une préférence en faveur des algues non-toxiques.
- Nous considérons dans un premier temps que les voies d'ingestions ne peuvent pas être saturées. En d'autres termes, l'ingestion ne peut pas être limitée. Cela nous permet de faire reposer le phénomène de sélection seulement sur les paramètres q_X et q_Y .

On a donc $q_X \in [0, 1] > q_Y \in [0, 1]$ avec les flux ingérables des particules X et Y respectivement proportionnels à $q_X X$ et $q_Y Y$.

4.2.2 Mise en équation

On considère que le nombre de particules du substrat X ingéré par individu et par unité de temps (\dot{I}_X , en $\#_{cell} j^{-1}$) est égal à :

$$\dot{I}_X = q_X X V^{2/3} \{\dot{F}\} \quad (4.1)$$

avec q_X l'appétence (sans unité), X la concentration en particules X dans le milieu ($\#_{cell} L^{-1}$), V le volume de structure de l'huître en cm^3 et $\{\dot{F}\}$ le taux de filtration spécifique de l'huître ($L j^{-1} cm^{-2}$)

Pour ajuster le taux de filtration en fonction d'autres paramètres on peut considérer $\{\dot{F}\} = \{\dot{F}_{max}\} G(\epsilon)$

Avec $G(\epsilon)$ une fonction qui peut par exemple prendre en compte la saturation, à la manière de la réponse fonctionnelle $f\left(\frac{X}{X+X_k}\right)$ généralement utilisée dans le modèle DEB. Il est à noter que cette équation de la réponse fonctionnelle provient elle-même d'un raisonnement basé sur les SU (Kooijman, 2010). $G(\epsilon)$ est sans dimension et varie entre 0 et 1.

4.2.3 Cas d'un bac fermé

Dans un premier temps et dans un souci de simplification, on fait ici l'hypothèse qu'une huître est exposée à un mélange d'algues toxiques et non-toxiques dans un

bac fermé.

Les quantités de particules de substrats présentes dans le bac sont égales à :

$$S_X = X v_{bac} \text{ et } S_Y = Y v_{bac}$$

Avec S_X et S_Y les quantités de particules des substrats X et Y dans le bac ($\#_{cell}$), v_{bac} le volume du bac (litre) et X et Y les concentrations des substrats X ou Y ($\#_{cell}/L$). En conditions fermées, la quantité d'un substrat dans le bac peut être calculée à partir de l'équation :

$$\frac{dS_X}{dt} = -q_X X V^{2/3} \{\dot{F}\} \quad (4.2)$$

On a donc comme concentration :

$$\frac{dX}{dt} = \frac{dS_X}{dt} \frac{1}{v_{bac}} = \frac{-q_X X V^{2/3} \{\dot{F}\} t}{v_{bac}} \quad (4.3)$$

$$X(t) = X(0) e^{\frac{-q_X X V^{2/3} \{\dot{F}\} t}{v_{bac}}} \quad (4.4)$$

Simulations

Initialement dans notre simulation, les concentrations en substrat X et Y sont identiques (Fig. 20). La totalité des paramètres utilisés sont présentés dans le tableau 3. Dans cette section, le litre (L) est utilisé comme unité de volume et le jour (j) comme unité de temps.

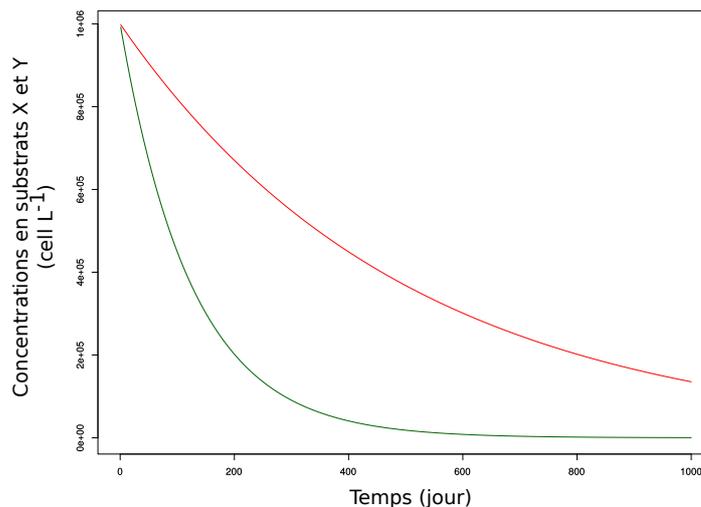


FIG. 20 – Simulation de l'évolution des concentrations X (en vert) et Y (en rouge) dans un système fermé.

À partir des concentrations en substrat X et Y présentées dans la figure 20 et l'équation (4.1), la quantité de cellules consommées en fonction du temps a

également été simulée (fig. 21). Ici, nous considérons qu'une particule qui a été manipulée mais non sélectionnée retourne dans le milieu sous une forme disponible ce qui ne représente sans doute pas la réalité.

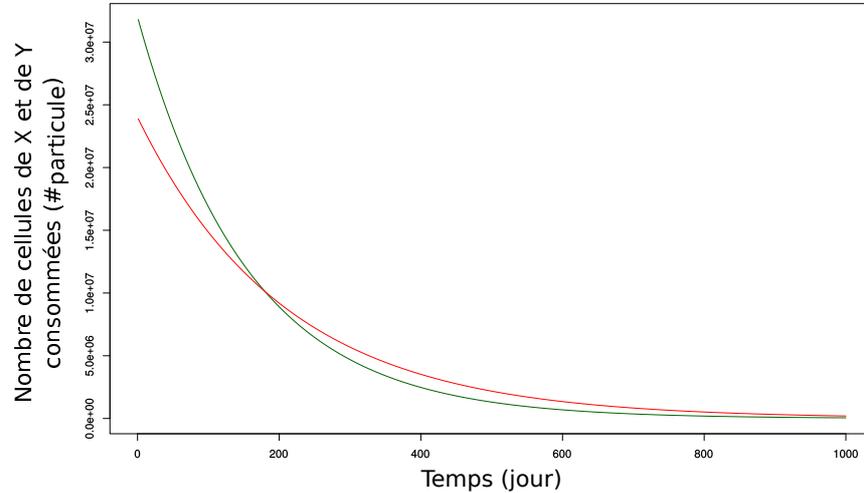


FIG. 21 – Simulation des quantités de cellules consommées de substrat X (en vert) et Y (en rouge) par individ dans un système fermé en fonction du temps.

TAB. 3 – Paramètres utilisés pour les graphiques 20 et 21.

Paramètre	Symbole	Valeur	Unité
Concentration du substrat X dans le milieu	X	10^7	$\#.L^{-1}$
Concentration du substrat Y dans le milieu	Y	10^7	$\#.L^{-1}$
Probabilité de retenir une particule X	q_X	0.8	–
Probabilité de retenir une particule Y	q_Y	0.6	–
Surface de structure de l'individu	$V^{2/3}$	4	cm^2
Volume du bac	v_{bac}	5000	L
Taux de filtration	$\{\dot{F}\}$	10	$L h^{-1}$

4.2.4 Cas d'un système ouvert

Hypothèses

Dans un système ouvert où les flux entrant et sortant d'eau de mer sont importants, comme dans le milieu naturel par exemple, on peut considérer que la filtration des bivalves a un effet négligeable sur la concentration en algues dans le milieu. Par ailleurs, ceci nous permet de nous affranchir de l'approximation faite dans la

section précédente qui considérait que les particules non ingérées étaient relâchées sous forme disponible dans le milieu. On a donc comme quantité d'algues :

$$\frac{dS_X}{dt} = Flux_{entrant} X - Flux_{sortant} X \quad (4.2)$$

Relation concentration en substrat - consommation

En se basant sur l'équation (4.1), la quantité de particules consommées d'un substrat donné en fonction de sa concentration peut être calculée. Cette relation est présentée dans la figure 22 où les substrats sont présents en concentration identiques et constantes mais disposent d'appétences différentes ($q_X=1$ et $q_Y=0.35$). On a alors une relation linéaire, qui tend vers $+\infty$.

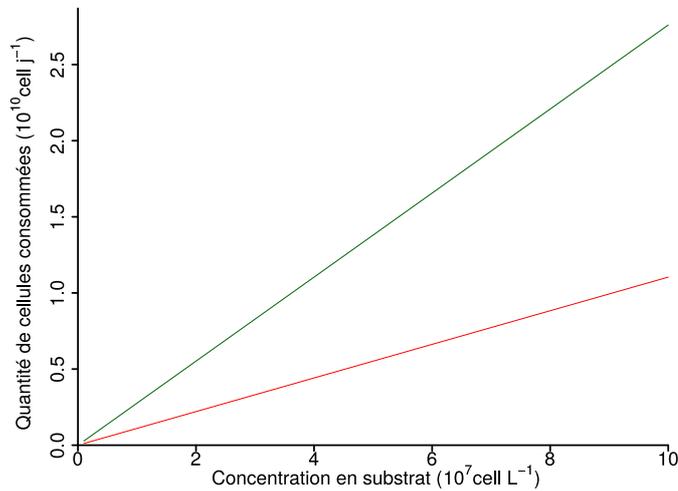


FIG. 22 – Simulation des quantités de cellules consommées par individu et par jour de substrat X (en vert) et Y (en rouge) dans un système ouvert en fonction des concentrations en substrat.

Introduction de la saturation

Lorsque les concentrations en substrat dans le milieu sont trop fortes, un processus de saturation se développe. Ce dernier se manifeste lorsque le temps de traitement d'un substrat ne permet pas de lier tous les substrats aux SU. Cela implique donc un nombre de SU limité. Tel que présenté dans la figure 22, aucun processus de saturation ne permet de limiter la consommation de substrat lorsque les concentrations sont trop fortes. Par ailleurs, on sait que les huîtres ajustent leur filtration en fonction de la concentration en algue (Gerdes, 1983) et ainsi filtrent plus lorsque les concentrations sont faibles et moins quand les concentrations sont fortes.

La quantité de cellules consommées par une huître dans un milieu composé essentiellement des substrats X et Y peut alors s'écrire :

$$\dot{I}_X = q_X X V^{2/3} \{ \dot{F}_{max} \} \left(1 - \frac{X + Y}{X + Y + X_k} \right) \quad (4.5)$$

Avec X_k le coefficient de saturation du milieu en $cell L^{-1}$.

Cette équation a été développée ici dans le but de retranscrire sommairement le phénomène de sélection et de saturation par l'introduction d'un seul paramètre. Elle ne prend cependant pas en compte les mécanismes sous-jacents comme le font les modèles présentés dans les sections suivantes.

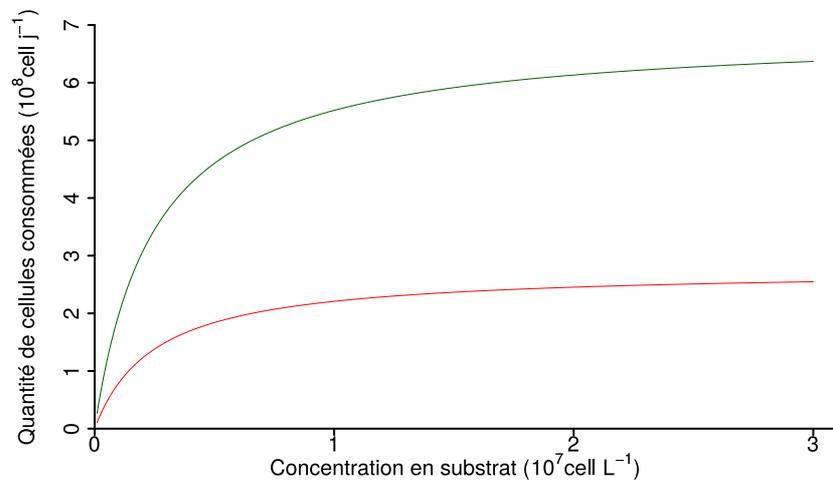


FIG. 23 – Simulation des quantités consommées de cellules de substrat X (en vert) et Y (en rouge) par individu et par jour, dans un système ouvert en fonction des concentrations en substrat intégrant le processus de saturation.

4.3 Synthesizing units : modèle proposé pour *Pecten maximus*

Puisque différentes études ont fait état des besoins (Alunno-Bruscia *et al.*, 2011 ; Bernard *et al.*, 2011) et des bénéfices (Troost *et al.*, 2010 ; Saraiva *et al.*, 2011) de l'ajout d'une seconde source de nourriture pour améliorer la description du processus d'ingestion, Lavaud *et al.* (2014) ont travaillé sur l'intégration du concept des SU (Kooijman, 2010) dans le modèle DEB pour la coquille Saint-Jacques. Dans cette étude, les SU ont permis de prendre en compte, pour simuler la croissance de *P. maximus*, les algues présentes dans le milieu et la matière organique particulaire (MOP ; particules organiques non algales) ainsi que les processus de sélection associés. Les hypothèses et équations sous-jacentes sont décrites dans la section suivante.

4.3.1 Hypothèses et schéma

- Il existe un seul type de SU qui peut se présenter sous 3 états : libre " θ ", lié à S_X " θ_X " et lié à S_Y " θ_Y ".
- Une fraction de SU peut se lier à un substrat (S_X ou S_Y) pour donner une fraction de SU liée à X ou Y respectivement (θ_X et θ_Y). Les taux de liaison aux substrats S_X et S_Y sont différents ($\dot{b}_X > \dot{b}_Y$). Par ailleurs, la probabilité de liaison avec un substrat donné est proportionnelle à la concentration de ce substrat dans le milieu.
- Les temps de manipulation de chacun des substrats par la SU (\dot{k}_X^{-1} , \dot{k}_Y^{-1}) sont indépendants des concentrations en substrat.
- Une fraction de SU liée au substrat Y peut se libérer de ce dernier pour se lier à un substrat X. La probabilité que cet événement arrive est proportionnel à la concentration X et à la fraction de SU liée au substrat Y.

4.3.2 Mise en équation

On raisonne sur la base de fractions de chacun des états de SU de telle sorte que :

$$\theta + \theta_X + \theta_Y = 1 \quad (4.6)$$

Avec :

$$\frac{d}{dt}\theta = \dot{k}_X\theta_X + \dot{k}_Y\theta_Y - (\dot{b}_X X + \dot{b}_Y Y)\theta \quad (4.7a)$$

$$\frac{d}{dt}\theta_X = -\dot{k}_X\theta_X + \dot{b}_X X\theta + \dot{b}_{XY} X\theta_Y \quad (4.7b)$$

$$\frac{d}{dt}\theta_Y = -\dot{k}_Y\theta_Y + \dot{b}_Y Y\theta - \dot{b}_{XY} X\theta_Y \quad (4.7c)$$

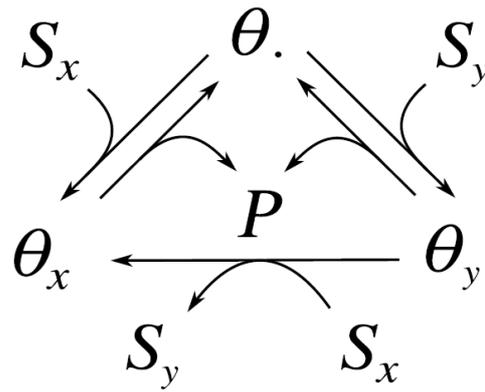


FIG. 24 – Représentation graphique des interactions préférentielles entre les substrats dans le contexte des Synthesizing Units (Kooijman, 2010), permettant la substitution d'un type de substrat à la place d'un autre. S_X est le substrat correspondant aux cellules de microalgues non toxiques et S_Y aux cellules de microalgues toxiques. $\theta.$ représente la fraction de SU libres, alors que θ_X et θ_Y correspondent à la fraction de SU liée respectivement au substrat X et Y. La lettre P signifie le produit relâché après transformation du substrat.

4.3.3 Paramètres

TAB. 4 – Paramètres, symboles et unités présentés dans Lavaud *et al.* (2014) pour le modèle théorique des SU dans un contexte de sélection préférentiel.

Paramètre	Symbole	Unité
Concentration du substrat X dans le milieu	X	L^{-1}
Concentration de substrat Y dans le milieu	Y	L^{-1}
Fraction des SU libres	$\theta.$	sans unité
Fraction des SU liés au substrat X	θ_X	sans unité
Fraction des SU liés au substrat Y	θ_Y	sans unité
Taux de dissociation du substrat X	k_X	j^{-1}
Taux de dissociation du substrat Y	k_Y	j^{-1}
Taux de liaison du substrat X	b_X	$L j^{-1}$
Taux de liaison du substrat Y	b_Y	$L j^{-1}$
Taux de liaison de X depuis Y	b_{XY}	$L j^{-1}$

4.3.4 Analyse dimensionnelle

Dans cette section, le litre (L) est utilisé comme unité de volume, le jour (j) comme unité de temps et le cm^2 comme unité de surface.

L'analyse dimensionnelle de l'équation (4.7a) développées dans Lavaud *et al.* (2014) a été réalisée à partir des paramètres décrits dans le tableau 4.

Grâce à ces unités on vérifie que les termes de gauche et de droite l'équation (4.7a) rappelée ci-dessous ont la même dimension :

$$\frac{d}{dt}\theta \cdot (j^{-1}) = \dot{k}_X\theta_X + \dot{k}_Y\theta_Y - (\dot{b}_X X + \dot{b}_Y Y)\theta.$$

$$\frac{d}{dt}\theta \cdot (j^{-1}) = \left(\frac{-}{j} + \frac{-}{j} - \left(\frac{L}{j} \frac{-}{L} + \frac{L}{j} \frac{-}{L} \right) \right)$$

4.3.5 Dérivation

En remplaçant (4.6) dans (4.7b) on obtient :

$$\frac{d}{dt}\theta_X = -\dot{k}_X\theta_X + \dot{b}_X X(1 - \theta_X - \theta_Y) - \dot{b}_{YX}Y\theta_X + \dot{b}_{XY}X\theta_Y \quad (4.7b)$$

$$\frac{d}{dt}\theta_X = -\dot{k}_X\theta_X + \dot{b}_X X - \dot{b}_X X\theta_X - \dot{b}_X X\theta_Y - \dot{b}_{YX}Y\theta_X + \dot{b}_{XY}X\theta_Y \quad (4.7b)$$

$$\frac{d}{dt}\theta_X = -(\dot{k}_X + \dot{b}_X X + \dot{b}_{YX}Y)\theta_X - (\dot{b}_X X - \dot{b}_{XY}X)\theta_Y + \dot{b}_X X \quad (4.7b)$$

De la forme :

$$\frac{d}{dt}\theta_X = -\alpha_X\theta_X - \beta_X\theta_Y + c$$

$$\text{avec : } \alpha_X = \dot{k}_X + \dot{b}_X X + \dot{b}_{YX}Y$$

$$\beta_X = \dot{b}_X X - \dot{b}_{XY}X$$

$$c = \dot{b}_X X$$

De la même manière en remplaçant (4.6) dans (4.7c), on obtient :

$$\frac{d}{dt}\theta_Y = -\alpha_Y\theta_Y - \beta_Y\theta_X + c$$

$$\text{avec : } \alpha_Y = \dot{k}_Y + \dot{b}_Y Y + \dot{b}_{XY}X$$

$$\beta_Y = \dot{b}_Y Y - \dot{b}_{YX}Y$$

$$c = \dot{b}_Y Y$$

Nous faisons ensuite l'hypothèse que la dynamique des SU est bien plus rapide que le taux de croissance de l'individu, i.e. que la répartition des SU dans les différents états (libres, liée à X, liée à Y) atteint un équilibre avant que le nombre de SU total ne varie pas. On obtient alors l'état de pseudo-équilibre suivant :

$$\theta_X^* = \frac{\alpha_Y \dot{b}_X X - \beta_X \dot{b}_Y Y}{\alpha_X \alpha_Y - \beta_X \beta_Y} \quad (4.8a)$$

$$\theta_Y^* = \frac{\alpha_X \dot{b}_Y Y - \beta_Y \dot{b}_X X}{\alpha_X \alpha_Y - \beta_X \beta_Y} \quad (4.8b)$$

4.3.6 Analyse des proxys pour les deux types de substrat

Dans le modèle DEB standard, le proxy utilisé pour la nourriture correspond à la réponse fonctionnelle f . Dans notre cas, on considère que le proxy pour un type de substrat est égal à la fraction de SU liée à ce même substrat à l'équilibre. Nous avons donc : $f_X = \theta_X^*$ et $f_Y = \theta_Y^*$

Pour les calculer, Lavaud *et al.* (2014) utilisent des équivalences entre les paramètres théoriques (taux de dissociation, taux de liaison et taux de liaison d'un substrat à la place d'un autre) et des paramètres mesurables ou généralement utilisés dans le modèle DEB. Elles sont présentées dans le tableau 5.

Les évolutions de f_X et f_Y en fonction de X et Y sont présentées dans la figure 25 ci après.

Paramètres

TAB. 5 – Équivalence entre les paramètres théoriques utilisés dans la formulation du modèle et les paramètres biologiques correspondants, ainsi que leurs valeurs et unités.

Paramètre	Symbole	Equivalent biologique	Symbole	Valeur	Unité
Concentration du substrat X dans le milieu	X	Concentration algue non-toxique	X	variable	L^{-1}
Concentration de substrat Y dans le milieu	Y	Concentration algue toxique	Y	variable	L^{-1}
Taux de dissociation du substrat X	\dot{k}_X	Taux de nutrition spécifique max du substrat X	$\{\dot{h}_{X Am}\}$	$\approx 6.6 \cdot 10^8$	$d^{-1} \cdot cm^{-2}$
Taux de dissociation du substrat Y	\dot{k}_Y	Taux de nutrition spécifique max du substrat Y	$\{\dot{h}_{Y Am}\}$	$\approx 8.2 \cdot 10^8$	$d^{-1} \cdot cm^{-2}$
Taux de liaison du substrat X	\dot{b}_X	Taux de filtration spécifique max au substrat X	$\{\dot{F}_{Xm}\}$	115	$L \cdot d^{-1} \cdot cm^{-2}$
Taux de liaison du substrat Y	\dot{b}_Y	Taux de filtration spécifique max au substrat Y	$\{\dot{F}_{Ym}\}$	45	$L \cdot d^{-1} \cdot cm^{-2}$
Taux de liaison depuis Y de X	\dot{b}_{XY}		\dot{b}_{XY}	$=\{\dot{F}_{Xm}\}$	$L \cdot d^{-1} \cdot cm^{-2}$
Taux de liaison depuis X de Y	\dot{b}_{YX}		\dot{b}_{YX}	0	$L \cdot d^{-1} \cdot cm^{-2}$
		pois sec d'une cellule de X	M_X	$8.5 \cdot 10^{-11}$	$g_{dw} \cdot cell^{-1}$
		pois sec d'une cellule de Y	M_Y	$9.6 \cdot 10^{-10}$	$g_{dw} \cdot cell^{-1}$
		fraction de réserve par particule X	y_{EX}	0.7	g_{dw} / g_{dw}
		fraction de réserve par particule Y	y_{EY}	0.4	g_{dw} / g_{dw}
		Contenu énergétique d'1 g de réserve	ρ_E	19 600	$J \cdot g_{dw}^{-1}$
		Taux d'assimilation spécifique max	$\{\dot{p}_{am}\}$	768.75	$J \cdot d^{-1} \cdot cm^{-2}$

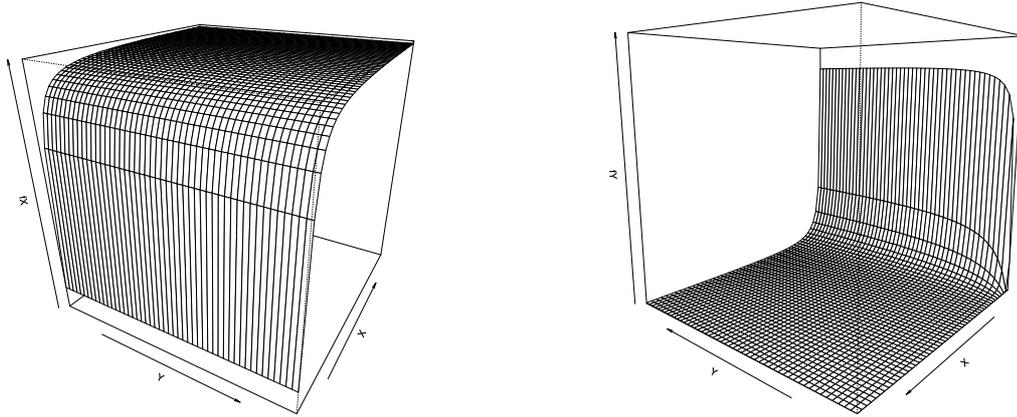


FIG. 25 – Évolution tridimensionnelle du proxy de nourriture pour le substrat X (à gauche) et Y (à droite) en fonction de la concentration en substrats X et Y

Paramètres composés

Le paramètre $\{\dot{h}_{X Am}\}$ et $\{\dot{h}_{Y Am}\}$ peuvent être calculés à partir des équations suivantes :

$$\{\dot{h}_{X Am}\} = \frac{\{\dot{p}_{am}\}}{\rho_E y_{EX} M_X} \quad (4.9a)$$

$$\{\dot{h}_{Y Am}\} = \frac{\{\dot{p}_{am}\}}{\rho_E y_{EY} M_Y} \quad (4.9b)$$

Simulations

Les simulations présentées dans la figure 25 permettent de mettre en évidence une sélection très efficace du substrat X par rapport au substrat Y. Comme attendu, on remarque que le substrat Y ne peut être consommable que lorsque le substrat X est absent ou présent en faible concentration.

4.4 Synthesizing units : modèle simplifié

4.4.1 Hypothèse et objectifs

La version du modèle présenté précédemment met en jeu deux fonctions permettant d'intégrer la préférence d'un type de substrat par rapport à un autre : \dot{b}_X , \dot{b}_Y et \dot{b}_{XY} , \dot{b}_{YX} . Nous pensons que le modèle pourrait fonctionner en prenant en compte seulement des taux de liaisons différents en fonction des substrats \dot{b}_X et \dot{b}_Y . Ceci permettrait de s'affranchir des paramètres \dot{b}_{XY} , \dot{b}_{YX} qui permettent le remplacement du substrat non-désiré par celui préféré.

Sachant que des résultats expérimentaux ont mis en évidence un taux de filtration plus grand avec des algues non-toxiques qu'avec des algues toxiques (soit un taux de liaison $\dot{b}_X > \dot{b}_Y$) nous proposons de reformuler le modèle en ne faisant porter la fonction de préférence d'un substrat par rapport à l'autre par ce seul paramètre.

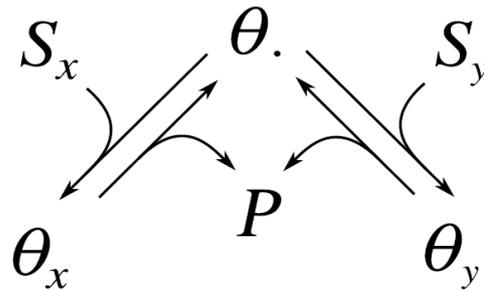


FIG. 26 – Représentation graphique des interactions préférentielles entre les substrats dans le contexte des Synthesizing Units (Kooijman, 2010), ne permettant pas la substitution d'un substrat par un autre. S_X est le substrat correspondant aux cellules de microalgues non toxiques et S_Y aux cellules de microalgues toxiques. θ représente la fraction de SU libres, alors que θ_X et θ_Y correspondent à la fraction de SU liée respectivement au substrat X et Y. La lettre P signifie le produit relâché après transformation du substrat.

4.4.2 Mise en équation

$$\theta + \theta_X + \theta_Y = 1 \quad (4.6)$$

$$\frac{d}{dt}\theta = k_X\theta_X + k_Y\theta_Y - (\dot{b}_X X + \dot{b}_Y Y)\theta \quad (4.10a)$$

$$\frac{d}{dt}\theta_X = -k_X\theta_X + \dot{b}_X X\theta \quad (4.10b)$$

$$\frac{d}{dt}\theta_Y = -k_Y\theta_Y + \dot{b}_Y Y\theta \quad (4.10c)$$

On a donc :

$$\frac{d}{dt}\theta_X = -\dot{k}_X\theta_X - \dot{b}_X X\theta_X - \dot{b}_X X\theta_Y + \dot{b}_X X \quad (4.10b)$$

$$\frac{d}{dt}\theta_X = -(\dot{k}_X + \dot{b}_X X)\theta_X - (\dot{b}_X X)\theta_Y + \dot{b}_X X \quad (4.10b)$$

De la forme : $\frac{d}{dt}\theta_X = -\alpha_X\theta_X - \beta_X\theta_Y + c$

Avec : $\alpha_X = \dot{k}_X + \dot{b}_X X$

$$\beta_X = \dot{b}_X X$$

$$c = \dot{b}_X X$$

On a alors à l'état de pseudo-équilibre :

$$\theta_X^* = f_X = \frac{\alpha_Y \dot{b}_X X - \beta_X \dot{b}_Y Y}{\alpha_X \alpha_Y - \beta_X \beta_Y} \quad (4.11a)$$

$$\theta_Y^* = f_Y = \frac{\alpha_X \dot{b}_Y Y - \beta_Y \dot{b}_X X}{\alpha_X \alpha_Y - \beta_X \beta_Y} \quad (4.11b)$$

4.4.3 Simulations

À partir des équations (4.8a) et (4.8b) ainsi que les équivalences paramètres théoriques/biologiques (tableau 5), les proxys de nourriture pour les substrats X et Y ont été calculés et représentés (Fig. 27). Dans le cas de ce modèle on remarque que la sélection est beaucoup moins efficace qu'avec le modèle originel de Lavaud *et al.* (2014). On remarque même que f_Y est plus élevé que f_X dans la plupart des configurations (sauf quand Y tend vers 0). Cette observation est en fait la résultante de poids sec de cellules différents. Dans notre cas, nous travaillons avec *A. minutum*, une algue plus grosse (et donc plus lourde) que les algues non toxiques généralement présentes dans le milieu naturel ou utilisées en laboratoire. Si l'on utilise des algues de taille différente, on retombe sur une réponse plus similaire, mais moins tranchée, que celle observée avec le modèle de Lavaud *et al.* (2014) originel.

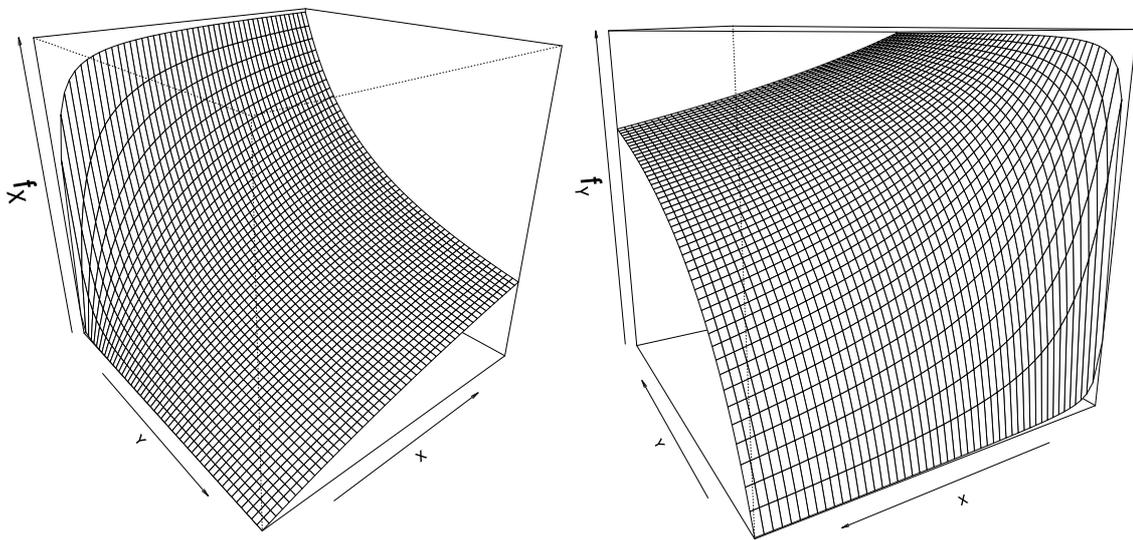


FIG. 27 – Évolution tridimensionnelle du proxy de nourriture pour le substrat X (à gauche) et Y (à droite) en fonction de la concentration en substrats X et Y, à partir du modèle simplifié de Lavaud *et al.* (2014)

4.5 Comparaison des taux de consommation

4.5.1 Équations

Les quantités de substrat X et Y consommées par heure pour le modèle naïf peuvent être évaluées à partir de la formule (4.5) rappelée ci-dessous :

$$\dot{I}_X = q_X X V^{2/3} \{\dot{F}_{max}\} \left(1 - \frac{X + Y}{X + Y + X_k} \right) \quad (4.5)$$

Pour les deux modèles de SU basés sur Lavaud *et al.* (2014), ce taux de consommation individuel (\dot{K}_X) peut être calculé à partir du taux d'ingestion \dot{p}_X en $J d^{-1}$:

$$\dot{p}_X = \{\dot{p}_{Xm}\} f_X V^{2/3}$$

On convertit \dot{p}_X en divisant par M_X (poids sec d'une cellule; $g_{dw} cell^{-1}$) et ρ_E (la densité d'énergie; $J g_{dw}^{-1}$) pour avoir des $\#_{cell} d^{-1}$. On a donc la quantité de cellules ingérées par heure égale à :

$$\dot{I}_X = \frac{\{\dot{p}_{Xm}\} f_X V^{2/3}}{M_X \rho_E} \quad (4.12)$$

avec f_X calculé grâce à la formule (4.8a) (p. 87) pour le modèle initial de Lavaud *et al.* (2014), ou la formule (4.11a) (p. 90) pour le modèle simplifié de Lavaud *et al.* (2014) sans remplacement des substrats.

4.5.2 Simulations

En premier lieu, nous avons comparé le taux de consommation par substrat lorsque leurs concentrations étaient égales dans le milieu. Pour calibrer le seuil de saturation X_k du modèle naïf, nous avons tracé la somme des cellules des substrats X et Y consommée par jour (fig. 28). La valeur de X_k a été fixée pour que la somme totale de particules X et Y consommée soit du même ordre de grandeur que celle obtenue avec les deux autres modèles. Ensuite, nous avons comparé les taux de consommation simulés pour chaque substrat par chacun des modèles (fig. 29). Comme observé précédemment, on peut remarquer que le modèle de Lavaud *et al.* (2014) met en jeu une sélection très efficace et il n'y a quasiment que le substrat X qui est consommé. Ce substrat étant plus léger, on retrouve un nombre important de particule pouvant être ingérées en une journée avec ce modèle. En revanche, le modèle naïf ainsi que le modèle de Lavaud *et al.* (2014) modifié présentent une saturation rapide et un ratio entre les deux substrats consommés assez similaire.

Dans un second temps nous avons tracé les quantités ingérées de cellules de substrat X et Y en fonction de leur concentration dans le milieu. Dans ce cas X et Y varient indépendamment l'un de l'autre (fig. 30).

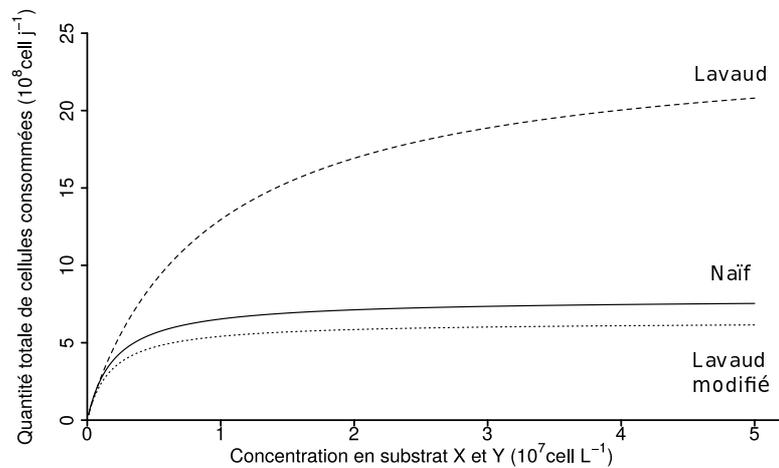


FIG. 28 – Quantité sommée des cellules de substrat X et Y consommées par heure en fonction de leur concentration. La ligne pleine a été obtenue avec le modèle naïf, celle en tirets avec le modèle de Lavaud *et al.* (2014) et celle en pointillés à partir du modèle de Lavaud *et al.* (2014) modifié. Pour ce graphique X est toujours égal à Y

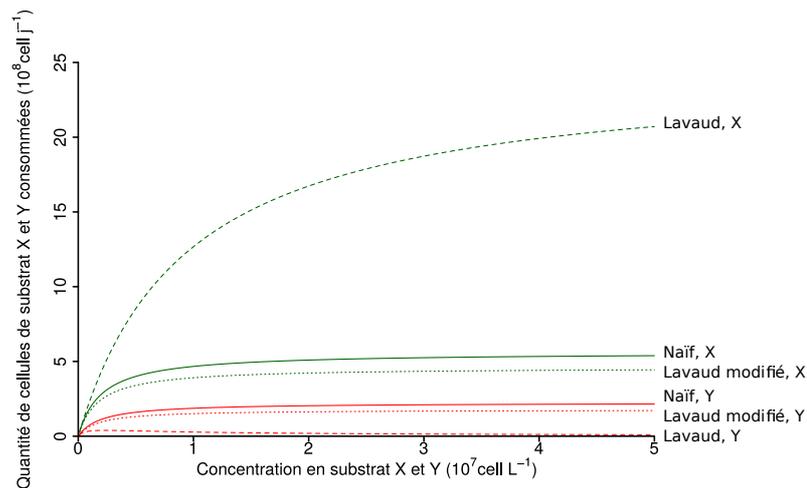


FIG. 29 – Quantité de cellules de substrat X (en vert) et Y (en rouge) consommées par heure en fonction de leur concentration. La ligne pleine a été obtenue avec le modèle naïf, celle en tirets avec le modèle de Lavaud *et al.* (2014) et celle en pointillés à partir du modèle de Lavaud *et al.* (2014) modifié. Pour ce graphique X est toujours égal à Y

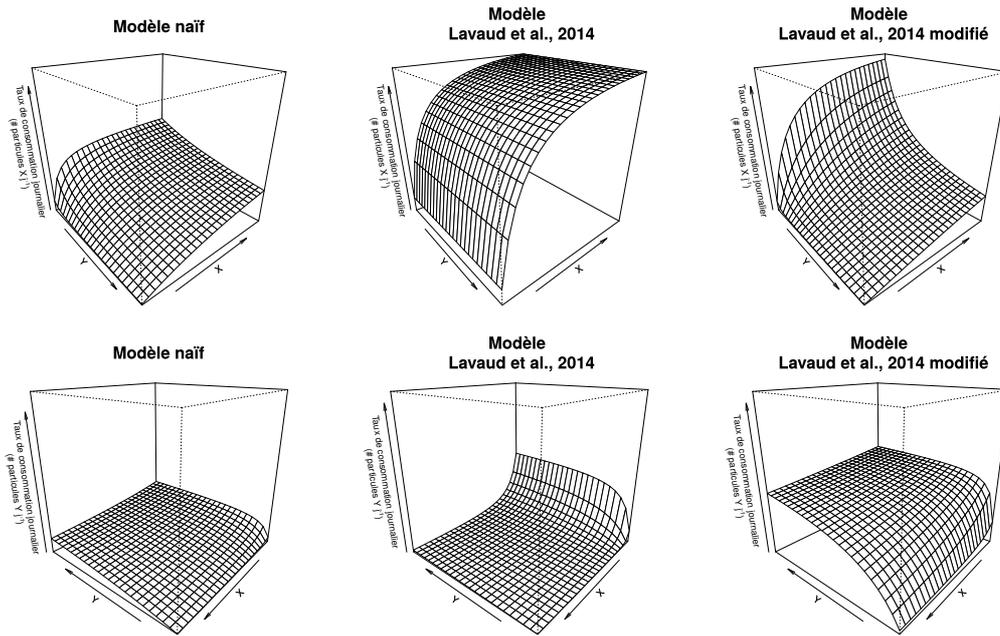


FIG. 30 – Quantité de cellules de substrat X et Y consommées par jour en fonction de leur concentration pour les trois modèles étudiés. Les trois graphiques du haut décrivent le taux de consommation du substrat X et ceux du bas celui du substrat Y. Les taux de consommation journaliers varient sur chacun des graphiques de 0 à 2×10^{10} cellules j^{-1} , X et Y varient de 10^6 à 10^8 cell L^{-1} .

TAB. 6 – Paramètres utilisés pour la comparaison tridimensionnelle des quantités de cellules ingérées (Fig. 30).

Modèle Naïf			Modèle Lavaud <i>et al.</i> (2014)	Modèle Lavaud <i>et al.</i> (2014) modifié
$\{\dot{F}_{max}\}$	70	$\{F_{Xm}\}$	70	70
Xk	4000000	$\{F_{Ym}\}$	27	27
q_X	1	i_{XY}	$=\{F_{Xm}\}$	-
q_Y	0.4	b_{YX}	0	-
		M_X	$8.5 \cdot 10^{-11}$	$8.5 \cdot 10^{-11}$
		M_Y	$9.6 \cdot 10^{-10}$	$9.6 \cdot 10^{-10}$
		y_{EX}	0.7	0.7
		y_{EY}	0.7	0.7
		ρ_E	19 600	19 600
		$\{\dot{V}_{Xm}\}$	1025	1025
Paramètres en commun				
Concentration du substrats X et Y dans le milieu			de 10^6 à 10^8	
Volume de l'individu			8	

Synthèse

Nous avons décrit et comparé dans ce chapitre trois façons différentes de prendre en compte la sélection de deux types de ressources trophiques, en l'occurrence des algues toxiques et non-toxiques chez un bivalve. Le premier modèle, le modèle naïf nous a permis d'établir clairement les hypothèses et contraintes auxquelles nous devons répondre. Ainsi, nous avons pu intégrer dans ce modèle différentes probabilités de liaison et un ajustement de la consommation en fonction de la saturation du milieu en algues. Ensuite, nous avons repris le concept de SU utilisé et décrit par Lavaud *et al.* (2014) en prenant soin de détailler les équations et le cheminement dont il retourne. L'intérêt de ce modèle est qu'il décrit les mécanismes de sélection. D'autre part il met en jeu des paramètres biologiques comme le taux de filtration spécifique aux substrats X et Y mesurés dans le cadre de ces travaux de thèse (voir chapitre 2). Il prend également en compte le poids des cellules, un paramètre important dans notre cas puisque l'algue toxique considérée (*A. minutum*) est de taille plus importante que la plupart des algues consommées dans le milieu naturel. L'étude de ce modèle a mis en lumière une relation importante : le substrat Y ne peut être consommé seulement lorsque le substrat X est présent en très faible quantité. Dans le cas de notre problématique, ce concept est plutôt intéressant car lors d'un bloom d'algue toxique dans le milieu naturel, l'espèce d'algue en question est majoritaire voire exclusive dans la colonne d'eau. Il permet aussi d'expliquer, comme nous le souhaitions, pourquoi lors d'une exposition à des algues toxiques en présence ou non d'algues non-toxiques, l'accumulation était sensiblement différente. Ce modèle permet donc d'intégrer des faits biologiques majeurs relevés dans la littérature et lors de nos expérimentations. Cependant, ce modèle intègre un grand nombre de paramètres (5), nous avons donc exploré la possibilité de s'affranchir de l'hypothèse de remplacement d'un substrat par un autre (\dot{b}_{XY} et \dot{b}_{YX}). Nous avons donc développé un troisième modèle sans ce module de remplacement. Le résultat obtenu n'est pas à la hauteur de nos attentes. Comme on peut l'observer dans la figure 30, le taux de consommation du substrat non préféré (Y) dépend principalement de sa concentration et est peu sensible à l'évolution de la concentration du substrat préféré (X). De plus, le taux de consommation du substrat Y se stabilise à un niveau assez élevé comparé au taux de consommation avec le substrat X, ce qui va à l'encontre de la préférence définie initialement. Comme discuté précédemment, ce résultat provient de l'utilisation d'algues de poids différents ($M_Y > M_X$), et ce modèle s'avère sensible aux masses spécifiques des substrats utilisés.

Ainsi, en raison du tri pré-ingestif opéré chez l'huître creuse, la quantité de toxines accumulées ne peut pas être calculée à partir de la réponse fonctionnelle et du taux de consommation utilisés classiquement dans le modèle DEB. À la lumière de l'étude comparative effectuée dans ce chapitre, il nous paraît judicieux de traiter la sélection alimentaire en se basant sur le concept des SU tel qu'utilisé et décrit par Lavaud *et al.* (2014). Dans le chapitre qui suit, ce module va être

utilisé pour décrire le flux d'ingestion de la micro-algue toxique *A. minutum* et ainsi modéliser le flux d'entrée des toxines dans la chair de *C. gigas*. Un modèle couplé à un autre modèle de bioénergétique type DEB, permettant d'exprimer la cinétique de bioaccumulation (intoxication et détoxication) va ainsi être formulé. Ses paramètres vont être calibrés sur les données obtenues dans l'expérience décrite dans les chapitres 1 et 2 ainsi qu'une seconde expérimentation où des huîtres seront exposées à un mélange de micro-algues non-toxiques et toxiques puis validés sur des jeux de données acquis en laboratoire et sur le terrain.

Chapitre 5

Accumulation des PST par *C. gigas* : modèle basé sur la théorie DEB

Paralytic shellfish toxin accumulation in *Crassostrea gigas*: modeling through Dynamic Energy Budget (DEB) theory

In preparation for Journal of Sea Research

Emilien POUSSE, Jonathan FLYE-SAINTE-MARIE, Marianne ALUNNO-BRUSCIA, Hélène HÉGARET, Éric RANNOU, Yoann THOMAS, Laure PECQUERIE, Gonçalo MARQUES, Justine CASTREC, Caroline FABIoux, Marc LONG, Malwenn LASSUDRIE, Ludovic HERMABESSIÈRE, Zouher AMZIL, Annie CHAPELLE, Philippe SOUDANT, Fred JEAN

Abstract

Crassostrea gigas, as many filter-feeder bivalves, can concentrate important loads of paralytic shellfish toxins (PST) by consuming toxic phytoplankton species. The toxin intake, occurring mainly through feeding, depends on individual biological processes operated by the oyster, such as clearance rate, pre-ingestive sorting or ingestion driven by environmental conditions (trophic sources, temperature). This study aimed to develop a mechanistic model coupling the kinetics of PST accumulation and a bioenergetic model based on the DEB theory in *C. gigas*. Implementing the trophic sources by using the synthesizing units (SU) allowed to take into account the food preference between non-toxic and toxic algae. Toxin intake and concentration were dependent on oyster energetic state simulated through the DEB model. The accumulation model was separated into two toxin compartments: (1) a compartment of ingested but not assimilated toxins, with toxin labile in the digestive gland eliminated via faeces; (2) a compartment of assimilated toxins, with a slower detoxification rate (within a few days). The model was calibrated using data from a dedicated experiment that included four different conditions. It was further validated based on datasets from a laboratory experiment and from three field surveys carried out in the bay of Brest (France) from 2012 to 2014. To account for the variability in PST content of *A. minutum*, a parameter (ρ_{PST}) was adjusted for each dataset. Additionally, associated effects of PST on the oyster bioenergetics were calibrated during the first laboratory experiment. However, these effects seem to depend on the *A. minutum* strain or on any prior exposure of oysters to PST.

Keywords:

Alexandrium minutum; Paralytic shellfish poisoning ; Accumulation ; DEB ; Modeling ; Pacific oyster.

5.1 Introduction

Harmful algal blooms (HAB) can threaten for the functioning of marine ecosystems. When proliferating, phytoplankton species cause damages to other marine organisms by modifying the environment (i.e. eutrophication, foams production, depletion of oxygen, destruction of habitats) or by synthesizing toxins that can be accumulated in the trophic web (Anderson et al., 2002). Dinoflagellate belonging to the genus *Alexandrium* are responsible for most paralytic shellfish poisoning (PSP) events. In 1994, the first human cases of PSP due to a bloom of an *Alexandrium* sp. were reported in the Mediterranean sea (Honsell et al., 1996). The species responsible for this poisoning event was *Alexandrium minutum*, which has been increasingly incriminated for other events worldwide (Anderson, 1989; Cembella, 1998; Hallegraeff, 1993). This species synthesizes paralytic shellfish biotoxins, the saxitoxin (STX) and its derivatives, that can be bioaccumulated throughout the food chain via feeding. Filter-feeders, as primary consumers are the first levels of the food chain bioaccumulating these toxins. At high concentrations they can have deleterious effects on immune response and homeostasis of bivalves, cause myoatrophies, alterations of the digestive glands or tissues degradations (Haberkorn et al., 2010b;a; Hégaret et al., 2012). However, filter-feeders are able to accumulate high loads of these toxins, which make them toxic for secondary consumers (Shumway, 1990). The accumulation of toxins in bivalves that are consumed by humans can be hazardous to the human health since it provokes tingling, numbness, paralysis and sometimes death by respiratory arrest for the worst cases. In many affected countries, monitoring programs and legislation have been established in order to limit human intoxication risks (Visciano et al., 2016). Such measures imply commercialization restrictions when the threshold of $80 \mu\text{g STX } 100\text{g}^{-1}$ of shellfish tissues is exceeded, inducing economical losses.

Predicting PST accumulation and detoxification in bivalves would be useful for shellfish farmers and monitoring agencies as it would allow them to identify risky conditions (i.e. areas, temperature, period) or to improve the detoxification step (e.g. duration, modalities). Different models have been proposed to describe these kinetics of accumulation and detoxification by modeling ingestion processes or toxin biotransformation (e.g. Yamamoto et al., 2003; Lassus et al., 2004; 2007; Guéguen et al., 2011). Toxin accumulation mainly depends on oyster feeding that is linked to seawater temperature and *C. gigas* biological stage, making it worthwhile coupling a bioaccumulation model to an individual based model (IBM). The latter allows to predict the physiological status in oysters that may affect the accumulation of toxins through environmental forcings. Conversely, PST being known to affect bivalve bioenergetics (Li et al., 2002; Haberkorn et al., 2010a;b), the bioaccumulation model will predict the accumulated concentration of these toxins, affecting in turn, individual condition. These two models would thus benefit from reciprocal feed-

backs. The aim of this study was thus to couple these two models in order to predict PST accumulation in bivalves by developing a bioenergetic model based on the dynamic energy budget (DEB) theory.

Bioenergetic model based on DEB theory allows to quantify the energy flows within an individual (Kooijman, 1993; 2010) from ingestion and assimilation to allocation to maintenance, growth and reproduction and have been widely applied to bivalves. Previous works based on this theory successfully allowed to model bioaccumulation and detoxification of contaminants (PCB) in hake and sole (Bodiguel et al., 2009b; Eichinger et al., 2010) by coupling accumulation and detoxification processes to energy flows. However, these studies did not take into account the direct effects of contaminants on organisms.

Given its commercial value and its worldwide distribution, several studies have investigated the effects of PST-producing algae on the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Furthermore, DEB based models have already been extensively developed for this species *C. gigas* (Ren and Ross, 2001; Pouvreau et al., 2006; Rosland et al., 2009; Alunno-Bruscia et al., 2011; Bernard et al., 2011; Thomas et al., 2016; Gourault et al., in prep.). The potential of adapting this individual based model to the issues of toxin accumulation and detoxification in oysters thus seemed very tempting as it integrates important forcing variables (temperature, trophic sources) and individual oyster conditions (growth, maturation), all essential factors to account for the accumulation of paralytic shellfish toxins. Based on individual physiological conditions arising from a DEB-model, the aim of this work was to describe accumulation/detoxification PST kinetics in *C. gigas* and to integrate the effects of these toxins in the oyster bioenergetics.

We first calibrated a DEB model describing PST accumulation on data acquired through dedicated laboratory experimentations involving growth, multi-levels of toxin exposure and detoxification processes. The model was validated during another laboratory experiment and within field data issued from three summers of monitoring conducted in the bay of Brest (Brittany, France).

5.2 Material and methods

5.2.1 Model formalization

Standard DEB model The version of the oyster DEB model we used in our study has been extensively explained by Bernard et al. (2011) and recently modified by Thomas et al. (2016). Briefly, this model describes the dynamics of structural volume (V), energy reserves (E) and energy stored for reproduction (E_R) as a function of temperature and trophic resource. The energy from food is directly stored in reserves. The "kappa-rule" states that a fixed fraction (κ) of the energy mobilized from reserve (\dot{p}_C) is allocated to structural maintenance (\dot{p}_M , priority) and

structural growth (\dot{p}_G). The fraction $(1-\kappa)$ of \dot{p}_C fuels in priority towards the maturity maintenance (\dot{p}_J) and the maturation in embryos and juveniles or the reproduction in adults (\dot{p}_R). To better describe the fate of the energy allocated to reproduction, Bernard et al. (2011) introduced a fourth state variable: E_{GO} , the energy content of gametes. This compartment is fuelled by the energy flux \dot{p}_{GO} standing for gonad allocation. When energy flux from reserves is not sufficient to pay maintenance costs, the energy is obtained from gonad resorption (\dot{p}_{L2}) or lysis of the structure (\dot{p}_{L1}). Most of the parameters used in this study are from Bernard et al. (2011, see Table 7).

Toxin intake *Alexandrium minutum* produces paralytic shellfish toxins (PST) that are saxitoxins and its derivatives. To a lesser extent, PST can be released in the ambient water (Lefebvre et al., 2008), but they are mainly intracellular and the main accumulation pathway within the food chain occurs via ingestion by algae consumers.

As any bivalves, oysters are able to sort the particles they ingest (Ward and Shumway, 2004), which can occur when oysters are exposed to an algae mix containing both toxic and non-toxic algae (Mafra et al., 2009). Particle selection may not however be function of the internal toxicity of phytoplankton (Li and Wang, 2001), but rather associated to their size and/or nutritive quality (Ward et al., 1998; Mafra et al., 2009; Espinosa et al., 2016). Because of their large size and their carbohydrate signature, dinoflagellate species of the *Alexandrium* genus may not be considered as a food source of choice for oysters (Espinosa et al., 2016). To develop our model, and assess specifically the quantity of toxic algae consumed by an individual oysters, trophic sources (toxic versus non-toxic algae) were distinguished. The synthesizing units concept (SUs Kooijman, 1998) has already been used to account for the trophic preference in bivalves (Kooijman, 1998; 2006; 2010; Saraiva et al., 2011; Lavaud et al., 2014). In a figurative way, SUs can be considered as enzymes that can transform a flux of substrate into a product flux, i.e. in our case algal particles in reserves. As an enzyme, SUs follow the classic rules of enzyme kinetics. Preference on non-toxic vs toxic algae (respectively denoted X and Y) was based on Lavaud et al. (2014) formulation, which allowed to consider *Pecten maximus* preference on two type of particles. For this purpose the SU scheme was based on substitutable substrates that bind in a sequential way. A SU binds to a substrate (either X or Y) with a maximum binding rate $\{\dot{F}_m\}$ and unbinds with a maximum dissociation rate $\{\dot{h}_{Am}\}$. When a non-toxic algae (X) arrives while the SU is binded to a toxic algae (Y), the SU can unbind from Y to bind with X . The rate at which SU binds from toxic algae to non-toxic algae is denoted \dot{b}_{XY} . Theoretically, the reverse (binding from non-toxic algae to toxic algae, \dot{b}_{YX}) is also possible, but in our case \dot{b}_{YX} was considered to be zero due to the high preference of *C. gigas* for non-toxic algae (Pousse et al., in rev.). According

to Lavaud et al. (2014), the functional responses for toxic (f_Y) and non-toxic (f_X) substrates are written as follows:

$$f_X = \frac{\alpha_Y \{\dot{F}_{Xm}\} X - \beta_X \{\dot{F}_{Ym}\} Y}{\alpha_X \alpha_Y - \beta_X \beta_Y}$$

$$f_Y = \frac{\alpha_X \{\dot{F}_{Ym}\} Y - \beta_Y \{\dot{F}_{Xm}\} X}{\alpha_X \alpha_Y - \beta_X \beta_Y}$$

With:

$$\alpha_X = \{\dot{h}_{XAm}\} + \{\dot{F}_{Xm}\} X + \dot{b}_{YX} Y; \quad \alpha_Y = \{\dot{h}_{YAm}\} + \{\dot{F}_{Ym}\} Y + \dot{b}_{XY} X$$

$$\beta_X = \{\dot{F}_{Xm}\} X - \dot{b}_{XY} X; \quad \beta_Y = \{\dot{F}_{Ym}\} Y - \dot{b}_{YX} Y$$

Where $\{\dot{F}_{Xm}\}$ and $\{\dot{F}_{Ym}\}$ are respectively the binding rates ($L d^{-1} cm^{-2}$) on non-toxic and on toxic algae, $\{\dot{h}_{XAm}\}$ and $\{\dot{h}_{YAm}\}$ the dissociation rates ($\# d^{-1} cm^{-2}$) of non-toxic and toxic algae, \dot{b}_{XY} and \dot{b}_{YX} the binding rates ($L d^{-1} cm^{-2}$) of non-toxic algae from toxic algae and from toxic algae to non-toxic algae. Binding rates are considered to be equivalent to the surface specific clearance rate. The dissociation rates can be calculated according to Lavaud et al. (2014):

$$\{\dot{h}_{XAm}\} = \frac{\{\dot{p}_{Xm}\} \kappa_{XX}}{\rho_E y_{EX} M_X}$$

$$\{\dot{h}_{YAm}\} = \frac{\{\dot{p}_{Xm}\} \kappa_{XY}}{\rho_E y_{EY} M_Y}$$

With $\{\dot{p}_{Xm}\}$ the oyster maximum surface specific ingestion rate ($J d^{-1} cm^{-2}$), κ_X the assimilation efficiency, ρ_E the energy content of reserves ($J g_{dw}^{-1}$), y_E the yield of reserve of algae ($g_{dw} g_{dw}^{-1}$).

Ingestion rate \dot{p}_X ($J d^{-1}$) is equal to the sum of the ingestion of non-toxic and toxic algae and depends on the oyster structural surface-area ($V^{2/3}$ Kooijman, 2010). It can be written as:

$$\dot{p}_X = \{\dot{p}_{Xm}\} f_X V^{2/3} + \{\dot{p}_{Xm}\} f_Y V^{2/3}$$

The flux of ingested toxins ($\dot{p}_{X_{PST}}$, $\mu g STX d^{-1}$), that is proportional to toxic algae ingestion rate, can be described according to:

$$\dot{p}_{X_{PST}} = \{\dot{p}_{Xm}\} f_Y V^{2/3} \rho_{PST}$$

With ρ_{PST} the PST amount per energy unit in toxic algae ($\mu g STX J^{-1}$). This value is expected to vary with cellular toxicity which is known to depend on algal strain and/or growth conditions (Chou et al., 2004; Leong et al., 2004; Touzet et al., 2007).

Unassimilated toxins compartment Once the ingested, particles enter into the digestive glands, they are either assimilated, or transported to the gut before being

egested. The toxin content in the digestive tract represents an important proportion of the total bivalve toxin content (Bricelj et al., 1990; Kwong et al., 2006a; Lassus et al., 2007). We thus modeled the fast dynamics of the digestive tract. Dynamics of unassimilated toxins PST_U can be written as:

$$\frac{dPST_U}{dt} = \dot{p}_{X_{PST}} - \dot{p}_{A_{PST}} - \dot{p}_{E_{PST}}$$

where $\dot{p}_{X_{PST}}$, $\dot{p}_{A_{PST}}$ and $\dot{p}_{E_{PST}}$ are respectively the ingestion, assimilation and egestion rates of toxins. For a parsimony purpose, the digestive tract was considered as a simple plug-flow system in which assimilation occurs immediately after ingestion and at a constant efficiency ($\kappa_{X_{PST}}$). Because the toxin digestion (and related physiological processes) is different from processes associated with good food (e.g. involvement of an immune response), we considered this value to be different from the assimilation efficiency κ_X . The toxin assimilation rate was thus written as:

$$\dot{p}_{A_{PST}} = \dot{p}_{X_{PST}} \kappa_{X_{PST}}$$

According to Kooijman (2010), the gut transit time (t_g) was considered as proportional to structural length ($V^{1/3}$). The toxin egestion rate at time ($t+t_g$) equalled the toxin ingestion rate at time (t) minus toxin assimilation rate, thus:

$$\dot{p}_{E_{PST}} = \dot{p}_{X_{PST}[t-t_g]} - \dot{p}_{A_{PST}[t-t_g]}$$

Assimilated toxins compartment In their accumulation models, Bodiguel et al. (2009b) and Eichinger et al. (2010) considered the PCB contaminants to be mainly bounded to the reserve compartment (composed of high proportion of lipids in fish) due to lipophilic properties. In our study, the assimilated PST can be found in different hydrophilic and hydrophobic forms (Vale, 2008) that do not bind to any specific compartment of the standard DEB model (E , E_R or V). Thus $\dot{p}_{A_{PST}}$ was considered to fuel the assimilated toxins compartment (PST_A) that stands for the whole toxins that are assimilated in the oyster tissues.

Detoxification is considered to occur through biotransformation (reduction, hydrolysis, epimerization or conversion) in other toxic forms (Cembella et al., 1994; Oshima, 1995a; Kwong et al., 2006a; Fabioux et al., 2015) and elimination through excretion (Navarro and Contreras, 2010). Toxin elimination generally follows a first-order kinetic model (Hurst and Gilfillan, 1977; Bricelj et al., 1991; Silvert and Cembella, 1995; Blanco et al., 1997; Bricelj and Shumway, 1998; Chen and Chou, 2001; Guéguen et al., 2008a; 2011), considered to be proportional to the accumulated toxin content:

$$\dot{p}_{elim_{PST}} = \dot{k}_{elim} PST_A$$

With the elimination constant k_{elim} (in d^{-1}). Dynamics of the assimilated toxins thus equal to:

$$PST_A = \dot{p}_{APST} - \dot{p}_{elim_{PST}}$$

Total toxin concentration The total toxin concentration ($[PST]_{oyst}$, $\mu g\ STX\ 100g^{-1}$) was calculated as:

$$[PST]_{oyst} = \frac{PST_{NA} + PST_A}{WFM} \times 100$$

with PST_A and PST_U the content of the two toxin compartments, and WFM the total wet flesh mass of the oyster simulated by the DEB model according to:

$$WFM = \left(\frac{E + E_R}{\rho_E} + V d_v + \frac{E_{GO}}{\rho_{GO}} \right) \frac{1}{(1 - d_{wat})}$$

with the energy contents of reserves ρ_E ($J\ g_{dw}^{-1}$), and of gonad ρ_{GO} ($J\ g_{dw}^{-1}$), the structural density d_v ($g_{dw}\ cm^{-3}$) and the oyster water content (d_{wat}).

Thus, the total wet flesh mass simulated by the DEB model over time affects the toxin content in three ways: (1) the toxin ingestion and egestion rates increase with the structural size; (2) the PST concentration decreases while the flesh mass increases (dilution by growth); (3) Based on the observation that gametes contain less than 3 % of the total toxin content of the organism (Hégaret et al., unpublished data), we assumed that the spawning is not associated to a toxin release, but results in an increase of the total toxin concentration in oysters.

PST effects The effects of PST on *C. gigas* are widely described in the literature. They mainly consist in alterations of tissues (myopathies; Haberkorn et al., 2010b; Hégaret et al., 2012), in the induction of an immune response (overproduction and mobilization of hemocytes Haberkorn et al., 2010a) and in detoxification processes (activation of detoxification pathways Rolland et al., 2014; Fabioux et al., 2015) or the prevention of cellular damages (hemocytes diapycnosis, overproduction of mucus on gills, Haberkorn et al., 2010a; antioxydant metabolism Rolland et al., 2014). Li et al. (2002) suggested an alteration of the energy budget and of the growth of two bivalve species following *Alexandrium* exposure. In order to model the effect of the presence of toxin on the energy budget, we assumed that the presence of PST increased maintenance costs (energy needed to maintain homeostasis; Kooijman, 2010). Because hemocytes have been observed to encapsulate *A. minutum* cells in the digestive gland (Hégaret et al., 2009a; 2011; Haberkorn et al., 2010b), unassimilated toxins compartment was assumed to contribute to this increase. These effects have been modeled according to the DEB-tox rules as described in Kooijman and Bedaux (1996) and Jager et al. (2014): a toxicant stress parameter (C_k) allows to linearly scale the impact of PST as a function of the total concentration of

the accumulated PST. However, this increase in the maintenance costs exclusively happens when the non-effect concentration (NEC) is exceeded (Jager and Zimmer, 2012). The equation of the volume specific maintenance cost ($[\dot{p}_M]$; $J.cm^{-2}.d^{-1}$) can be written as:

$$[\dot{p}_M] = [\dot{p}_{M_0}] + [\dot{p}_{M_0}] \frac{1}{C_k} \max(0, [PST]_{oyst} - NEC)$$

with $[\dot{p}_{M_0}]$, the basal volume specific maintenance cost (i.e. without any toxicants, $J.cm^{-3}.d^{-1}$).

5.2.2 Experimental datasets

The DEB-PST model parameters were calibrated by using a dedicated long term experiment.

Oysters Three-months old spat oysters (N=1440) from a cohort of specific-pathogen free animals reared under standardized procedures (Petton et al., 2013; 2015) at the Ifremer experimental facilities of Argenton (Brittany, France) were used for a long term experiment. Initial average shell length was 28.2 mm (\pm SD 4.4); wet mass 2.3 g (\pm SD 0.9); wet flesh mass 0.37 g (\pm SD 0.20) and dry flesh mass 0.06 g (\pm SD 0.03). Individuals had never been exposed to any toxic-algae before the experiment and were fed on *Tisochrysis lutea* and *Chaetoceros muelleri* during their previous life stages.

Toxic algae The *Alexandrium minutum* strain Daoulas 1257 (RCC4876) isolated in the bay of Brest was used. It was cultured at 21°C in 300-L cylinders of filtered seawater enriched with L1 medium (Guillard and Hargraves, 1993) under continuous light. PST profile was quantified by HPLC-FLD at Ifremer "Laboratoire des phycotoxines" (PHYC) in Nantes, according to the method described in Oshima (1995a) with adaptations described in Guéguen et al. (2011). PST concentration was 52.8 fg STX equivalent cell⁻¹ was found. This strain was chosen since a previous experiment (Castrec et al, in prep.) highlighted that it produced only a few quantity of extracellular compounds responsible for allelopathic/cytotoxic effects, thus allowing to target only the impact of PST.

Experimental design During the whole experiment, seawater and ambient air were maintained at 21°C. Oysters were randomly subdivided in 12 groups of 120 individuals, (representing a total biomass of approx. 300 g per tank). The 12 batches were randomly distributed into 3 replicates; each triplicates was attributed to one of the following experimental conditions:

- Condition 1: 8-weeks starvation. For this condition, 3 replicated tanks were supplied continuously with 2- μ m filtered seawater during the whole

Tab. 7 – Set of parameters of the DEB-PST model for *C. gigas*. Symbols, values, units and source of each parameter are given.

Description	Symbol	Value	Unit	References
Biological parameters				
Shape coefficient	δ_M	0.175	–	van der Veer et al. (2006)
Physical length at puberty	L_p	2.4	cm	pers. comm.
Water content	d_{wat}	0.8	–	This study
Reserve parameters				
Max surface specific ingestion rate	$\{\dot{p}_{Xm}\}$	1 025	$J.cm^{-2}.d^{-1}$	Bernard et al. (2011)
Volume specific maintenance cost	$[\dot{p}_{M0}]$	44	$J.cm^{-3}.d^{-1}$	Bernard et al. (2011)
Energy conductance	\dot{v}	0.183	$cm.d^{-1}$	van der Veer et al. (2006)
Assimilation efficiency	κ_X	0.75	–	van der Veer et al. (2006)
Energy content of 1 g of reserve	ρ_E	19 600	$J.g_{dw}^{-1}$	Kooijman (2010)
Structure parameters				
Energy fraction allocated to soma	κ	0.45	–	van der Veer et al. (2006)
Volume specific cost for structure	$[E_G]$	3900	$J.cm^{-3}$	Bernard et al. (2011)
Density of structure	d_V	0.15	$g_{dw}.cm^{-3}$	Whyte et al. (1990)
Energy content of 1 g of structure	ρ_V	15 600	$J.g_{dw}^{-1}$	Bernard et al. (2011)
Yield of structure tissue used for maintenance	γ_{L1}	1	–	Bernard et al. (2011)
Reproduction parameters				
Reproduction efficiency	κ_{GO}	0.9	–	Bernard et al. (2011)
Density of gonad	d_{GO}	0.31	$g_{dw}.cm^{-3}$	Deslous-Paoli and Héral (1988)
Energy content of 1 g of gonad	ρ_{GO}	21 630	$J.g_{dw}^{-1}$	Bernard et al. (2011)
Yield of gonad tissue used for maintenance	γ_{L2}	0.7	–	This study
Temperature effect				
Arrhenius temperature	T_A	5 800	K	van der Veer et al. (2006)
Reference temperature for rates	T_1	293	K	Bernard et al. (2011)
Lower boundary tolerance range	T_L	281	K	Bourlès et al. (2009)
Upper boundary tolerance range	T_H	300	K	Bourlès et al. (2009)
Arrhenius temperature for lower boundary	T_{AL}	75 000	K	van der Veer et al. (2006)
Arrhenius temperature for upper boundary	T_{AH}	30 000	K	van der Veer et al. (2006)
SU parameters				
Binding rate of non-toxic algae	\dot{b}_X	145/185/225	$L.d^{-1}.cm^{-2}$	Pousse et al. (in rev.)
Binding rate of toxic algae	\dot{b}_Y	10/40/90	$L.d^{-1}.cm^{-2}$	Pousse et al. (in rev.)
Dissociation rate of non-toxic algae	$\{\dot{h}_{X Am}\}$	$\approx 6.6 \cdot 10^8$	$\#.d^{-1}.cm^{-2}$	This study
Dissociation rate of toxic algae	$\{\dot{h}_{Y Am}\}$	$\approx 8.2 \cdot 10^8$	$\#.d^{-1}.cm^{-2}$	This study
Binding rate of non-tox. algae from tox. algae	\dot{b}_{XY}	$=\{F_{Xm}\}$	$L.d^{-1}.cm^{-2}$	Lavaud et al. (2014)
Binding rate of tox. algae from non-tox. algae	\dot{b}_{YX}	0	$L.d^{-1}.cm^{-2}$	Lavaud et al. (2014)
Dry mass of lab. non-tox. alg.	M_X	$2.8 \cdot 10^{-11}$	$g_{dw}.cell^{-1}$	Reynolds (2006)
Dry mass of field non-tox. alg.	M_X	$2 \cdot 10^{-10}$	$g_{dw}.cell^{-1}$	Lavaud et al. (2014)
Dry mass of toxic algae (<i>A. minutum</i>)	M_Y	$9.4 \cdot 10^{-10}$	$g_{dw}.cell^{-1}$	Reynolds (2006)
Yield of reserve of lab. non-tox. alg.	y_{EX}	0.14	$g_{dw}.g_{dw}^{-1}$	This study
Yield of reserve of field non-tox. alg.	y_{EX}	0.5	$g_{dw}.g_{dw}^{-1}$	Lavaud et al. (2014)
Yield of reserve of tox. alg.	y_{EY}	0.14	$g_{dw}.g_{dw}^{-1}$	This study
PST parameters				
STX amount per energy unit in a tox. particle	ρ_{PST}	strain dependent	$\mu g STX.J^{-1}$	This study
Toxin assimilation efficiency	$\kappa_{X_{PST}}$	0.18	–	This study
Toxin elimination coefficient	\dot{k}_{elim}	0.18	d^{-1}	This study
Cut time transit	t_g	$0.135 V^{1/3} + 0.0125$	s	This study
Non-effect concentration	NEC	0.5	$\mu g STX.100g^{-1}$	This study
Toxicant stress concentration	C_k	10	$\mu g STX.100g^{-1}$	This study

- experimental period, 20 individuals were sampled on weeks 1,2,3,4,6,8.
- Condition 2: 6-weeks exposure to non-toxic algae. For this condition, 3 replicated tanks were supplied continuously with 2- μm filtered seawater added with a mix of *T. lutea* and *C. muelleri*. Non-toxic algae supply was adjusted twice a day such as the outflowing water from the tanks contained a concentration ranging between 1000 to 2000 $\mu\text{m}^3 \mu\text{L}$. Twenty oysters were sampled each week.
 - Condition 3: 6-weeks exposure to a mix of toxic and non-toxic algae. During the 42 days of exposure, tanks were continuously supplied with 2- μm filtered seawater added with a mix of *T. lutea*, *C. muelleri* and *A. minutum*. Non-toxic algae supply was adjusted twice a day such as the outflowing water from the tanks contained a concentration ranging between 1000 to 2000 $\mu\text{m}^3 \mu\text{L}$. The *A. minutum* concentration delivered was adjusted to correspond to 250 $\text{cell min}^{-1} \text{g}^{-1}$ of total oyster weight in each tank. *A. minutum* concentration ranged between $2 \cdot 10^5$ to $6.5 \cdot 10^5 \text{ cell L}^{-1}$. Twenty individuals were sampled each week. At the end of this experiment, 5 individuals experienced a 6-days detoxification step in filtered seawater.
 - Condition 4: 2-weeks exposure to a mix of non-toxic algae and toxic algae followed by 6-weeks starvation. During the two first weeks, oysters were exposed to both toxic and non-toxic algae according to the same protocol than in condition 3. Then tanks were exclusively supplied with 2- μm filtered seawater for 6 weeks. Twenty oysters were sampled every week during the accumulation phase, then only 15 were sampled on weeks 3,4,6 and 8. As for condition 1, no individuals were sampled on weeks 5 and 7 to allow a long starvation period. In addition, two individuals per tank were sampled on days 1,2,3,4,5,7,9,11 and 13 of the detoxification step to measure PST content in order to provide information about toxin elimination kinetics.

Concentrations of toxic and non-toxic algae were measured daily in the incoming and outgoing flow by using a Beckman Coulter Multisizer 3. At each sampling date, twenty individuals were dissected. Shell length, total wet mass, shell mass, wet flesh mass were measured on every individuals with a precision of 10^{-3} g. Dry flesh mass was measured on 10 individuals, 5 individuals were prepared for histological analysis (data not shown) and the last 5 oysters were used for PST measurements.

Toxin quantification PST concentrations were quantified by using ELISA PSP kit developed by Abraxis (see methods in Lassudrie et al., 2015a;b). For this purpose, oyster tissues were mixed in pools of 5 individuals (1:1, w:v) in 0.1 M HCl solution, grounded (Fastprep-24 5G homogenizer) and boiled for 5 minutes at 100°C in order to acid-hydrolyze PST analogs into saxitoxins (STX). The samples were then disposed in the Abraxis ELISA PSP kit and toxin concentrations were quantified by spectrophotometry and expressed in μg of STX for 100g of total flesh mass.

5.2.3 Validation datasets

The model was validated on laboratory and field data-sets obtained during natural blooms of *A. minutum*.

Laboratory dataset Adult oysters (mean initial wet flesh mass = 2.44 g \pm SD 0.57) which had never been in contact with toxic algae were exposed to a mix of non-toxic algae (*T. lutea* and *C. muelleri*) and toxic (*A. minutum*) during an eight-week broodstock conditioning. Non-toxic algae were delivered in order to observe a concentration ranging between 1000 to 2000 $\mu\text{m}^3 \mu\text{L}$ in the outflowing water, meanwhile *A. minutum* was distributed at a concentration of 10^5 cell.L^{-1} . During the seventh week of conditioning, *A. minutum* concentration was raised for 4 days to $5 \cdot 10^5 \text{ cell.L}^{-1}$ on day 1 and 4 and 10^6 cell.L^{-1} on day 2 and 3, to simulate an *A. minutum* bloom. The strain of *A. minutum* used in this experiment (AM89BM RCC1490) was isolated in the bay of Morlaix (France) in 1995 and synthesized $1.3 \cdot 10^3 \text{ fg STX equivalent cell}^{-1}$. This strain also produces extracellular compounds known to have allelopathic and cytotoxic effects on other algae and marine organisms (Lelong et al., 2011; Borcier et al., 2017). The *A. minutum* culture conditions were identical to the Daoulas 1257 strain (see details in section 5.2.2). For this experiment, PST concentrations were measured in the oyster digestive gland according to the protocol previously described (section 5.2.2). These concentrations were then corrected to take into account the mass of the digestive gland and the ratio of PST in this organ compared to the whole body (Guéguen, 2009).

In situ datasets The capacity of the model to predict accumulation and detoxification of oysters under field conditions was tested on several datasets acquired in bay of Brest where recurrent *A. minutum* blooms are reported since 2012 (Chapelle et al., 2015). During 3 years (2012 to 2014), oysters grown in Brittany (France) were placed in the field (site "pointe du Chateau" near the Bay of Daoulas; $48^\circ 20' 03''\text{N}$, $04^\circ 19' 145''\text{W}$), where the highest concentrations of the *A. minutum* bloom have been recorded, at the beginning of the summer, when concentrations of *A. minutum* were expected to increase. When a bloom occurred, oysters were sampled regularly in order to monitor the PST concentration in their tissues. In addition, during the 2012 bloom, some oysters were transferred in the laboratory, twice in a row at a weekly interval, in order to test a decontamination stage in filtered seawater over one week. Densities of *A. minutum* were obtained from seawater samples collected every 2, 3 or 4 days close to the site where oysters were located. Concentration of non-toxic algae were quantified weekly by the company "AEL plancton". Seawater temperature were obtained from the SOMLIT monitoring network. These three measurements were used after linear interpolation as forcing variables in the DEB-PST model. In addition, PST content of *A. minutum* were monitored during the 2013 bloom and quantified in the PHYC laboratory of Nantes according to the

method described in Guéguen et al. (2011). PST concentrations in the oyster digestive glands were measured individually with ELISA essay (see section 5.2.2) or by HPLC for the 2012 survey (method described in Oshima, 1995a). The calibration curves between these two techniques were plotted and applied on HPLC data so that data could be compared. These concentrations have also been corrected to be expressed as a function of the total wet flesh mass of oysters.

5.2.4 Simulations and inter-individual variability

Both growth and toxin accumulation are known to vary among individuals. In order to take into account this variability, simulated individuals differed in their initial conditions (V , E , E_R and E_{GO}) and in their clearance rates according to the rules explained below.

Initial size conditions Initial biometric measurements of shell length (L_{shell}) and dry flesh mass (DFM) were available for each individual for most data sets. Based on these data, initial conditions of each compartments (V , E , E_R and E_{GO}) of each individual were calculated according to the following equations.

$$V = (L_{shell} \delta_M)^3$$

$$E = e E_M V$$

If $L_{shell} < L_p$ (i.e. the individual is not mature) :

$$E_R = DFM - V d_v \rho_E - E \text{ and } E_{GO} = 0$$

If $Shell_{Length} > L_p$ (i.e. the individual is mature) :

$$E_R = \frac{L_p}{L_{shell}} (DFM - V d_v \rho_E - E) \text{ and } E_{GO} = \left(1 - \frac{L_p}{L_{shell}}\right) (DFM - V d_v \rho_E - E)$$

With δ_M the shape coefficient, e the reserve density, E_M the maximum energy density (equal to $\frac{\dot{p}_{XM} \kappa_X}{\dot{v}}$), L_p the physical length at puberty, d_v the density of structure and ρ_E the energy content of 1 g of reserve. e was chosen depending on the season and was fixed to 0.2 for the calibration experiment (November), to 0.5 for the laboratory calibration experiment (April) and to 0.7 for the field surveys (July). Because biometric measurements were not available during the 2012 survey, 20 individuals ranging from 0.5 to 10 g in wet flesh mass (range observed for 2013 survey) were simulated, length was estimated from wet flesh mass.

Clearance rates Pousse et al. (in rev.) showed that individual accumulation potential was closely related to individual clearance rate and that individuals could be clustered into three groups with low, intermediate and high toxin accumulation

potential. Accordingly, individuals were respectively distributed in these clusters with the following frequencies: 26 %, 50 % and 24 %. One of these three phenotypes were thus attributed randomly to each individual in accordance with the frequencies given above. Based on the clearance rates given in Pousse et al. (in rev.), individuals with a low potential accumulation had binding rates on non-toxic algae ($\{\dot{F}_{X_m}\}$) and toxic algae ($\{\dot{F}_{Y_m}\}$) respectively equal to 145 and 10 $L.d^{-1}.cm^{-2}$; intermediate to 185 and 40 $L.d^{-1}.cm^{-2}$ and high to 225 and 90 $L.d^{-1}.cm^{-2}$. This method of including inter-individual variability was tested on the data acquired during the experiment described in chapter 1 (p. 42; Pousse et al., in rev.). Based on *A. minutum* concentrations in each six trials, PST concentration measurements were compared to the PST concentrations simulated by the DEB-PST model.

5.3 Results

5.3.1 Parameter estimation

Standard DEB-model Conditions 1 and 2 presented in figure 31 (A and B) allowed to validate parameters used in the standard DEB model and to calibrate SU parameters for the non-toxic algae. The value of 0.14 $g_{dw}.g_{dw}^{-1}$ for y_{EX} , and of 0.7 γ_{L2} allowed a satisfying representation of oyster growth in both conditions. All other parameters used are those of Bernard et al. (2011). Parameters values are summarized in Tab. 7.

Accumulation model In condition 3 (6 weeks exposure to non-toxic and toxic algae), *A. minutum* was delivered mixed with others algae and PST accumulation was rather low (Fig. 32; A). This dataset allowed to estimate a value of 0.18 for PST assimilation efficiency $\kappa_{X_{PST}}$. Algal cell counts in water inflow and outflow indicated that oyster feeding rates were highly variable from day to day, presumably due to variations quality of the non-toxic algal. To account for this, we corrected clearance rates in accordance with observations of ingestion calculated daily in the experimental tanks. Although model overestimated PST accumulation at the first and third sampling point, simulations were generally satisfying.

First-order kinetics for toxin elimination with value of 0.18 d^{-1} for k_{elim} allowed to represent properly the dynamic of toxins in condition 4 (2 weeks non-toxic and *A. minutum* followed by 6 weeks of filtered seawater; Fig. 32 B). Adjustment of the model on Pousse et al. (in rev.) data, based on experiments with *A. minutum* (strain RCC4876, Daoulas 1257, non allelopathic) as single algae supply allowed to estimate the values of 0.02 $\mu gSTX J^{-1}$ for ρ_{PST} (STX amount per energy unit in a toxic particle) and of 0.14 $g_{dw}.g_{dw}^{-1}$ for y_{EY} (yield of reserve of toxic algae).

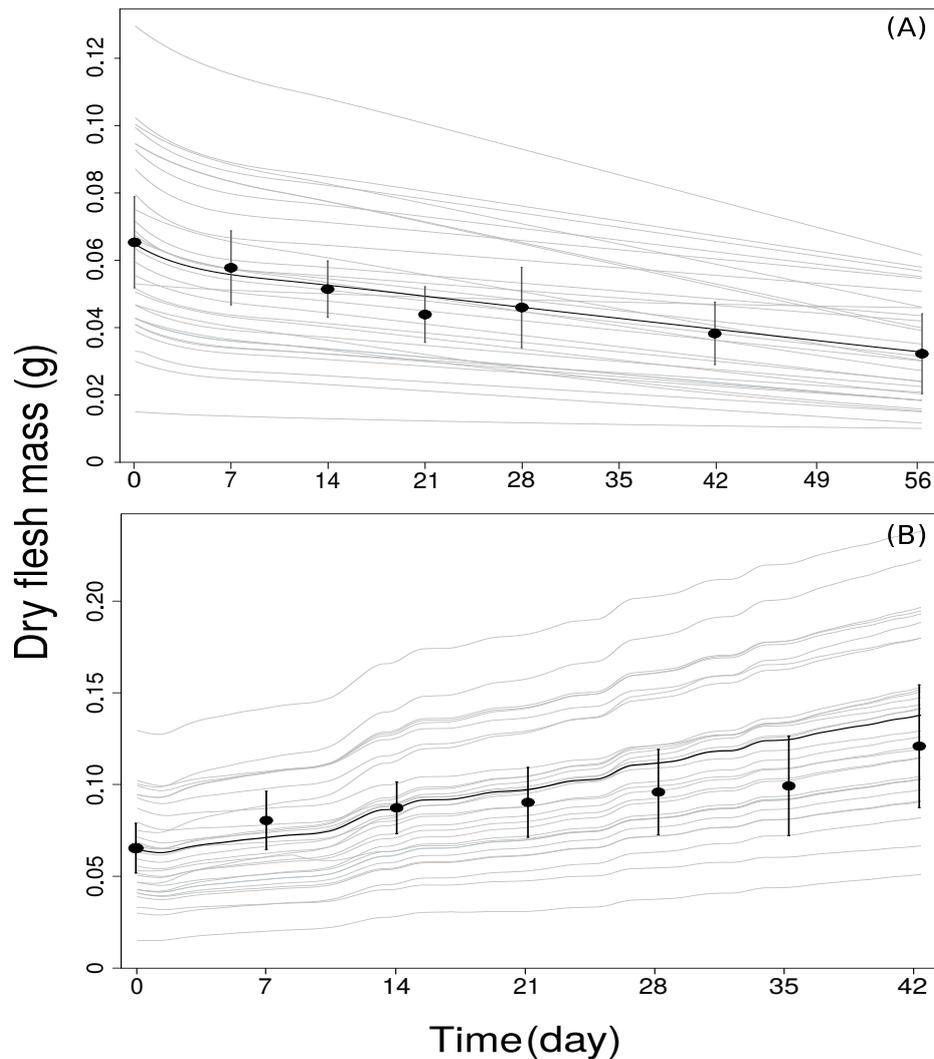


FIG. 31 – Observations and simulations of the evolution of oysters dry flesh mass in experimental conditions 1 and 2. A: condition 1; 8-weeks starvation. B: condition 2; 6-weeks fed non-toxic algae. Gray lines correspond to the 20 simulated individuals, black line is the average of the simulations for all individuals. Black dots correspond to observations, error bars indicate standard deviation.

Inter-individual variability The capacity of the model to simulate a realistic variability in the toxin bioaccumulation based on variability of clearance rate was verified by using data from Pousse et al. (in rev., chap. 2). Although observed versus predicted PST accumulations (Fig. 33) showed a slight overestimation of final toxin concentrations, the three values of clearance rates allowed to simulate both realistic bioaccumulation and inter-individual variability.

Effects induced by PST Without taking into account the effects of PST on maintenance costs, the model allowed to simulate properly the growth and the mass loss in conditions 3 and 4 (Fig. 34; dashed lines). Nevertheless, the model slightly overestimated observations. Including the effect of deleterious PST on oysters ($NEC = 0.5 \mu g STX 100 g^{-1}$ and $C_k = 10 \mu g STX 100 g^{-1}$) allowed a better representation

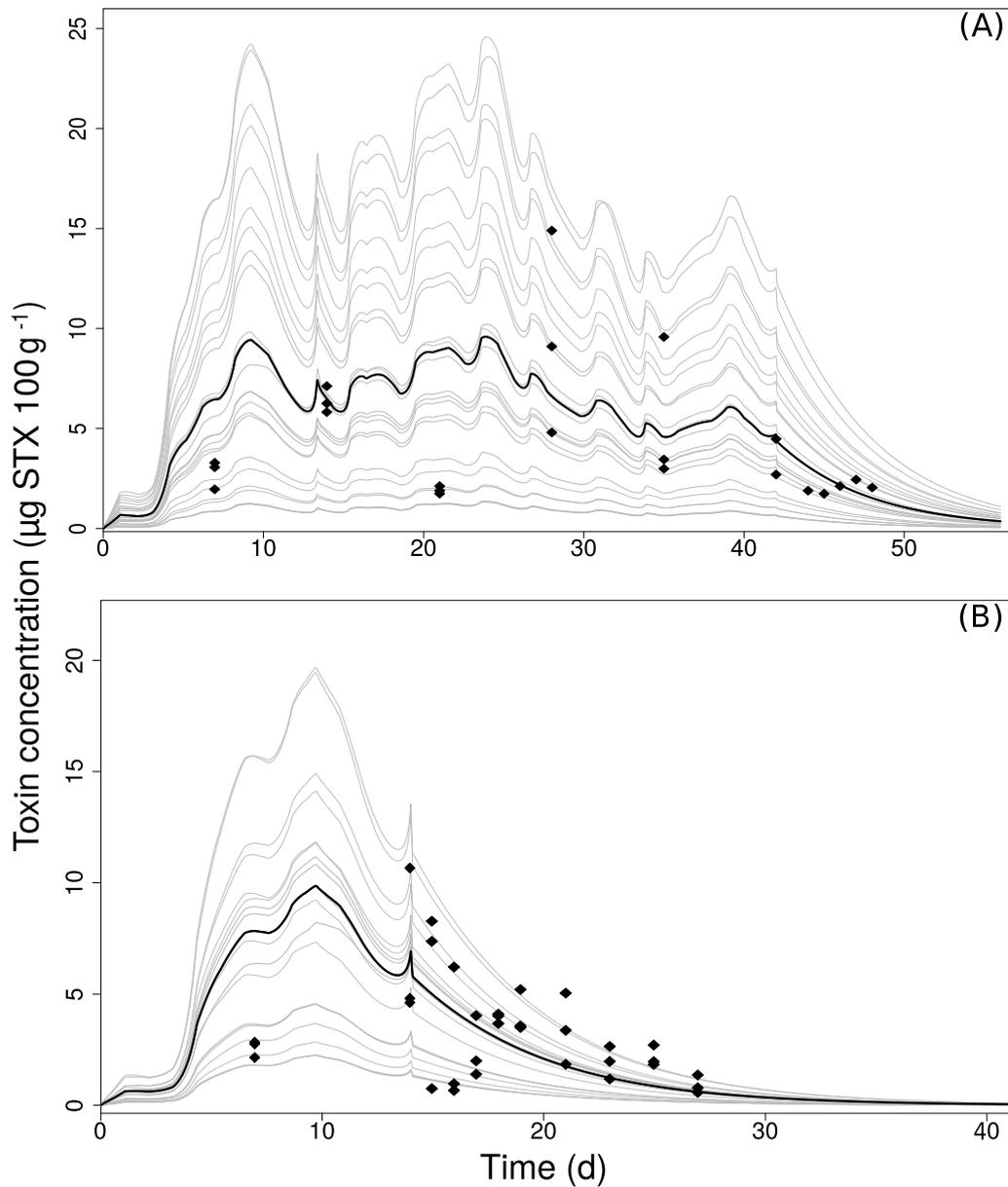


FIG. 32 – Simulations and observations of oyster PST accumulation during conditions 3 and 4. A: Condition 3, oysters fed six-weeks both *A. minutum* and non-toxic algae and then placed 6 days in filtered seawater. B: condition 4, oysters fed two-weeks both *A. minutum* and non-toxic algae and placed two weeks in filtered seawater. For both condition, PST content was measured weekly on 15 individuals during exposure stages. During detoxification of condition 3, PST content was measured on one individual per day. During detoxification of condition 4, PST content was measured on 3 individuals daily during the first 5 days and every second day the following week.

of oyster growth (Fig. 34 A; plain line) although the mass loss was still slightly underestimated (Fig. 34 B; plain line).

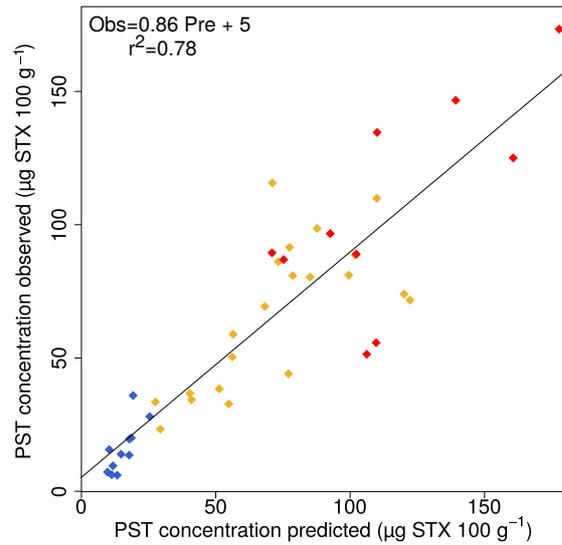


FIG. 33 – Observed versus predicted PST accumulation in oyster tissues after 6 short term exposure experiments (48 hours) to *A. minutum* (data from Pousse et al., in rev.). In each assay, 7 distinct oysters were exposed in individual flow-through chambers. Diamonds indicate the PST concentration measured at the end of the experiment. Colors stand for different potentials of accumulation (red: high; yellow: intermediate; blue: low) expressed in different binding rates for toxic algae ($\{\dot{F}_{Ym}\}$). Black line corresponds to the linear regression model adjusted on these data.

5.3.2 Model validation

Laboratory experiment The ρ_{PST} value calibrated on previous experiments did not allow to fit observations of bioaccumulation in the laboratory data set. However, PST cellular toxicity of the *A. minutum* strain used in this experiment is known to be an order of magnitude higher than the one used in the calibration experiment (Haberkorn et al., 2010a; Pousse et al., in rev.). Increasing the value of ρ_{PST} by a factor 7 allowed a better fit of the model on observations (Fig. 35; A). Growth was also properly simulated although mass loss at the end of the experiment was underestimated (Fig. 35 B; black continuous line). The *A. minutum* strain used in this experiment is also known to produce extracellular compounds, which might contribute to toxicity (Borcier et al., 2017) and affect energy balance. Taking into account this higher toxicity by decreasing toxicant stress concentration (C_k) up to $1 \mu g STX 100 g^{-1}$ (the lower the value of C_k , the higher the PST effects) provided a much better fit of the predictions to the data (fig. 35 B, dashed black line).

Field surveys As a result of the important loads accumulated (until 20 times more than what was observed during laboratory experiments), PST effects on energy budget led to an unrealistic decrease of flesh mass of simulated individuals when using the C_k value estimated from the laboratory dataset (simulated weight close to zero, simulations not shown). This problem was solved by fixing C_k to $40 \mu g STX 100 g^{-1}$. Parameters characterizing the non-toxic algae from the field (M_X ,

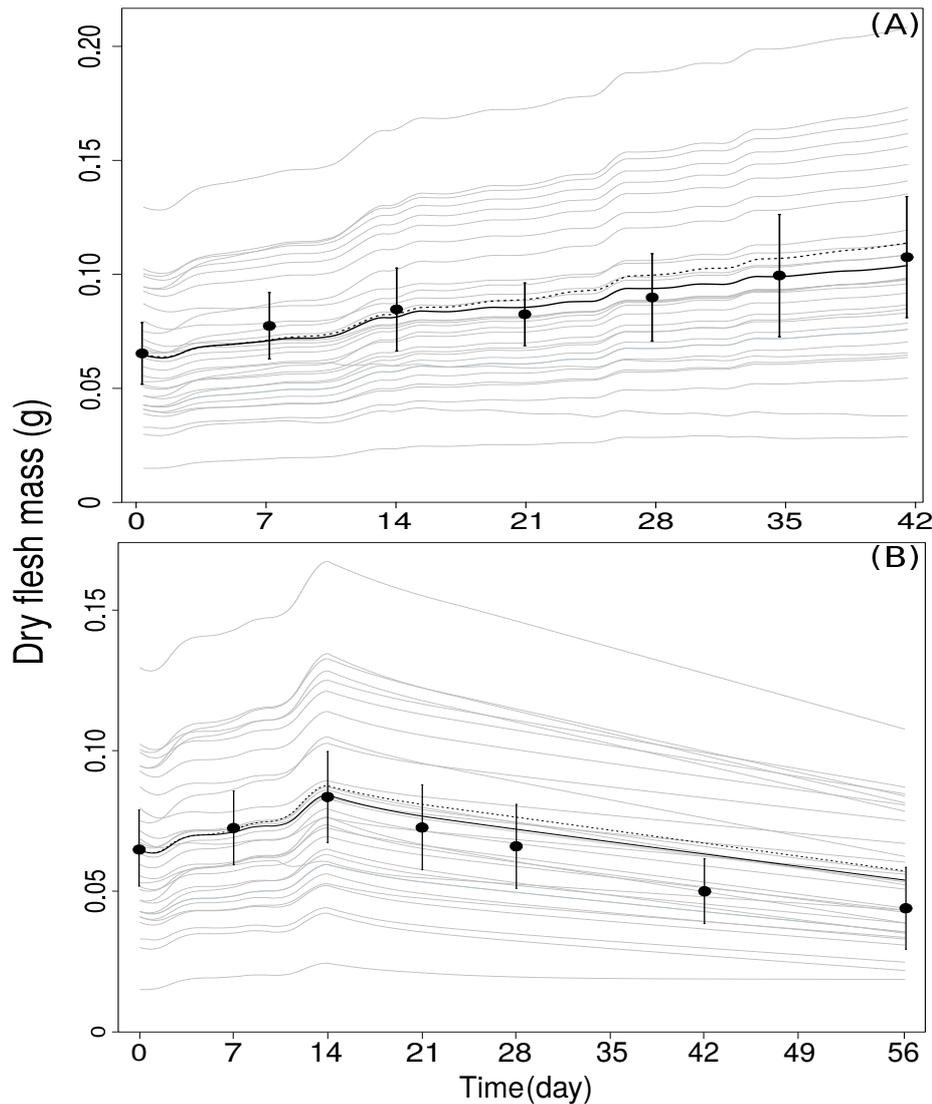


FIG. 34 – Observed (dots) versus simulated (lines) dry flesh mass (g) of oysters with and without PST effects on maintenance during condition 3 (A: 6-weeks fed both *A. minutum* and non-toxic algae) and condition 4 (B: 2-weeks feeding both non-toxic algae and *A. minutum* followed by 6-weeks in filtered seawater). Gray lines correspond to the 20 simulated individuals without PST effects on maintenance, black continuous line indicates the mean of the trajectories of the 20 individuals including PST effect ($C_k = 10 \mu\text{gSTX } 100\text{g}^{-1}$), while black dashed line indicates the mean of the trajectories of the 20 individuals without PST effect. Black dots correspond to observations, error bars to standard deviation.

y_{EX}) used for these simulations were close to those of Lavaud et al. (2014) and are presented in table 7.

The 2012 field data included oyster accumulation data during an *A. minutum* bloom followed by two laboratory detoxification experiments in filtered seawater. Environmental *A. minutum* concentrations were high and ranged between $1.7 \cdot 10^3$ and $8 \cdot 10^6 \text{ cell } L^{-1}$. The model with a value of $0.025 \mu\text{gSTX} \cdot J^{-1}$ for ρ_{PST} allowed to reproduce accurately the accumulation dynamics, while detoxification dynamics was slightly underestimated (Fig. 36).

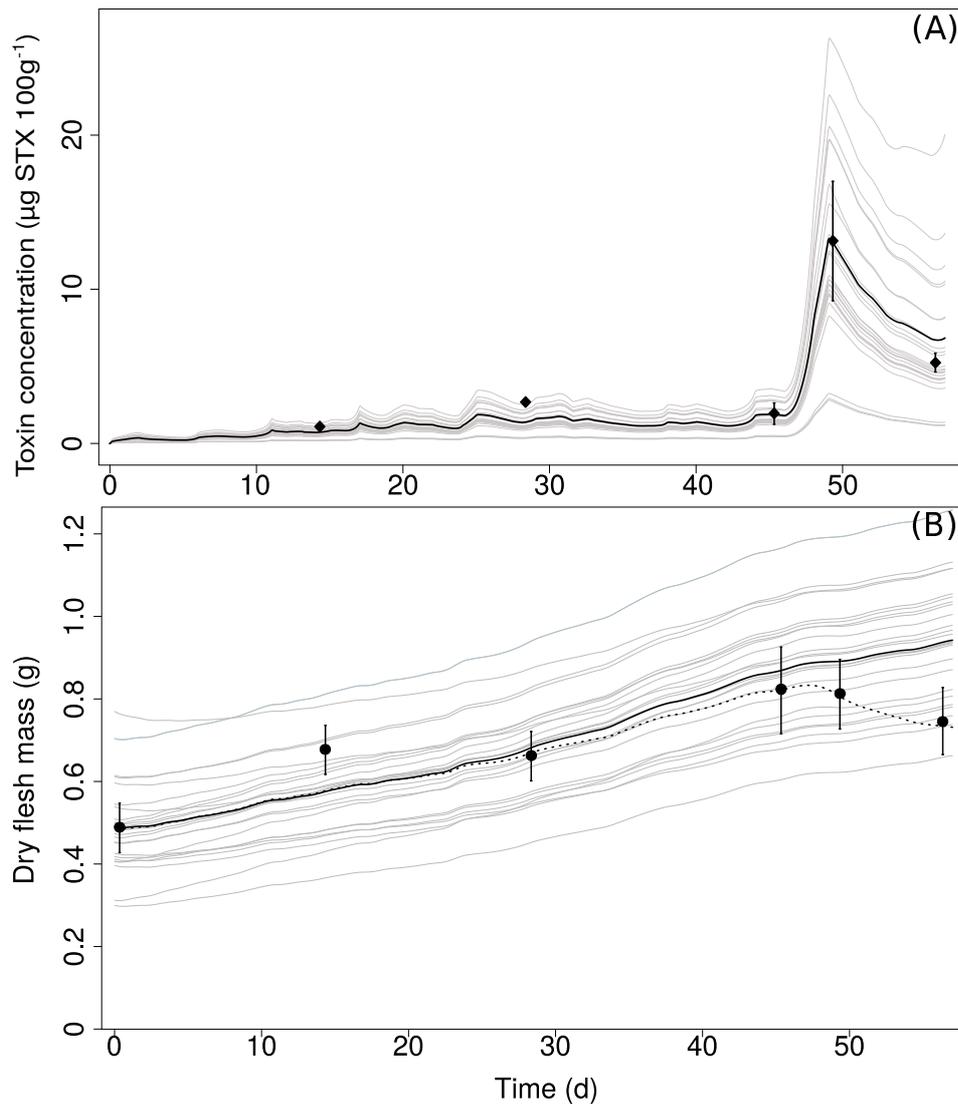


FIG. 35 – Simulations and observations of PST accumulation (A; $\mu\text{g STX } 100\text{g}^{-1}$) and growth (B) in dry flesh mass (g) of *C. gigas* while feeding on *T. lutea*, *C. muelleri* and *A. minutum* (10^5 cell.L^{-1} with a peak at 10^6 cell.L^{-1} days 47 and 48). Gray lines stand for 25 simulated individuals, black line to the mean of all individuals, black dots to observations and vertical bars indicate the standard error. Gray lines and black lines were obtained using $10 \mu\text{g STX } 100\text{g}^{-1}$ for C_k . Dashed line represents the mean of 25 individuals simulated with a value for C_k calibrated on these observations ($1 \mu\text{g STX } 100\text{g}^{-1}$). Starting points correspond to the initial measurements of 25 oysters. ρ_{PST} was calibrated to $0.145 \mu\text{g STX } J^{-1}$

The *A. minutum* bloom monitored in 2013 was less intense (Fig. 37): highest concentration only reached $3 \cdot 10^5 \text{ cell L}^{-1}$ and it was associated with a low accumulation of STX by oysters. During this survey, oysters were kept in the field until the *A. minutum* bloom collapsed. Cellular concentration in STX ranged from 5 to $30 \text{ pg STX cell}^{-1}$ during the monitoring period. For parsimony purpose, simulations were performed with a constant ρ_{PST} value ($0.165 \mu\text{g STX} \cdot J^{-1}$, which allowed to properly reproduce the observed dynamics of PST during the monitoring.

In 2014, the concentrations of *A. minutum* measured in the field ranged between

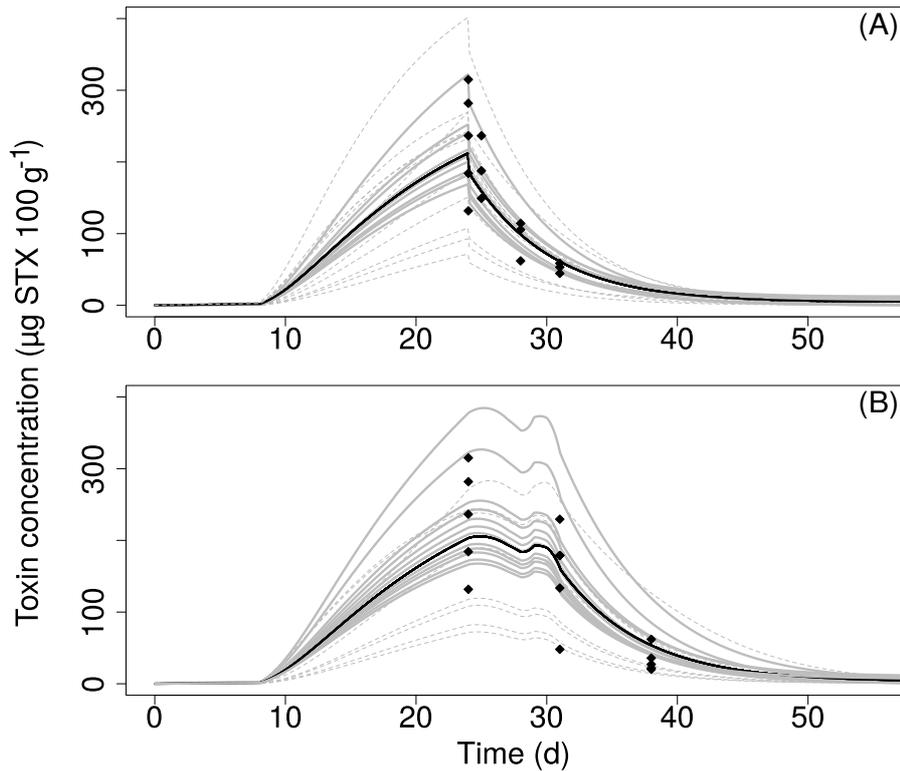


FIG. 36 – Simulations of PST accumulation and detoxification during 2012 monitoring realized in the bay of Brest. Oysters were disposed in the field during an *A. minutum* bloom and were later moved in laboratory for detoxification stage in filtered seawater. One batch of oysters was moved in laboratory for detoxification at day 24 (A), and a second batch was moved at day 31 (B). Temperature, toxic and non-toxic algae concentrations were measured weekly and were used as forcing variables for model simulations. 20 individuals weighting initially from 0.5 to 10 g of wet flesh mass were simulated. Gray dashed lines correspond to individuals with low and high potential, continuous gray lines indicate individuals with intermediate accumulation potential and black lines to mean of all individuals. ρ_{PST} was taken equal to $0.025 \mu gSTX \cdot J^{-1}$.

$5 \cdot 10^3$ and $10^6 \text{ cell } L^{-1}$. ρ_{PST} (STX amount per energy unit in an *A. minutum* cell) was adjusted to a value of 0.055. Using temperature and algal concentrations (non-toxic and toxic) as forcing variables allowed the model to predict the observed dynamics of toxin accumulation in oyster tissues (Fig. 38). However, as observed during the 2012 survey, the measured elimination kinetic was faster than the kinetic predicted by the model. Finally, inter-individual variability was lower in the three field surveys than in the laboratory experiments. Indeed, the intermediate phenotype calibrated previously (continuous gray lines) associated to different initial masses were sufficient to describe the variability observed in the three field surveys.

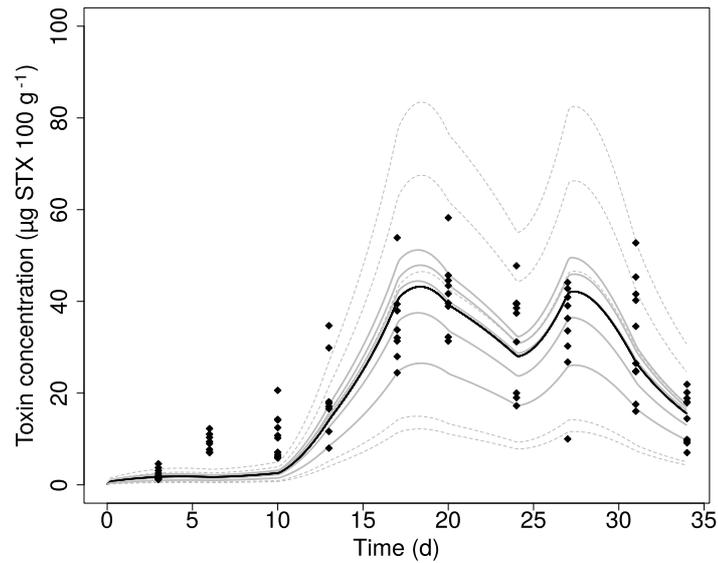


FIG. 37 – Observations and simulations of PST accumulation during the monitoring realized during summer 2013 in the bay of Brest. Oysters were disposed prior to an *A. minutum* bloom and were sampled at different times. 10 individuals were simulated, initial conditions for each individuals were based on biometric measurements performed before the beginning of the experiment. Temperature (measured weekly), toxic and non-toxic algae concentrations (measured each 3-4 days) were used as forcing variables. Gray dashed lines correspond to individuals with low and high potential, continuous gray lines indicate individuals with intermediate accumulation potential and black lines to mean of all individuals. ρ_{PST} was taken equal to $0.165 \mu gSTX \cdot J^{-1}$.

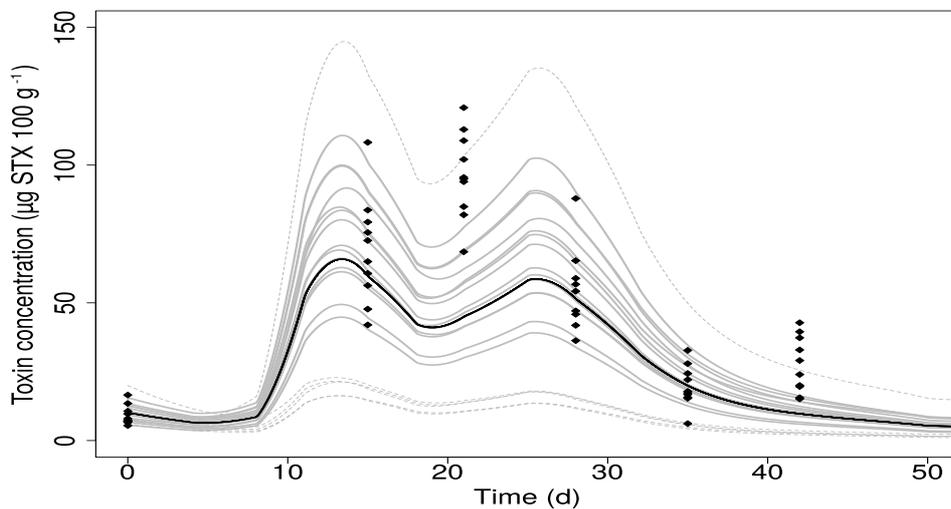


FIG. 38 – Observations and simulations of PST accumulation during the monitoring realized during summer 2014 in the bay of Brest. Oysters were disposed prior to an *A. minutum* bloom and were sampled at different times. 20 individuals were simulated, initial conditions for each individuals were based on biometric measurements performed before the beginning of the experiment. Temperature (measured weekly), toxic and non-toxic algae concentrations (measured each 3-4 days) were used as forcing variables. Gray dashed lines correspond to individuals with low and high potential, continuous gray lines indicate individuals with intermediate accumulation potential and black lines to mean of all individuals. ρ_{PST} was taken equal to $0.055 \mu gSTX \cdot J^{-1}$.

5.4 Discussion

5.4.1 Relationship between *A. minutum* concentration during exposure and PST accumulation

During the three years of monitoring, an important accumulation of PST was observed in oysters with a maximum concentration of $40 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$ in 2013 and of $300 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$ in 2012) after exposure to *A. minutum* at concentrations between $3 \cdot 10^5$ and $8 \cdot 10^6 \text{ cellL}^{-1}$. During the experiment conducted by Pousse et al. (in rev.) the maximum concentration in oysters reached $173 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$ after oysters were exposed to a concentration of *A. minutum* of $1.8 \cdot 10^6 \text{ cellL}^{-1}$. In contrast, accumulation in both calibration and validation laboratory experiments were surprisingly low (close to $10 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$) while the concentration of *A. minutum* during exposure was close to those observed in the field. During these two experiments, oysters were exposed to both toxic and non-toxic algae while oysters were only or mainly exposed to *A. minutum* in Pousse et al. (in rev.) or during the *A. minutum* blooms 2012-2014. The fact that low accumulations were observed when oysters were exposed to both toxic and non-toxic algae might be explained by a particle selection process.

As mentioned previously, the pre-ingestive selection is a well-known phenomenon in bivalves, which is based on complex mechanisms. It is unlikely that the selection is based on the presence of toxins (internal), but might rather be due to an external signature of algal particles, such as their carbohydrate signature (Espinosa et al., 2016). Although probably not based on cellular toxicity, it has been shown that selection allows low toxin intake when toxic algae are present in high concentration mixed with non-toxic algae (Mafra et al., 2009). In contrast, when only *A. minutum* is available, which is the case during important blooms, it is likely that it is used as food source by oysters (see Chap. 2).

We used synthesizing units (Kooijman, 1998) to deal with these selection processes as already applied in bivalves (Kooijman, 2006; Saraiva et al., 2011; Lavaud et al., 2014). To our knowledge, it is the first time that SUs were implemented to simulate toxicant intake. The SU scheme used has been described by Lavaud et al. (2014); it allows to deal with substitutable substrates that bind sequentially and to replace one substrate by another. The present study showed that this formulation was efficient to deal with oyster food preference facing both toxic and non-toxic algae.

5.4.2 Toxin dynamics

Previous modeling studies described PST dynamics with a single compartment model (Blanco et al., 1997; Chen and Chou, 2001; Blanco et al., 2003; Guéguen et al., 2011). Nevertheless, most authors agreed on the fact that two elimination pathways (metabolization and egestion) were needed. Because these two pathways imply very different biological mechanisms, it was very difficult to build a mechanistic-coherent model only based on a single compartment. As Silvert and Cembella (1995); Lassus et al. (2007) toxin dynamics was modeled through two-compartments: non-assimilated toxins (digestive tract content in toxins, PST_{NA}) and internal toxins content (assimilated toxins, PST_A). Because gut transit time is short (Guéguen et al., 2008b), introducing the non-assimilated toxins compartment into the model implied to deal with the fast-dynamics of the digestive tract. Nevertheless, our estimation indicated that this compartment could account up to 50 % of the total amount of toxins. For parsimony purpose, the gut transit time was only considered to be dependent on oyster length and temperature, but this dynamics could be improved by taking into account a dependence on feeding rate (Navarro et al., 1992). Our work also showed that a first order process efficiently described elimination of assimilated toxins. We estimated the elimination constant to $0.18 d^{-1}$ which is similar to values found for other models on bivalves (0.31, 0.22, and 0.28 in average for *C. gigas*, Yamamoto et al., 2003; Lassus et al., 2007; Guéguen et al., 2011, respectively; 0.17 and 0.15 for mussels, Hurst and Gilfillan, 1977; Blanco et al., 2003; 0.1 and 0.09 for clams, Hurst and Gilfillan, 1977; Chen and Chou, 2001; 0.1 for quahog, Bricelj et al., 1991). This value has been estimated on the detoxification data where oysters were starved (in filtrated seawater). However, different studies have shown that oyster feeding on non-toxic algae after an exposure to toxic algae could reduce the detoxification time (Lassus et al., 2000; 2005; Guéguen et al., 2008a). Bricelj and Shumway (1998) suggested that it was linked to an increase in the gut evacuation rate and to a metabolism acceleration (degradation, excretion of toxins). According to these results, it would be worthwhile to run a detoxification experiment and compare oysters fed on non-toxic algae with starved oysters to test if there is an effect of oyster feeding during the detoxification phase and whether it should be integrated into the model.

5.4.3 ρ_{PST} parameter

In our model, the parameter ρ_{PST} accounts for the quantity of toxins per algal energy content; if the energy per *A. minutum* cell remains constant, this value might directly relate to the cellular PST content. As shown above, this value has to be calibrated to fit the model on each data set. The estimated ρ_{PST} values ranged from 0.02 to $0.165 \mu g STX J^{-1}$, with a factor of 8.25 between the lowest and the

highest values. The PST content of *A. minutum* is known to be highly variable and differences in toxicity with a factor of 6.5 have been reported for a single *A. minutum* strain (Béchemin et al., 1999). The range of variation in ρ_{PST} parameter values in our study thus seems to be consistent. Variations in *A. minutum* PST cellular content might change with strain or with growth conditions (Boyer et al., 1987; Anderson et al., 1990; Hwang and Lu, 2000). In addition, algal energy content has also been observed to be linked to environmental conditions (Renaud et al., 2002). As both parameters affect ρ_{PST} value, the fact that we estimated variable values is not surprising.

PST cellular content of *A. minutum* cells during the bloom monitored in 2013 indicated that the cellular content ranged from 5 to 30 $\mu\text{g PST cell}^{-1}$ within a short time scale. However, the model was run with a constant value for ρ_{PST} ($0.165 \mu\text{g STX J}^{-1}$) and allowed a satisfying fit between model and observations. The model seems thus robust to simulate toxin accumulation at short time scales.

The PST cellular content of the *A. minutum* strain used in the calibration experiments was 24 times lower than the one used in the laboratory validation experiment (52.8 against $1.3 \cdot 10^3 \text{ fg STX eq cell}^{-1}$). We estimated ρ_{PST} values of 0.02 and $0.145 \mu\text{g STX J}^{-1}$, corresponding to a factor of 7. Such a difference in the factor might be due either to different energy content per cell (which is unlikely because culture conditions were identical) or to the fact that the latter strain produces extracellular toxic compounds. Recent studies using the AM89BM *A. minutum* strain (used in the validating experiment) suggested that these compounds might also affect negatively feeding behaviour in *Pecten maximus* (Borcier et al., 2017) and *C. gigas* (Castrec et al., in prep). It has been shown that some *Alexandrium* spp. strains are able to produce extracellular toxic compounds (Arzul et al., 1999) known to have allelopathic activity on algae (Ma et al., 2011; Lelong et al., 2011) and ichthyotoxic activity on bivalves (Ford et al., 2008; Borcier et al., 2017). Such differences in the feeding behaviour of *C. gigas* might explain the relatively low value estimated for ρ_{PST} in the validation experiment. In other words, it is likely that due to extracellular compounds, oysters ingested less *A. minutum* cells than expected by the model, thus resulting in an underestimation of the ρ_{PST} value.

In order to improve model prediction of accumulation, further work is needed to better describe the relationship between ρ_{PST} value and PST cellular content. Additionally, measuring PST cellular content in addition to *A. minutum* environmental concentration during field monitoring would provide better data to understand the relationship between *A. minutum* blooms and PST accumulation in oysters.

5.4.4 Links between oysters energy budget and PST dynamics in their tissues

Coupling of DEB-based energy budget model and PST accumulation model allows to account for the effects of size and energetic status on accumulation and detoxification processes. As discussed previously, the unique accumulation pathway is through feeding. Processes involved in feeding (filtration activity and ingestion) are proportional to structural surface area (Kooijman, 2010). However, ingested toxins are diluted in the total volume/weight of the animal (structure, reserves and gonad). Thus facing an identical exposure to toxic algae, small individuals are expected to accumulate higher concentrations of toxins than larger individuals. Such a pattern has been observed in Aalvik and Framstad (1981) and discussed in the review of Bricelj and Shumway (1998). This pattern might sometimes be hidden in experimental data since for a given structural size, oysters with the highest reserves quantity will accumulate less than others. The DEB-PST model allows to predict these trends which strengthens the interest of coupling accumulation and bioenergetic model.

Effects of PST on bivalves physiology have been widely documented. PST are known to affect hemocytes, gills or muscles (Haberkorn et al., 2010a;b) and trigger defence or immune response. However, only a few studies quantified the impact of exposition to PST on bivalve energy budget. Li et al. (2002) observed a decrease in the scope for growth, even at low PST concentrations (2.6 and $5.22 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$ respectively for *Ruditapes philippinarum* and *Perna viridis*), thus supporting our choice to integrate the effects of PST and with a low non-effect concentration (i.e. $NEC=0.5 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$). Different studies reported declines in bivalve growth rates during an exposure to PST-producing algae (Erard-Le Denn et al., 1990; Nielsen and Strømgren, 1991; Bricelj et al., 1993; Luckenbach et al., 1993; Hermabessiere et al., 2016). Based on these observations, we assumed that PST affected maintenance costs and calibrated this effect on growth experiments. Although uncertainty remains on the quantification of these effects (C_k estimated in laboratory experiment were not applicable in the field). We suggest that these effects are not negligible because we estimated that maintenance costs was increased by a factor 1.5 in the calibration laboratory experiment (Fig. 34). Such a value has to be confirmed by laboratory experimental experiments in which higher PST concentration would be reached.

The formulation for PST effect on maintenance cost does not take into account potential time lagged effects on the energy budget (i.e. once toxins are eliminated no effects remain on maintenance costs). Nevertheless, results presented in figure 34 (B) tend to indicate that PST-induced effects on energy balance last longer than contamination since shrinking is still underestimated by the model when oysters have totally depurated. Such effects might be related to energy needed for tissue

damage repairation that may last longer than PST.

Effects were applied to maintenance costs in this model, however, PST can also alter reproductive functions such as gamete viability for example (Haberkorn et al., 2010a). From data present in the literature, an accurate calibration of these effects appears difficult, which would really benefit from a dedicated experiment, where number and energetic content of oocytes in individuals differently concentrated in PST would be measured. Furthermore, extending this model to the whole oyster life stages does not seem to be useful since (Yan et al., 2001) shed light on the fact that decreases in egg hatching and larval survival during an exposure to *Alexandrium tamarense* could be associated to extracellular compounds rather than PST.

Parameter C_k (toxicant stress concentration) calibrated during the laboratory experiments was unfortunately not validated on the second laboratory experiment nor on field data. Two different reasons could potentially explain this. In the laboratory experiment, effects were underestimated. It is likely that the extracellular compounds synthesized by the *A. minutum* strain used in this validation laboratory experiment are responsible for these effects via (1) an increase in oyster tissues alteration (Ford et al., 2008) and (2) a decrease in oyster feeding (Borcier et al., 2017, Castrec et al., in prep.). It would be worthwhile investigating bioenergetic costs caused by extracellular compounds to validate these two hypotheses. PST effects were conversely overestimated for the field surveys since the model initially predicted a lethal weight loss in oysters according to the environmental parameters. Two hypotheses could explain this phenomenon. (1) Either toxins induced less effects on oysters held in the field or (2) oysters held in the field were less sensitive to toxins. The first hypothesis is unlikely, since no difference in the intensity of PST effects has been demonstrated between laboratory and field exposures. However, oysters placed in the field and exposed in laboratory had different life histories. Before being transferred in the study site, field oysters spent time in natural environment where they could have been in contact with toxic algae. The effects of a prior exposure to toxic algae have already been observed to cause higher feeding rates and PST loads in bivalves previously exposed (Shumway and Cucci, 1987; Chebib et al., 1993; Bricelj and Shumway, 1998). Moreover a recent study observed that in *C. gigas*, the nerves, which are the main STX targets, were less sensitive if the oysters had previously been exposed to toxic algae (Boullot et al., in prep). Taking these results into account, it can be hypothesized that a prior exposure to toxic algae may allow oysters to acquire a resistance to PST, i.e. exposures following the first contact with toxic algae have smaller effects on *C. gigas*.

5.5 Conclusion

The DEB-PST model presented in this study allowed to highlight the importance of linking bioaccumulation processes to energy balance, through coupling of bioaccumulation processes to a bioenergetic model based on DEB theory. Based on a partitioning of the whole toxin quantity into two compartments (unassimilated and assimilated toxins), it accurately describes accumulation kinetics of PST in *C. gigas* by taking into account individual oyster condition and environmental variables. Furthermore, the fact that this model calibrated on laboratory experiments can be applied in the field, where trophic and environmental conditions are relatively different contributes to demonstrate its robustness. This is the first time that the effects of PST were treated in a growth model and validated under laboratory conditions. This model offers a new tool for the study and the monitoring of PST accumulation. It could be used to test different scenarios where biological functions such as gametogenesis, or oyster physiology such as ploidy or mass would be modified in order to identify hazard conditions.

5.6 Acknowledgements

We are warmly grateful to Bruno Petton at the Ifremer experimental facilities in Argenton for providing SPF oysters, and Jacqueline Le Grand and Dominique Ratiskol for producing the non-toxic algae. We also thank Matthias Huber, Isabelle Quéau, Marion Riobé, Valérian Le Roy, Loann Gissat and Méline Gourault, for their technical help. We thank Élodie Fleury for providing oysters placed in the field.

This study was carried out with the financial support of the French National Research Agency (ANR) "ACCUTOX" project (ANR-13-CESA-0019 2013–2017). This work is part of a PhD project supported by the "Laboratoire d'Excellence" LabexMer (ANR-10-LABX-19) and co-founded by a grant from the French government under the program "Investissement d'Avenir", and by a grant of the Regional Council of Brittany.

Synthèse

Le chapitre 5 a été entièrement dédié au développement et à la formalisation du modèle DEB-PST. Un couplage a ainsi été réalisé entre un modèle déjà largement validé de croissance et de reproduction de l'huître basé sur la théorie DEB (Ren et Ross, 2001 ; Pouvreau *et al.*, 2006 ; Alunno-Bruscia *et al.*, 2011 ; Bernard *et al.*, 2011 ; Thomas *et al.*, 2016 ; Gourault *et al.*, in prep.) et un modèle d'accumulation décrivant les cinétiques d'intoxication et de détoxication des PST. Ce dernier a été exprimé sous la forme de deux compartiments, (1) les toxines non-assimilées, avec l'ingestion comme flux entrant de toxines et l'assimilation et l'égestion comme flux sortants ; (2) les toxines assimilées correspondant au bilan entre le flux d'assimilation de toxines et le flux de détoxication dépendant d'un processus de premier ordre. En amont de ce modèle, le système de SU tel que décrit par Lavaud *et al.* (2014) a été utilisé en modifiant quelque peu les valeurs de certains paramètres. Les effets des PST sur la bioénergétique de *C. gigas* ont également été exprimés sur la base de fondements appliqués aux contaminants dans le contexte de la théorie DEB (DEBtox, voir par exemple Kooijman et Bedaux, 1996 ; Jager et Zimmer, 2012). Deux paramètres ont ainsi été introduits, la concentration de non-effet (NEC) et le facteur de stress toxique (C_k). Ainsi, dès le dépassement de la concentration de non-effet, les coûts de maintenance spécifiques sont augmentés proportionnellement à la concentration en PST. Enfin, de la variabilité inter-individuelle a été ajoutée au modèle en se basant sur les résultats du chapitre 2. Ainsi, une valeur de taux de filtration a été attribuée de façon aléatoire à chaque individu pour représenter chacun des phénotypes identifiés dans le chapitre 2.

Tous les paramètres de ce modèle ont été calibrés au moyen d'une expérimentation dédiée. Durant cette expérience, des naissains ont été exposés à différentes conditions expérimentales (algues non-toxiques combinées ou non à des algues toxiques, absence de nourriture). En mesurant la croissance chaque semaine pour chaque condition, nous avons pu observer que les PST avaient un coût bioénergétique chez *C. gigas* puisque les individus exposés à l'algue toxique *A. minutum* présentaient un amaigrissement plus rapide ou une croissance plus lente que les individus non-exposés. Le modèle a ensuite été validé sur un jeu de données expérimentales obtenu en laboratoire puis sur des données issues d'expositions *in situ* en rade de Brest. Les simulations ont permis de montrer que le modèle reproduisait fidèlement les cinétiques d'intoxication et de détoxication à la fois en laboratoire et sur le terrain. Cependant, le paramètre ρ_{PST} , dépendant entre autres de la toxicité cellulaire d'*A. minutum* (elle même très variable), doit être ajusté sur des données d'accumulation mesurées, pour chaque souche d'*A. minutum* à laquelle *C. gigas* est exposée. Enfin, nos résultats ont également permis de montrer que les effets des PST sont très variables chez *C. gigas*. Deux hypothèses non exclusives ont été formulées quant à cette variabilité. (1) Les composés extracellulaires induisent en plus des PST des surcoûts énergétiques importants et (2) les huîtres qui ont déjà

été en contact avec des algues toxiques sont plus résistantes aux PST.

Dans le chapitre suivant, le modèle DEB-PST va être utilisé à travers une approche exploratoire pour répondre à la problématique qui porte sur l'accumulation différentielle de PST par les huîtres diploïdes et triploïdes. Pour ce faire, différents scénarios vont être mis en place dans le but de comparer l'accumulation en PST selon la ploïdie. Dans ces scénarios, l'effet de la masse, de l'âge, de la gamétogenèse et de la ponte sur la différence d'accumulation entre les diploïdes et les triploïdes va être évalué.

Chapitre 6

Huître diploïde vs triploïde : qui accumule le plus de PST ?

Diploid or triploid oyster: which one accumulates the most PST?

Émilien POUSSE, Jonathan FLYE-SAINTE-MARIE, Marianne ALUNNO-BRUSCIA,
Hélène HÉGARET, Fred JEAN.

Abstract

The aim of this study was to assess differential accumulation of PST between diploid and triploid oysters, through the study of different scenarios modeled through a DEB model. For this purpose, four different scenarii with different environmental conditions and oyster status were implemented. PST accumulation in diploid and triploid oysters of (1) the same mass and (2) the same age were compared facing the same algal bloom of *A. minutum*. (3) Diploid and triploid oysters of the same age and with comparable mass were also virtually exposed to an identical natural and artificial (i.e. non-natural period for *A. minutum* bloom) bloom of *A. minutum* during respectively gametogenesis stage and resting stage. Diploid and triploid oyster growth and PST accumulation were simulated and the impact of a spawning in diploids between these two latter exposures was evaluated. Finally, (4) the effect of spawning date on PST accumulation kinetic was also investigated. Results show that in most situations, triploid oysters accumulate more PST than diploids. However, this trend can reverse if spawning occurs in diploid oysters during the gametogenesis cycle prior to algal exposure, leading to a loss of body mass, thus concentrating PST in a lower body mass and therefore increasing the toxin body burden. Simulations also illustrate that oysters accumulate more during resting stage while their reserves are low, also associated with the smaller body mass and the lower dilution factor.

Keywords:

Modeling ; *Alexandrium minutum*; Paralytic shellfish toxins ; Accumulation ; DEB ; Pacific oyster ; Triploid.

6.1 Introduction

Dynamic energy budget (DEB) theory (Kooijman, 2010) describes energy and mass fluxes within individuals through a mechanistic approach. This theoretical framework gives principles based on thermodynamic and biologic processes to model energy budget as a function of environmental conditions. Thus energy allocations to growth, reproduction or maintenance are defined quantitatively to allow a dynamic description of three main compartments (reserves, structure and reproduction or development). Among the important quantity of species studied by means of this theory, the model dedicated to the Pacific oyster *Crassostrea gigas* was successively refined and improved (Ren and Ross, 2001; Pouvreau et al., 2006; Boulès et al., 2009; Alunno-Bruscia et al., 2011; Bernard et al., 2011; Thomas et al., 2016). The latest version of this model (Bernard et al., 2011) includes a fourth state variable standing for the gonad compartment, which allowed to further study and reproduce accurately the spawning process for this species according to environmental forcings (Alunno-Bruscia et al., 2011; Thomas et al., 2016). As mechanistic models based on a robust theory, DEB models can be used in exploratory contexts to study biologic processes in different scenarios of environmental conditions (Montalto et al., 2014; Thomas et al., 2016; Gourault et al., in prep.). In a theoretical and exploratory approach, Normand (2009) applied the Pacific oyster DEB model to triploid oysters. These oysters are produced in hatcheries by crossing gametes of diploid (femelle) and tetraploid (male obtained in the laboratory) individuals (Benabdelmouna and Ledu, 2007). Triploid oysters are known to allocate more energy to growth and less energy to reproduction, leading to limited or inexistent spawnings (Allen and Downing, 1986; Piferrer et al., 2009). With high growth rate and low gametogenesis, triploid oysters present an important commercial interest. They allow to decrease rearing periods and can be commercialised all year round, since oysters in gametogenesis are generally not appreciated by human consumers in the summer due to their milky consistence. Triploid oysters have also been shown to be generally more resistant to diseases and associated summer mortalities (Nell, 2002; Gagnaire et al., 2006). Triploid oysters are thus widely used in oyster farming.

Both diploid and triploid oysters can accumulate paralytic shellfish toxins (PST). These toxins are synthesized mainly by micro-algae of the genus *Alexandrium*, which is found in many environments, and sometimes in high densities. Filter-feeder bivalves, such as oysters, feed by clearing seawater from their particles, and can therefore accumulate high loads of PST. Primary consumers are generally rather resistant to these toxins (Bricelj and Shumway, 1998) contrary to secondary consumers, human included, for whom mortalities have been reported recurrently (Coulson et al., 1968; Geraci et al., 1989; Shumway et al., 1990; Turner and Tester, 1997). National sanitary services thus pay a particular attention to

these toxins, their transfer within the food chain and the different vectors of poisoning (Etheridge, 2010). Accordingly, monitoring programs were developed all around the world, with in most concerned countries a sanitary threshold of $80\mu\text{g}$ saxitoxin (STX) equivalent 100g^{-1} of fresh meat (Fernández et al., 2003) above which harvesting closures and sale restrictions are proclaimed. Inter-specific variability of PST accumulation in bivalves is well documented (Shumway and Cucci, 1987; Bricelj et al., 1996; Bricelj and Shumway, 1998; Sekiguchi et al., 2001; Sagou et al., 2005; Hégaret et al., 2007a; Contreras et al., 2012), however, very little information is available on intra-specific variability, which also seems to be important (Bricelj et al., 2005; Pousse et al., in rev.).

Oyster ploidy seems to be a factor of variability on PST accumulation. Haberkorn et al. (2010a) observed that PST accumulation in triploid oysters was almost twice as much as in diploids during the gametogenesis period (april and mid-may). Guéguen et al. (2012) reported similar results at the peak of sexual maturation, but did not observe any difference between diploids and triploids during resting stage. Gametogenesis thus appears to play a role in accumulation, which still remains unclear, since the study of three triploid classes (Jouaux et al., 2010) allocating different energy amounts to gametogenesis did not highlight any link between PST accumulation and reproduction investment (Hermabessiere et al. (2016). Spawning could also have an effect on PST content in bivalves, but so far, this has not been investigated at all. Causes and underlying processes explaining these differences in accumulation between diploids and triploids thus seem to be complex. Taking into consideration the widespread use of triploids in oyster farming and the hazardousness of PST, a better understanding of the factors inducing different PST between diploids and triploids appears necessary.

The high growth rate of triploids complicates experimental comparisons since a choice has to be made between comparing oysters of the same size or the same age when comparing diploids and triploids. Each choice may however involve some bias. By comparing individuals of the same sizes, oysters could not have exactly the same life history, nor the same age. Comparing individuals of the same ages, the gap in size will induce differences in feeding and thus mask the accumulation signal due to ploidy. In such cases, a modeling approach could be valuable as it allows to realize this comparison through exploratory scenarios.

The present chapter aims at further exploring this problem. It is based on the DEB-PST model presented in chapter 5. The effects of environmental forcings, oyster physiological conditions and spawning will be tested in order to identify factors susceptible to influence the differences in PST accumulation between diploids and triploids.

6.2 Material and methods

6.2.1 Model

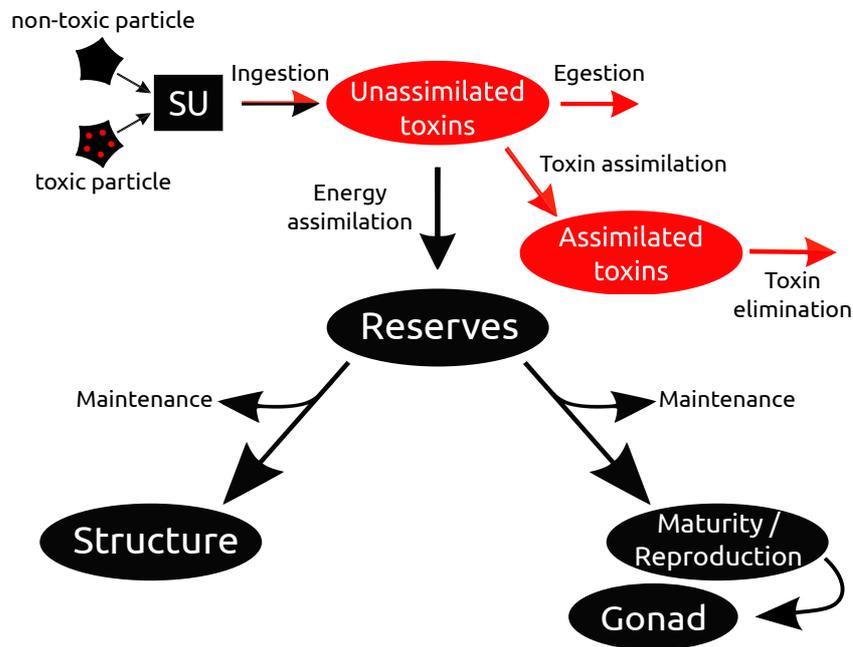


FIG. 39 – Conceptual scheme of DEB-PST model. Ovals correspond to state variables and arrows to fluxes. Black items are describing energy amounts and fluxes, red ones are expressing amounts and fluxes of energy.

DEB-PST model Model used was described in the chapter 5; its conceptual scheme is illustrated in figure 39. Equations allowing to quantify and predict spawning, as described by Pouvreau et al. (1999), were further investigated in order to assess the effects of spawning on PST accumulation. These authors identified two conditions, which have to be completed together to trigger spawning: the crossing threshold of (1) the gonado-somatic index (GSI), corresponding to the mass ratio of gonad on the whole body (Pouvreau et al., 2006) and (2) a specific temperature. These two thresholds are respectively called $GSI_{spawning}$ and $T_{spawning}$, their values are presented in table 8. Once these two thresholds are reached together, the buffer E_{GO} is fully emptied and further filling becomes possible. In cases where these two conditions are not satisfied, spawning does not occur and the energy present in the gonad can be absorbed. Gonad and gametes have been demonstrated to accumulate only 3 % of the whole body PST content in *C. gigas* (Hégaret, pers. com.). As a result of this insignificant amount, spawning cannot be considered as a main way of toxin elimination and has been neglected in the model. Results of chapter 5 led to contradictory results about the effects of PST on energy balance, with significant effects in laboratory but small effect in the field. In addition, it is likely that triploid and diploid oysters are affected differently by these toxins,

Tab. 8 – Parameter set corresponding to spawning and triploid oysters. Symbol, value, unit and source of each parameter are detailed.

Description	Symbol	Value	Unit	Origin
Spawning parameters				
Gonado-somatic index threshold	$GSI_{spawning}$	0.475	–	Gourault et al. (in prep.)
Temperature threshold	$T_{spawning}$	18.7	°C	Gourault et al. (in prep.)
Triploid parameter				
Energy fraction allocated to soma in triploid	κ	0.71	–	Normand (2009)
Algae parameters				
Dry mass of field non-tox. alg.	M_X	$2 \cdot 10^{-10}$	$g_{dw} \cdot cell^{-1}$	Chapter 5
Dry mass of <i>A. minutum</i>	M_Y	$9.4 \cdot 10^{-10}$	$g_{dw} \cdot cell^{-1}$	Reynolds (2006)
Yield of reserve of field non-tox. alg.	y_{EX}	0.5	$g_{dw} \cdot g_{dw}^{-1}$	Chapter 5
Yield of reserve of toxic alg.	y_{EY}	0.14	$g_{dw} \cdot g_{dw}^{-1}$	Chapter 5
STX amount per energy unit in a tox. alg. (2013)	ρ_{PST}	0.165	$\mu g_{STX} \cdot J^{-1}$	Chapter 5
STX amount per energy unit in a tox. alg. (2014)	ρ_{PST}	0.055	$\mu g_{STX} \cdot J^{-1}$	Chapter 5

as it is supposed facing to summer mortalities (Gagnaire et al., 2006). For these two reasons, we chose to do not take into account the PST effects in the present study. Because inter-individual variability in triploid oyster accumulation is not well described, we did not took into account this source of variability in the present chapter.

Triploid model A first step toward the adaptation of the oyster DEB model to triploid oysters have been proposed by Normand (2009). For this purpose, and based on the observation that reproductive effort is 47 % lower in triploids than diploids, the parameter κ was increased accordingly in triploid oysters (Normand et al., 2009, value given in table 8) and for parsimony purpose we chose to keep all other parameters values equal between diploid and triploid. With such a κ value, it can be predicted that less energy will be allocated to reproduction and more to structure (soma) in triploids. Thus as observed, the model should predict higher growth rate in triploid oysters.

Initial conditions Initial conditions of the four state variables structure, reserves, maturity/reproduction and gonad (V , E , E_R , E_{GO} respectively, see equations details in chapter 5.2.4 p.109) were calculated for diploids from equations detailed in chapter 5. Initial E_{GO} was supposed to be null for the simulations beginning from december to may. Density of reserves (e) was fixed as a function of the season (0.2 in winter, 0.4 in spring, 0.7 in summer). Initial amounts of energy in compartments E_R and E_{GO} for triploids were equal to 53 % of the one of diploid, as they invest 47 % less energy to reproduction (Normand et al., 2009). The remaining quantity of energy was added to the reserves compartment. Energy amount in structure compartment (V) was identical between diploids and triploids.

6.2.2 Forcing variables

In the DEB-PST model, three environmental conditions are used as forcing variables: temperature, concentration of non-toxic algae and concentration of toxic algae. To deal with realistic values, environmental data measured weekly throughout the years 2013 and 2014 in the bay of Brest (France) were selected. Concerning the temperature, data were recorded weekly through a CTD probe by the SOM-LIT network at the site "Sainte-Anne". Measurements of algal concentrations were performed weekly by the company AEL plancton at the site "Pointe du Château", Daoulas. The STX amount per energy unit in a cell of *A. minutum* (ρ_{PST}) was considered from values calibrated on the field experiments detailed in chapter 5. Thus, ρ_{PST} was equal to $0.165 \mu\text{g STX J}^{-1}$ for 2013 bloom and $0.055 \mu\text{g STX J}^{-1}$ for 2014 bloom.

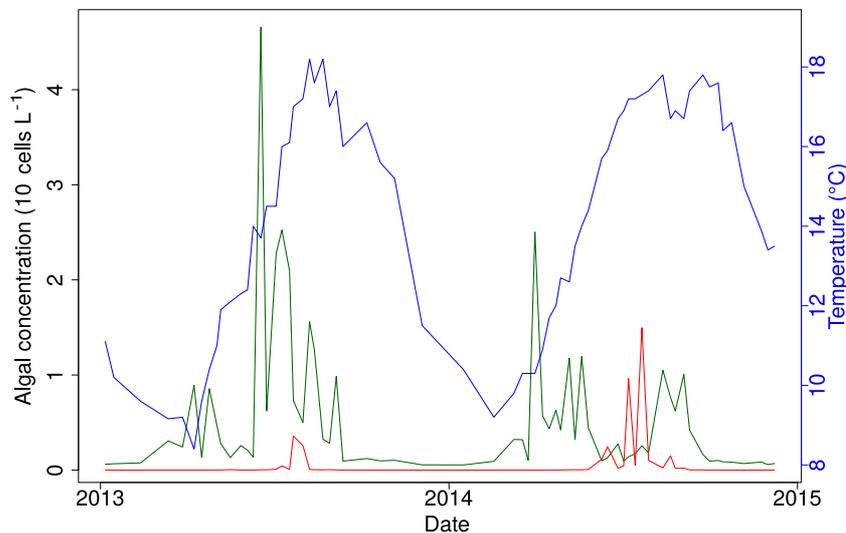


FIG. 40 – Environmental conditions measured in 2013 and 2014 used as forcing variables. Green, red, blue lines are respectively corresponding to non-toxic algal concentration, *A. minutum* concentration and temperature.

6.2.3 Scenarios

Different scenarios have been implemented in order to study and compare PST accumulation in diploid and triploid oysters. Oysters of (1) the same mass, (2) the same age (3) the same age and mass will be compared and (4) the spawning effect will be investigated.

Same mass To compare individuals with the same masses, simulations were made from the beginning of the *A. minutum* bloom (18/07/2013) that occurred in 2013, to prevent any drift between diploid and triploid oyster masses due to the different values of κ . At the time of this *A. minutum* exposure, oysters were in an intense

gametogenesis stage. Eight diploid individuals and eight triploid individuals with the same initial dry mass (0.6 to 2 g) and length (3 to 8 cm) were simulated. These masses and lengths correspond to the smallest marketable sizes.

Same age To compare individuals of the same age, 3 spat triploid and 3 spat diploid oysters of masses (0.03, 0.06 and 0.09 g of dry flesh mass) and lengths (2.4, 2.8 and 3.2 cm of shell length), corresponding to individuals of approximately three month-old were simulated. Growth was simulated during a 2-years period (from 6 of january 2013 to 8 of december 2014) where two different episodes of *A. minutum* blooms were simulated (those of summer 2013 and 2014). Triploid and diploid individuals thus have the same age, but differentiate in mass over time because of the different values for the parameter κ .

Same age and comparable mass Growth and PST accumulation of diploid and triploid oysters were simulated from spat size during 450 days with the environmental conditions of years 2013 and 2014. Data available for these years indicate that the temperature did not exceeded the spawning threshold (19 °C). Our simulations indicated that with no spawning, differences in mass between diploids and triploids of the same age increased during the summer and decreased during fall and winter (resting stage). PST accumulation was compared during the resting stage that corresponds to a period where diploid and triploid present close dry flesh masses. However, since *A. minutum* does not bloom at this time of year, the environmental conditions (non-toxic algae concentration, *A. minutum* concentration and temperature) of the 2013 summer bloom were repeated during this period. This scenario allows (1) to compare PST accumulation between diploid and triploid oysters of the same age and of comparable mass, and (2) to investigate the effect of a reproduction cycle on accumulation. Oyster initial conditions and simulations starting date were identical than in the previous scenario. This scenario is divided in two sub-scenarios.

- The first sub-scenario is based on the natural environmental conditions of years 2013 and 2014.
- The second sub-scenario aims to investigate the effect of a natural spawning on PST accumulation in oysters of the same age and a comparable mass during their resting stage. For this purpose, the temperature was set to 19 °C during only one time step (1 hour) the 25 August in order to trigger a spawning event in diploid oysters. As observed naturally, only diploid oysters spawned since the high value for κ attributed to triploid oysters did not induced a sufficient gonado-somatic index to trigger a spawning.

Spawning effect Since data describing the effect of spawning on PST accumulation is very scarce, we simulated spawning events at different times during an *A.*

minutum bloom, in order to observe the effect of spawning on PST accumulation and compare it in diploid and triploid oysters. To get free from the incidence of initial conditions, growth and PST accumulation during a whole gonadal development cycle, occurring from april to september, were simulated. In the considered area (Bay of Brest), temperature is the restricting factor for spawning, contrary to the GSI threshold, which is reached every year. In these hypothetical scenarios, temperature was elevated to distinct levels to induce spawnings at different periods of the accumulation kinetics. Four scenarios were implemented:

- (A) No spawning (natural environmental forcings)
- (B) Spawning before *A. minutum* bloom. (+ 1.6 °C)
- (C) Spawning at the peak of accumulation. (+ 1.2 °C)
- (D) Spawning during detoxification stage. (+ 0.5 °C)

In order to simulate different spawning dates, the temperature of the water, corresponding to the forcing variable was modified in the model. Effect of this increase on PST accumulation simulations has been tested and is negligible (data not shown).

6.3 Results

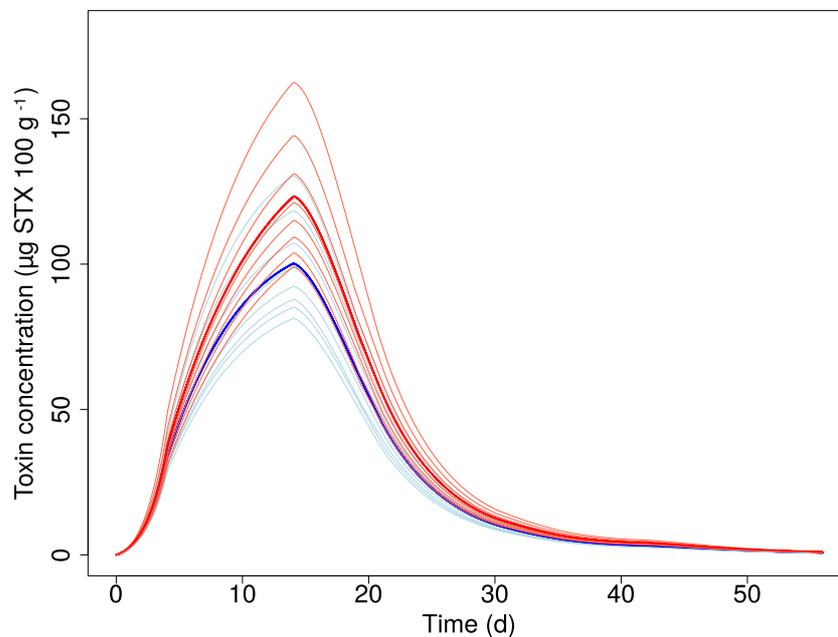


FIG. 41 – Comparison of the mean PST accumulation of 8 identical triploid and diploid oysters directly exposed to an *A. minutum* bloom. Initially, diploid and triploid oyster dry flesh masses and shell lengths were identical (from 0.6 to 2 g and 3 to 8 cm). Blue and red lines are respectively corresponding to diploid and triploid average accumulation. Light blue and light red lines represent the individuals simulated (blue: 2N; red: 3N). Environmental forcings are corresponding to measurements made in the bay of Brest (France) from 18 of July to 12 of September 2013.

Same mass Simulation of diploid and triploid individuals of identical mass is shown in figure 41. After 5 days of exposure, to toxic algae, PST accumulation between diploid and triploid oyster differed. Mean PST accumulation is then higher in triploids, however, they both need approximately the same time to totally deplete.

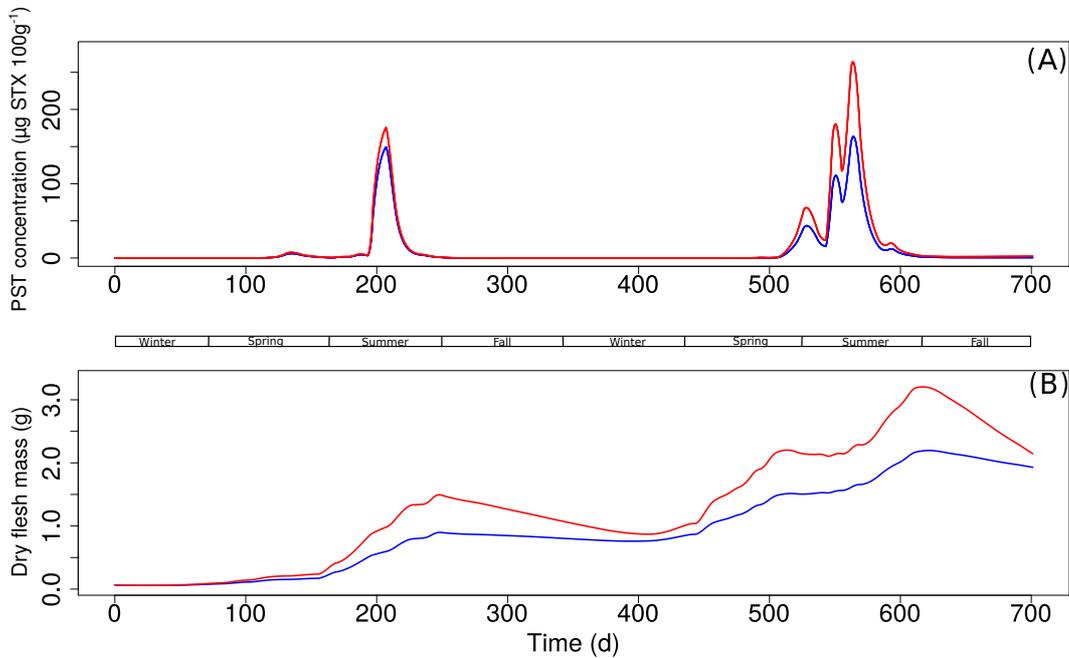


FIG. 42 – Comparison of the mean paralytic shellfish toxins accumulation (A) and growth (B) of 3 identical triploid and diploid oysters of the same age over a 2-years period during which two *A. minutum* blooms occurred. Initially, diploid and triploid oyster dry flesh masses and shell lengths were identical (from 0.6 to 2 g and from 3 to 8 cm). Blue and red lines are respectively corresponding to diploid and triploid average PST accumulation and dry flesh mass. Environmental forcings are corresponding to measurements made in the bay of Brest (France) from 6 of January 2013 to 8 of December 2014.

Same age Simulation of the comparison between diploid and triploid individuals of the same age was first performed. Growth and PST accumulation simulated from a spat size are presented in figure 42. With an increased κ for triploids, diploid and triploid dry flesh masses differentiated over the 2 years of simulation (Fig. 42, B). During the first *A. minutum* bloom (days 180 to 240), PST accumulation appeared slightly higher in triploids (Fig. 42, A). During the second *A. minutum* bloom (days 510 to 580), triploids still accumulated more PST and the difference is much more pronounced. The comparison of these simulations of accumulation with growth simulations highlights that the gaps in dry flesh mass do not appear to be linked with the divergence in PST accumulation between diploid and triploid. Differences in dry flesh masses are approximately identical when the two *A. minutum* blooms occurred, however differences in PST accumulation has increased from the first (triploids accumulate 1.2 times more than diploids) to the second bloom (triploids

accumulate 1.5 times more than diploids).

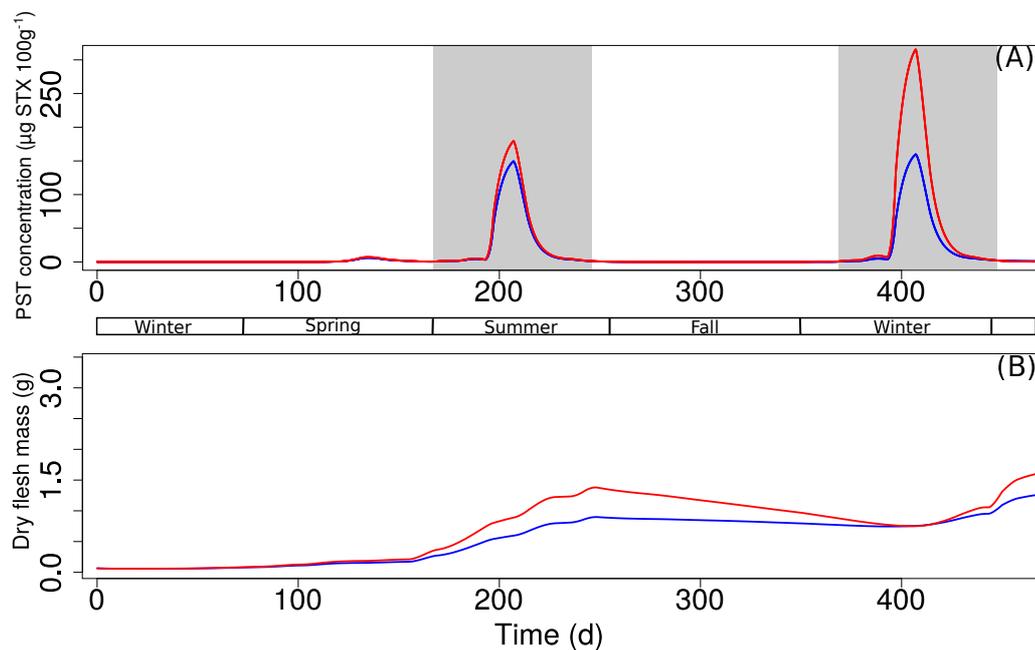


FIG. 43 – Sub-scenario 1: simulation of the mean paralytic shellfish accumulation (A) and growth (B) of triploid and diploid oysters of the same age over a 1-year period face to two identical *A. minutum* blooms during gametogenesis and resting stage. Environmental forcing correspond to conditions observed in bay of Brest (France) from 6 of January 2013 to 1 of April 2014. Additionally, environmental conditions measured during the *A. minutum* bloom of days 180 to 240 (left gray area, A) were repeated during oysters resting stage from days 380 to 440 (right gray area, A). Blue and red lines are respectively corresponding to diploid and triploid average PST accumulation and dry flesh mass. Initially, diploid and triploid oyster dry flesh masses and shell lengths were identical (from 0.6 to 2 g and from 3 to 8 cm).

Same age, comparable mass PST accumulation was compared between diploid and triploid oysters during intense gametogenesis stage (summer) and resting stage (winter), where diploid and triploid dry flesh masses are similar. It should be noticed that during year 2013, temperatures recorded did not exceeded the temperature threshold triggering the spawning. Thus, no mass loss due to spawning has been simulated in figure 43 (B). Whatever the reproductive period, diploid oysters accumulate approximately the same amount of PST ($150 \mu\text{g STX } 100\text{g}^{-1}$ in gametogenesis stage, $158 \mu\text{g STX } 100\text{g}^{-1}$ in resting stage) (Fig. 43; A). In contrast, triploids accumulate PST amounts very different as a function of reproductive stage. During the first bloom (gametogenesis), PST concentration was close to the one of diploid ($178 \mu\text{g STX } 100\text{g}^{-1}$), however, in resting stage a mean of $314 \mu\text{g STX } 100\text{g}^{-1}$ was accumulated by triploids.

In order to assess the effect of spawning on PST accumulation, a spawning event was triggered in diploids between the two exposures to *A. minutum* performed in the previous scenario (Figure 44). Spawning occurred in at the end of summer (mid-

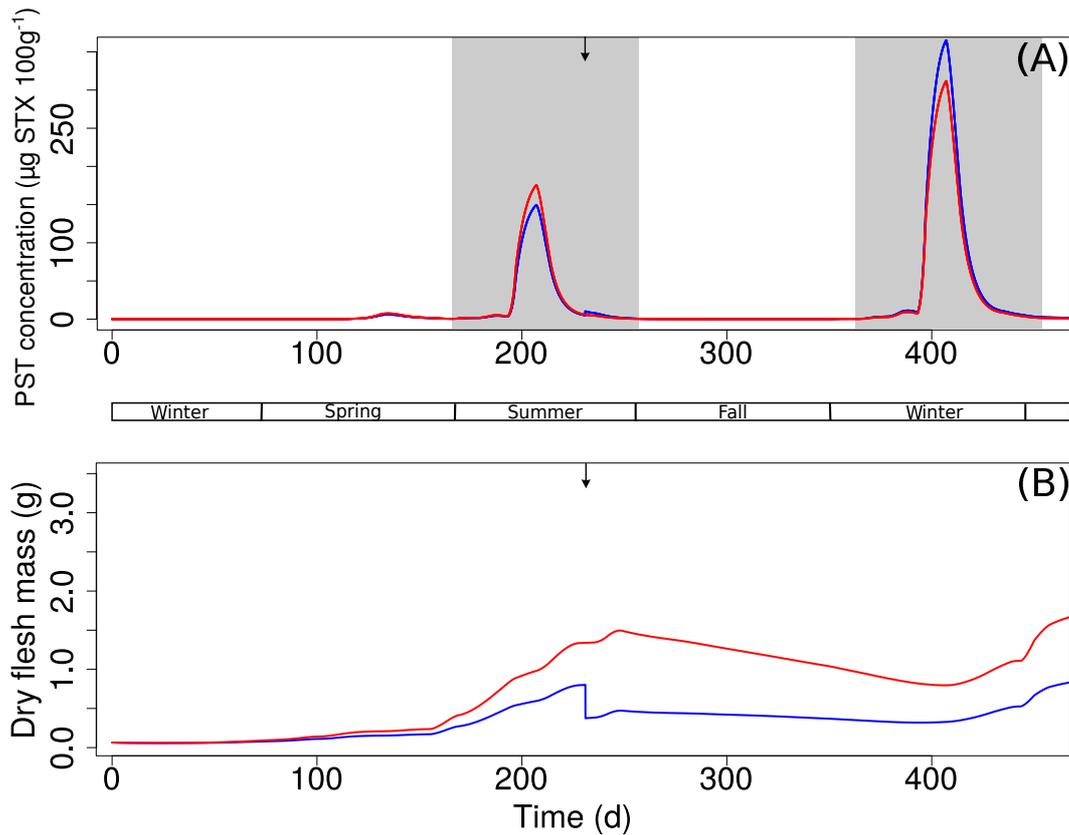


FIG. 44 – Sub-scenario 2: comparison of the mean paralytic shellfish accumulation (A) and growth (B) of triploid and diploid oysters of the same age and a comparable mass, over a 1-year period face to two identical *A. minutum* blooms during gametogenesis and resting stage, with a spawning having occurred in summer for diploids oyster. Environmental forcing correspond to conditions observed in bay of Brest (France) from 6 of January 2013 to 1 of April 2014. Additionally, environmental conditions measured during the *A. minutum* bloom of days 180 to 240 (left gray area, A) were repeated during oysters resting stage from days 380 to 440 (right gray area, A). Blue and red lines are respectively corresponding to diploid and triploid average PST accumulation and dry flesh mass. Initially, diploid and triploid oyster dry flesh masses and shell lengths were identical (from 0.6 to 2 g and from 3 to 8 cm). Spawning was triggered by setting the temperature to 19 °C at one time step in August. Spawning is illustrated by a black arrow.

August) as is visible by the decrease in dry flesh mass simulated in diploid oysters (Figure 44, B). PST accumulation in diploid and triploid oysters during the first natural bloom (prior to diploid oyster spawning) remained identical to the first sub-scenario. In contrast, this spawning event greatly impacted the PST accumulation of diploid oysters during the resting stage, i.e. during the second bloom event (Figure 44, A). While diploids accumulated $158 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$ without spawning (Figure 43, A), the mean PST concentration in diploids more than doubled after the spawning ($363 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$), exceeding the mean concentration of triploid oysters.

Spawning effect Simulations obtained from the DEB-PST model indicated that spawning modifies importantly PST concentration in oysters. Chosen strategy to simulate different spawning date was to modify the temperature. Without spawning the model predicted a higher accumulation in triploids than in diploids (Fig. 45, A). However, spawning could inverse this trend whatever the moment when spawning occurs (Fig. 45, B,C,D). After the spawning, diploids tend even to accumulate more than triploids. A more worrisome ascertainment could be done in Fig. 45 (C). Diploids accumulate important quantities until the spawning ($< 100 \mu\text{g STX } 100 \text{ g}^{-1}$); after the occurring of this last, PST content has more than doubled, exceeding widely the sanitary threshold ($80 \mu\text{g STX } 100 \text{ g}^{-1}$).

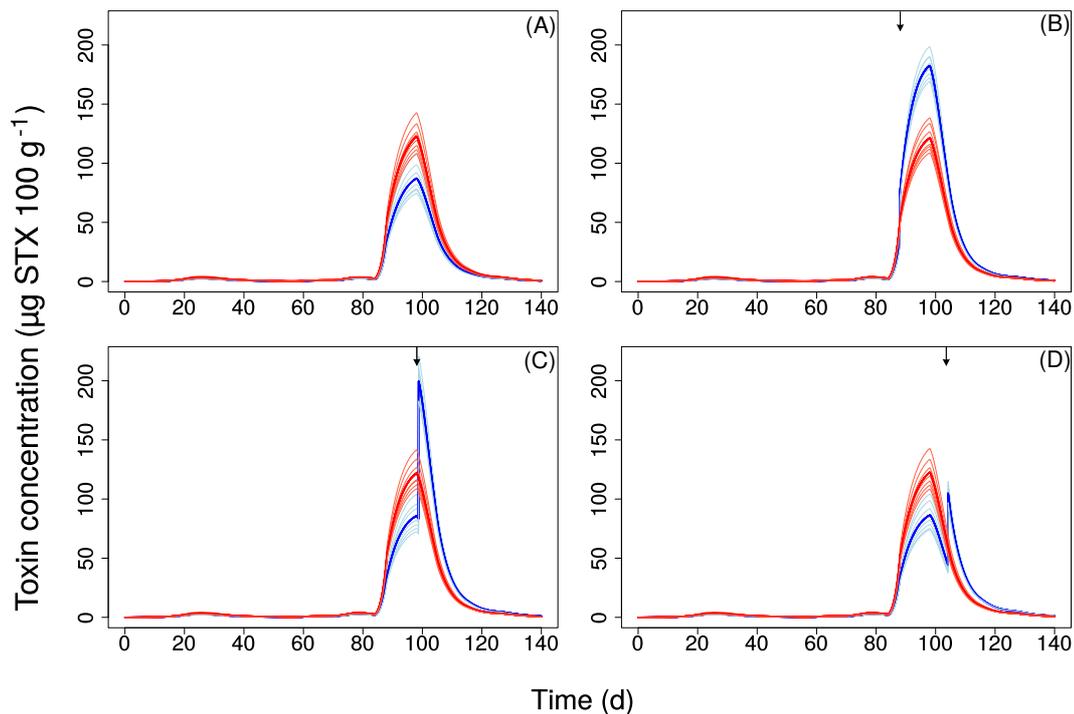


FIG. 45 – Comparison of the mean PST accumulation and spawning effect on this last of 8 identical triploid and diploid oysters during a whole gonad cycle development. Four scenarios are: (A) No spawning (natural conditions); (B) Spawning during detoxification stage ($+0.5 \text{ }^\circ\text{C}$); (C) Spawning at the peak of accumulation ($+1.2 \text{ }^\circ\text{C}$); (4) Spawning before *A. minutum* bloom ($+1.6 \text{ }^\circ\text{C}$). Blue and red lines are respectively corresponding to diploid and triploid average accumulation. Light blue and light red lines represent the individuals simulated (blue: 2N; red: 3N). Arrows illustrate spawning events. Initially, diploid and triploid oyster dry flesh masses and shell lengths were identical (from 0.6 to 2 g and 3 to 8 cm). Environmental forcings are corresponding to measurements made in the bay of Brest (France) from 25 April to 12 september 2013.

6.4 Discussion

Understand accumulation basing on DEB energy balance The DEB energy balance (Kooijman, 2010) allows to better understand differences in PST accumulation

between diploid and triploid oysters. PST toxification occurs through the ingestion, a function proportional to structural surface ($V^{2/3}$; Kooijman, 2010). In the present model, detoxification is supposed to be equal between diploids and triploids. The last factor influencing PST concentration is the dilution in total flesh biovolume, which corresponds to the sum of the structure, reserves, energy allocated to reproduction and gonad (V, E, E_R, E_{GO}) volumes. Individuals presenting a high ratio of structure on total volume (or mass) will concentrate faster PST, while individuals with low ratio of structure on total volume, (i.e. with an important quantity of reserves and/or gonads) will concentrate less PST. Compared to diploids, triploids that have a higher κ , grow faster in structure and allocate less energy to reproduction. Thus their ratio of structure on total volume is generally higher to the one of diploids. On an annual scale, the difference between diploid and triploid structural ratio is widening during gametogenesis and resting stage if no spawning occurred the previous summer (Fig. 43). However, after a spawning event in diploids, this ratio becomes comparable with the one of triploids, until a new gametogenesis cycle begins (Fig.44).

Comparison diploid versus triploid This modeling approach allowed to explore the differences or similarities in PST accumulation between triploids and diploids. Although the DEB model for triploid oysters still need to be validated on growth data, the order of magnitude observed in our results for PST accumulation are coherent with those reported in the literature (Haberkorn et al., 2010a; Guéguen et al., 2012). However, results may be closely linked to the individual mass and the gametogenesis state of the oysters. In this study we tried to identify conditions that can influence the differential accumulation between diploid and triploid oysters. Haberkorn et al. (2010a) observed that triploids accumulated about twice more than diploids in April and May. This difference is thus higher than the prediction of our model since the higher difference between triploids and diploids we found was only of a factor 1.5 (Fig. 43). It should be noticed that in their experiment, Haberkorn et al. (2010a) used triploid oysters smaller than diploids, (0.94 g against 1.27 g in average). Our model allows to give an explanation for this discrepancy: size differences probably contributed to increase the differences in PST accumulation between diploids and triploids. Indeed, ingestion, which drives toxin intake (Pousse et al., in rev., chap 1), is proportional to structural size, toxin intake (proportional to surface) will dilute in an higher volume (surface to volume ratio decrease with size). For this reason, smaller individuals are susceptible to reach higher concentrations (Aalvik and Framstad, 1981; Bricelj and Shumway, 1998). Results presented in (Farrell et al., 2015) show that diploids tend to accumulate significantly more than triploids, at the early stage stage of gametogenesis. However, diploid were twice smaller than triploid (4.9 g versus 10.01 g in average), it is likely that this important difference in mass contributed to difference in accumulation.

Guéguen et al. (2012) experimentally compared PST accumulation in diploid and triploid oysters during both gametogenesis (early summer) and resting stage (early winter). Triploids accumulated more than diploids during gametogenesis stage, while no difference was reported during resting stage. As illustrated in figure 44 (A), the spawning could be responsible for this difference. With a mass loss that can reach half of the total mass, as simulated, in figure 44 (B) and more generally by models describing Pacific oyster spawning (Bourlès et al., 2009; Alunno-Bruscia et al., 2011; Thomas et al., 2016; Gourault et al., in prep.), this process has the effect of concentrating toxins in a smaller biovolume thus increasing PST concentration. PST concentrations in diploids and triploids are thus expected to be similar during the whole resting stage if a spawning has occurred, whereas if no spawning occurs in diploid oysters, the dilution factor of toxins in diploids is higher (due to the presence of gonads) and the PST concentration in triploids is higher, as simulated in figure 43. As triploids allocate less energy to reproduction, a low variation was expected between "gametogenesis" stage (summer) and resting stage (winter). However, results of figure 43 do not seem to validate this hypothesis. Triploid oysters, because of their important κ value, rapidly increase their structure when environmental conditions are favourable (spring to early fall). At the end of summer, their structure and reserves are at their annual peak (Normand, 2009). Since they have an important structure, their maintenance costs (i.e. needed energy to maintain homeostasis, taken to be proportional to the structural volume) are also important. Thus, when the food ability becomes limiting in winter, triploid oysters mobilize energy stored in the few of gametes they have and from reserves in order to pay the important energetic costs. This pattern explains why in winter triploids shrink faster than diploids (Normand et al., 2009). As a consequence, during winter, triploid oysters are constituted almost exclusively of structure. This induces an important toxin intake combined with a dilution in a small biovolume, thus leading to accumulation of high PST concentrations. Although age seems to affect the difference in PST accumulation between triploids and diploids since the difference increases between year 1 and 2 (Fig. 42). This effect is a consequence of differences in mass due to the fast increase in structure of triploids. During the first year, the difference in structure and thus in accumulation was very small, while one year later, structure of diploid and triploid oysters differed significantly explaining why discrepancies in accumulation widened.

Considerations for monitoring programs This study highlighted two main processes that import for monitoring programs of PST accumulation in bivalves. First, our simulations confirmed what was previously observed experimentally : triploids accumulate more than diploids (Haberkorn et al., 2010a; Guéguen et al., 2012). The proportion of triploid oysters in the total French oyster farming was estimated in 2012 to 30-50 % (Guéguen et al., 2012). Samplings and toxin measure-

ments performed by monitoring programs to prevent human intoxications should thus take into account the ploidy in their results. Indeed, during a natural *A. minutum* bloom, even if PST concentrations in diploids are below the sanitary threshold ($80 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$), triploid oysters could exceed the sanitary threshold. Inversely, if sale closures are only based on triploids, corresponding to the expected maximum PST concentrations, oyster farmers producing only diploid oysters would not be allowed to sell their production, while their oysters may have accumulated below the sanitary threshold. Some adjustments could thus be made considering the methods of sanitary monitoring.

On another hand, this study showed that spawning could have an important effect on PST accumulation. None of the results presented in the literature have quantified this effect, however results of Galimany et al. (2008b) are in accordance with the model predictions. During their experimentations, authors observed a massive spawning event in one of the tanks containing mussels exposed to blooms of *Alexandrium fundyense*, a PST producer. Authors reported that mussels which spawned were more affected (mortalities were observed) than others. According to the equation of PST effects on energy maintenance detailed in the previous chapter (section 5.2.1, p. 104) and based on ecotoxicology modeling studies (Jager and Zimmer, 2012), these effects are proportional to the internal concentration. Thus in coherence with our model, mussels are more affected would indicate, more concentrated mussels likely due to the spawning. It would be worthwhile to confirm this hypothesis in a dedicated experiment. The oyster spawning date has to be closely monitored since this event increases the PST concentration in diploid oysters (by a factor 2, Fig. 45). In France scale, since spawning events in the coldest areas, such as in the bay of Brest, generally occur after *A. minutum* blooms (august-september; Bernard et al., 2011; Gourault et al., in prep.), while oysters have generally totally depurated from PST, it should not have any effect on PST accumulation in oysters. In contrast, in warmer areas, such as Thau lagoon or Arcachon Basin, oyster spawning occurs earlier (respectively in June-July, Pouvreau et al., 2006 and July, Maurer et al., 2013), when toxic algae are present in the seawater or even before *A. minutum* bloom outbreaks (Lassus et al., 2007; REPHY, 2017). In situation of a bloom occurring after spawning, oysters would accumulate higher amounts and reach higher concentrations faster. The more worrying situation is a spawning concomitant to *A. minutum* bloom (Fig. 45) since concentrations in bivalve fleshes might double in a very short time. Further studies would be needed to identify if, as suggested by Galimany et al. (2008b), toxic micro-algae could trigger the spawning. On a monitoring perspective, this process might have consequences. Considering the rapidity of this process, bivalves with PST content beyond the sanitary threshold might be commercialized, while no significant PST concentrations were reported a few days before. A network called "Velyger" is currently monitoring in France a lot of parameters linked to oyster reproduction

and spawning dates, crossing these informations with those of toxic phytoplankton monitoring would allow to identify risky situations.

6.5 Conclusion

This shows that modeling is a useful and complementary tool to experimental works. This allows to simulate scenarios quickly and without any biological or material constraints and further helps to drive experiments. We implemented various scenarios in order to find explore particular problems. One can also suggest to systematically perform simulations upstream to experimentations in order to improve experimental setup. This exploratory approach using theoretical simulations demonstrated that in most cases triploid accumulate more PST than diploid oysters. It also suggests that the spawning can strongly influence PST concentration in diploid oysters and this during the whole resting stage following spawning. The DEB-PST model developed in Pousse et al. (in rev.) and applied here clearly highlighted that oysters should accumulate more in resting stage than during gametogenesis, because of their high ratio of structure on whole biomass. If most of results presented in this study corroborate experimental observations, experimental works needs to validate the predicted effect of spawning on PST accumulation.

6.6 Acknowledgements

This study was carried out with the financial support of the French National Research Agency (ANR) "ACCUTOX" project (ANR-13-CESA-0019 2013–2017). This work is part of a PhD project supported by the "Laboratoire d'Excellence" LabexMer (ANR-10-LABX-19) and co-founded by a grant from the French government under the program "Investissement d'Avenir", and by a grant of the Regional Council of Brittany.

Synthèse

Seules trois études ont comparé l'accumulation en PST des huîtres (*C. gigas*) diploïdes et triploïdes. Chacune de ces études ont présenté des résultats différents, voire contradictoires. Haberkorn *et al.* (2010b) ont observé une accumulation généralement plus forte chez les triploïdes, contrairement à Farrell *et al.* (2015). Guéguen *et al.* (2012) ont montré pour leur part des tendances inverses selon la période de l'année. Cependant en raison du taux de croissance différent entre les diploïdes et les triploïdes, les individus ne diffèrent pas que par leur ploïdie, mais également par leur taille, ce qui est susceptible d'induire un biais dans l'interprétation des résultats. En se basant sur le modèle DEB-PST nous avons donc tenté d'identifier dans ce dernier chapitre les différents facteurs susceptibles de contribuer à la variabilité de l'accumulation en PST. Le modèle a ainsi été appliqué à différents scénarios où l'effet de la masse, de l'âge, du statut reproducteur et de la ponte a été évalué. Nos simulations tendent à indiquer que les triploïdes accumulent plus que les diploïdes, cependant cette tendance peut s'inverser après la ponte qui se déroule chez les diploïdes, et ce jusqu'à un nouveau cycle de gamétogenèse. Par ailleurs nous avons également pu mettre en évidence que le rapport structure sur biovolume total pouvait expliquer les variations d'accumulation en PST tout au long de l'année chez les diploïdes et les triploïdes.

Troisième partie
Conclusion générale

Chapitre 7

Synthèse

7.1 Synthèse

Produite dans plus d'une vingtaine de pays (Fig. 46), l'huître *C. gigas* est le bivalve le plus vendu à travers le monde (FAO, 2015). Cependant le secteur ostréicole doit faire face de façon récurrente à des crises importantes. Ainsi, la production française a été divisée par deux en l'espace de 20 ans (75 000 tonnes en 2015 contre 149 000 en 1996 FAO, 2015) suite à des maladies causant d'importantes mortalités au sein des élevages (Lacoste *et al.*, 2001 ; Garnier *et al.*, 2007 ; Segarra *et al.*, 2010). S'ajoute à ces maladies la problématique des efflorescences de micro-algues toxiques. Ces phénomènes sont de plus en plus rapportés ces dernières décennies (Fig. 46), obligeant les services sanitaires à interdire temporairement la vente de coquillages contaminés, ces derniers devenant toxiques pour l'homme suite à l'ingestion de ces micro-algues. Les toxines phytoplanctoniques, ou phyco-toxines, posent donc un problème sanitaire et économique majeur (Shumway, 1990). Le premier chapitre de cette thèse a été entièrement dédié à la caractérisation du contexte et au rappel de notions développées au cours de cette étude.

L'objectif de cette thèse était de développer un modèle permettant de décrire les cinétiques de contamination et de détoxification des PST faisant suite à l'ingestion de micro-algues toxiques du genre *Alexandrium* en lien avec le bilan énergétique de *C. gigas*. Outre la modélisation, cet objectif a également nécessité l'acquisition de données expérimentales. Les résultats présentés dans le chapitre 2 ont permis d'appréhender les sources de variabilité inter-individuelle qu'il existe chez *C. gigas* vis-à-vis de l'accumulation de PST. Bien que cette dernière ait été rapportée à plusieurs reprises dans la littérature (Haberkorn *et al.*, 2011 ; Mat *et al.*, 2013) aucune étude n'a décrit les mécanismes intrinsèques à cette variabilité. Nous avons donc mené une série d'expériences dédiées à cette problématique. Six expériences indépendantes ont ainsi été réalisées. Dans chacune d'elles, les taux de filtration, de respiration, le rythme cardiaque et l'efficacité d'assimilation ont été mesurés sur sept huîtres pendant deux jours alors qu'elles étaient nourries avec des micro-

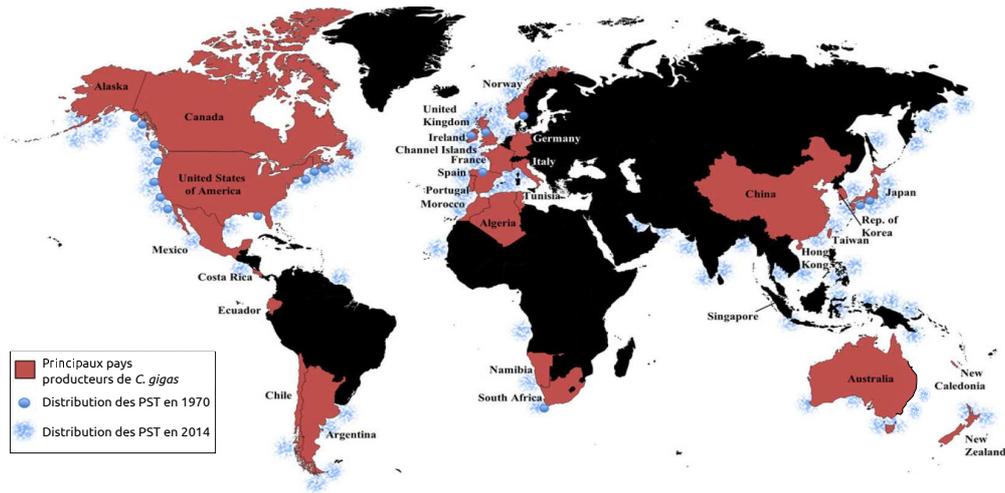


FIG. 46 – Distribution mondiale de la production de *C. gigas* (FAO, 2015) et des épisodes de blooms phytoplanctoniques produisant des toxines paralysantes en 1970 (Hallegraeff *et al.*, 2003) et en 2014 (Hallegraeff, 2014). Modifié d'après Farrell *et al.* (2015).

algues fourrages non-toxiques puis exposées à *A. minutum* les deux jours suivants. Les résultats de ce second chapitre ont mis en évidence une relation forte et linéaire ($R^2=0.78$, Fig. 12, p. 47) entre le nombre de cellules d'*A. minutum* filtrées et la concentration en PST accumulée. Nous avons donc pu établir le lien entre la variabilité inter-individuelle de l'accumulation de toxines paralysantes et le comportement de filtration en phase toxique, c'est-à-dire que certaines huîtres filtrent plus que d'autres lorsqu'elles sont exposées à *A. minutum*. Pour aller plus loin nous avons discriminé les huîtres étudiées en trois groupes grâce à une fonction de clustering, en se basant sur leur potentiel d'accumulation (i.e. concentration en PST accumulée par quantité de cellules d'*A. minutum* distribuée à chaque huître). En comparant les taux de filtration de ces groupes avant l'exposition, (nourries avec des micro-algues fourrages non-toxiques), nous avons pu observer que les huîtres qui présentaient un potentiel d'accumulation fort filtraient significativement plus que celles qui avaient un potentiel d'accumulation faible (Fig. 9, p. 45). Ce dernier résultat nous a ainsi permis d'émettre l'hypothèse qu'il existe une variabilité inter-individuelle dans la capacité de filtration intrinsèque des huîtres observable lorsque ces dernières ne sont pas confrontées à des micro-algues toxiques et en partie responsable de la variabilité observée dans l'accumulation des PST. En calculant un indice d'inhibition du taux de filtration correspondant au rapport entre le taux de filtration moyen lorsque des huîtres étaient exposées à des micro-algues non-toxiques et lorsque les huîtres étaient exposées à *A. minutum* après un jour d'acclimatation (*CRII*), nous avons pu mettre en évidence un lien entre ce ratio et l'accumulation en PST (*rho* de Spearman égal à 0.69; Fig. 10, p. 46). En d'autres termes, cela signifie que les huîtres réduisent de façon différente leurs taux de filtration lorsqu'elles sont exposées à *A. minutum*, affectant l'accumulation des PST. Ce

résultat a été discuté en invoquant des différences interindividuelles de sensibilité vis-à-vis de la toxine comme mis en évidence au sein d'autres espèces de bivalves (Bricelj *et al.*, 2005) ou à l'échelle interspécifique (Twarog *et al.*, 1972 ; Bricelj et Shumway, 1998). Enfin, l'efficacité d'assimilation de la toxine (*TAE*), ratio entre la quantité de toxines ingérée pour 100 g de poids frais et la concentration finale en toxines, mesurée à la fin de l'expérience, a été reliée positivement au potentiel d'accumulation (Fig. 13, p. 48). Deux hypothèses non-exclusives peuvent expliquer ces différentes valeurs de *TAE* observées entre les groupes : (1) les 3 groupes éliminent la toxine à des vitesses différentes (i.e. les huîtres avec un fort potentiel d'accumulation détoxiquent moins que celles avec un faible potentiel) ; (2) les différents groupes assimilent différemment la toxine. Nous avons ainsi pu mettre en évidence un lien étroit entre le processus de nutrition de *C. gigas* et l'accumulation de PST.

Pour aller plus loin dans l'analyse de ces groupes, le taux de respiration, le rythme cardiaque, l'efficacité d'assimilation ainsi que des paramètres biométriques ont également été mesurés dans l'expérimentation détaillée ci-dessus. Ces résultats sont présentés dans le chapitre 3. Les trois groupes ne présentaient pas d'efficacités d'assimilation différentes lorsqu'ils étaient exposés à *A. minutum*. En revanche, durant les deux jours précédents l'exposition à *A. minutum*, le groupe d'huîtres ayant un fort potentiel d'accumulation présentait une efficacité d'assimilation supérieure à celle du groupe "intermédiaire" (Fig. 16, p. 63). Par ailleurs, ces résultats ont aussi montré que les huîtres assimilaient *A. minutum* ($AE=67.5$) moins bien que les micro-algues fourrages (*T. lutea/C. muelleri*; $AE=73.2$). Le groupe à faible potentiel d'accumulation présente un taux de respiration significativement plus faible que le groupe intermédiaire pendant la phase non-toxique. Durant l'exposition à *A. minutum*, une différence significative d'un facteur 2 est visible entre le groupe "faible" ($0.21 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1}$) et les groupes "intermédiaire" et "fort" potentiel d'accumulation ($0.45 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1}$ chacun ; Fig. 17, p. 64). Le groupe "faible" potentiel d'accumulation présente également un rythme cardiaque significativement plus bas que le groupe "intermédiaire" aux jours 2 (micro-algues non-toxiques) et 3 (exposé à *A. minutum* ; Fig. 18, p. 65). Enfin, l'analyse des paramètres biométriques a mis en évidence que les huîtres du groupe à fort potentiel d'accumulation avaient une masse de chair fraîche significativement plus importante que les huîtres ayant un faible potentiel d'accumulation (Fig. 19, p. 66). À la lumière de ces résultats, nous avons pu mettre en évidence que le groupe à faible potentiel d'accumulation était métaboliquement moins actif que les autres autant pendant la phase non-toxique que toxique. À l'inverse, les données biométriques et d'assimilation suggèrent que le groupe à fort potentiel d'accumulation semble également posséder un taux de croissance plus élevé que les autres. Finalement, ce troisième chapitre aura permis de confirmer le fait que ces trois groupes possèdent une physiologie très différente. Bien que les groupes aient été réalisés d'après le potentiel d'accumulation, il semblerait que

ce caractère soit plutôt le résultat de phénotypes différents comme le montre les différences observées alors que les huîtres étaient en condition non-toxique.

Différentes études, montrent que la sélection alimentaire opérée par les bivalves peut affecter l'accumulation de toxines lorsque les bivalves sont à la fois exposés à des micro-algues toxiques et non-toxiques (Mafra *et al.*, 2009; 2010b ; Haberkorn *et al.*, 2011). En amont du modèle DEB décrivant l'accumulation des toxines, un "module" devait donc être développé afin de traiter de cette sélection entre *A. minutum* et des micro-algues non-toxiques. Le chapitre 4 a ainsi été dédié à la formalisation du concept complexe que représentent les Synthesizing Units (SU). Dans un premier temps, nous avons développé un modèle simple dans le but de retranscrire les différentes contraintes auxquelles devait répondre le système de SU utilisé. Des appétences spécifiques à chaque type de micro-algues (non-toxique et toxique) et une équation traduisant sommairement le phénomène de saturation ont ainsi été introduites. Le système de SU décrit par Lavaud *et al.* (2014) a ensuite été décortiqué pas à pas dans le but de clarifier son fonctionnement et d'identifier l'intérêt de chaque équation. Ceci nous a permis de mettre l'accent sur le fait que ce système était en fait basé sur deux niveaux de sélection, (1) des taux de liaison différents entre les substrats (i.e. type de micro-algue) et (2) le remplacement du substrat sélectionné à la place du substrat contre-sélectionné. Dans une démarche de simplification, ce système de SU a été adapté en retirant le deuxième niveau de sélection (i.e. remplacement du substrat). Les quantités ingérées des deux substrats, simulées par chacun des trois modèles (modèle simple, modèle de Lavaud *et al.* (2014), modèle de Lavaud *et al.* (2014) simplifié), ont ensuite été comparées. Dans un premier temps, les simulations ont été réalisées pour des concentrations en micro-algues non-toxiques et toxiques équivalentes (Fig. 29, p. 93), puis indépendantes l'une de l'autre (Fig. 30, p. 94). Finalement, le modèle décrit par Lavaud *et al.* (2014) s'est avéré être celui qui offrait la plus forte sélectivité et a été retenu pour traiter de notre problématique.

Le chapitre 5 est entièrement dédié au développement du modèle. Dans l'optique de lier les processus d'accumulation et de détoxification des PST au bilan énergétique, un modèle déjà largement validé de croissance et de reproduction de l'huître basé sur la théorie DEB a été utilisé (Ren et Ross, 2001 ; Pouvreau *et al.*, 2006 ; Alunno-Bruscia *et al.*, 2011 ; Bernard *et al.*, 2011 ; Thomas *et al.*, 2016 ; Gourault *et al.*, in prep.). Ce modèle a été couplé au modèle de bio-accumulation des PST. Ce dernier a été exprimé sous la forme de deux compartiments, (1) les toxines non-assimilées, avec l'ingestion comme flux entrant de toxines et l'assimilation et l'égestion comme flux sortants ; (2) les toxines assimilées correspondant au bilan entre le flux d'assimilation de toxines et le flux de détoxification dépendant d'un processus de premier ordre. Les effets de ces toxines sur la bioénergétique de *C. gigas* ont également été pris en compte sur la base des règles appliquées aux contaminants dans le contexte de modèle DEB (DEBtox, voir par exemple Kooijman et

Bedaux, 1996 ; Jager et Zimmer, 2012). Dès le dépassement d'une concentration de non-effet, les coûts de maintenance spécifiques ont été augmentés proportionnellement à la concentration en PST. Une expérimentation dédiée, au cours de laquelle des huîtres ont été exposées à différentes conditions expérimentales (algues non toxiques combinées ou non à des algues toxiques, absence de nourriture) et au cours de laquelle la croissance a été suivie pendant plusieurs semaines a été réalisée. Comme attendu, nous avons pu observer des amaigrissements plus rapides ou des croissances plus lentes chez les huîtres exposées à *A. minutum* comparées à celles en condition contrôle. Les données acquises lors de cette expérimentation ont permis de calibrer le modèle (chapitre 5). Le modèle a ensuite été validé sur un jeu de données expérimentales en laboratoire et sur des données issues d'exposition sur le terrain. Les simulations ont permis de montrer que le modèle arrivait à reproduire fidèlement les cinétiques d'intoxication et de détoxication. Cependant le paramètre ρ_{PST} , dépendant entre autres de la toxicité cellulaire d'*A. minutum* qui est elle même très variable, doit être calibré pour chaque souche d'*A. minutum* à laquelle *C. gigas* est exposée. Enfin, il s'avère que les effets des PST sur *C. gigas* sont également variables et dépendants de la souche d'*A. minutum*, notamment en raison des composés extra-cellulaires qu'elle peut synthétiser.

Pour finir, comme différentes études ont montré des tendances inverses entre l'accumulation en PST des huîtres diploïdes et triploïdes (Haberkorn *et al.*, 2010b ; Guéguen *et al.*, 2012 ; Farrell *et al.*, 2015), le modèle a été appliqué à différents scénarios dans le but d'identifier les conditions permettant de simuler les résultats décrits. Nos simulations tendent à indiquer que les triploïdes accumulent plus que les diploïdes, cependant cette tendance peut s'inverser après la ponte qui se déroule chez les diploïdes, et ce jusqu'à un nouveau cycle de gamétogenèse.

Ces travaux basés sur une synergie entre l'expérimentation et la modélisation ont pu permettre d'une part d'amener des connaissances nouvelles dans l'étude de la variabilité inter-individuelle de l'accumulation des PST chez *C. gigas*. D'autre part, un modèle fiable a non seulement été produit mais a aussi été appliqué pour répondre à la problématique de l'accumulation différentielle observée entre les diploïdes et les triploïdes.

7.2 Discussion générale et perspectives

7.2.1 Variabilité inter-individuelle : plasticité phénotypique ou variabilité génétique ?

Dans les chapitres 2 et 3 nous avons pu montrer que le phénotype "potentiel d'accumulation" était étroitement lié à de nombreuses réponses physiologiques. Si l'on se base uniquement sur la phase non-toxique (i.e. jours 1 et 2 de l'expérience), pour comparer la physiologie en condition standard, des différences ont

été observées, au moins entre deux groupes, au niveau du taux de filtration, du taux de respiration, du rythme cardiaque et de l'efficacité d'assimilation, corrélées à chaque fois de façon positive avec le potentiel d'assimilation. Il semblerait donc que le caractère "potentiel d'accumulation" faible, intermédiaire ou fort soit en fait la conséquence de niveaux d'activités physiologiques différents au sein de la population étudiée. On peut alors se demander l'origine de cette variabilité dans le niveau d'activité standard. Deux alternatives sont alors possibles. (1) Ce caractère est uniquement lié au phénotype. Différentes études ont mis en évidence que les bivalves pouvaient s'acclimater à leur environnement proche (Kautsky *et al.*, 1990 ; Payne *et al.*, 1995b;a). Ainsi, Barillé *et al.* (2000) ; Dutertre *et al.* (2007; 2017) ont montré que les huîtres implantées dans une zone turbide avaient des branchies significativement moins développées et des palpes labiaux plus grands que les huîtres implantées dans une zone moins turbide. En transplantant des moules (*M. edulis*) entre la Mer du Nord et la Mer de Wadden, Essink *et al.* (1989) ont mis en évidence qu'il suffisait de 4 mois pour observer des changements morphologiques des branchies et des palpes, ce qui montre que ce phénomène d'acclimatation est bien de l'ordre de la plasticité phénotypique. En revanche les auteurs de cette étude ont montré que d'autres caractères comme le poids de chair ou la taille du muscle ne variaient pas à la suite du transfert dans le nouvel écosystème, soulignant que ces caractères s'avéraient être génotypiques. Dans le cas de notre étude, les huîtres ont été élevées en écloserie selon un protocole standardisé et sont issues d'une même cohorte. Il est donc peu probable que les différences phénotypiques observées entre individus aient été induites par l'environnement. L'alternative (2) qui relierait ces différents niveaux d'activité au génotype apparaît alors plus plausible. Pour confirmer cette hypothèse des analyses génétiques pourraient être menées dans le but d'identifier des différences de gènes exprimés au niveau de certaines voies métaboliques. En se basant sur nos résultats on peut imaginer que de nombreuses voies métaboliques vont être affectées. Concernant les différences de taux de filtration, de taux de respiration et de battements cardiaques, il est probable que les gènes liés aux muscles ou au mouvement ciliaires soient différentiellement exprimés entre les groupes. Pour ce qui est des écarts dans les efficacités d'assimilation, ce sont les gènes codant pour les voies enzymatiques qui pourraient être activés différemment entre les groupes. Les travaux de Mat *et al.* (in prep.) portent justement sur ces aspects et devraient permettre d'apporter des éléments de réponse à ces hypothèses.

Un des résultats majeurs de cette étude (Pousse *et al.*, in rev., ; chapitre 2) montre que la concentration en toxines peut être expliquée à 78 % par la quantité de cellules consommées par chaque huître après deux jours d'exposition (Fig. 12, p. 47), 22 % de la variabilité reste donc inexpliquée. Nous avons précédemment émis l'hypothèse que des assimilations différentes de la toxine ou des variabilités dans les vitesses de détoxification pouvaient expliquer la variabilité restante. Pour

quantifier l'impact de ces deux processus, une expérience où les toxines seraient dosées à la fois dans les biodépôts et dans la chair de l'huître pourrait être mise en place. Les résultats présentés par Samsur *et al.* (2006) montrent que cette méthode est réalisable et adaptée aux bivalves. Par la suite on peut également envisager de se baser sur la méthode de biodéposition (Iglesias *et al.*, 1998 ; Galimany *et al.*, 2008a; 2011; 2013) pour prédire l'accumulation en utilisant la matière inorganique comme traceur inerte des processus de nutrition.

En analysant les paramètres biométriques, nous avons pu observer que les huîtres du groupe à fort potentiel d'accumulation avaient tendance à avoir un poids de chair frais plus important que les huîtres du groupe à faible potentiel d'accumulation (Fig.19, p. 66). Comme discuté plusieurs fois dans ce travail et dans la littérature (Aalvik et Framstad, 1981 ; Bricelj et Shumway, 1998), pour des raisons allométriques, les petits individus devraient être plus à même d'accumuler de grandes quantités de toxines. En effet, l'ingestion étant proportionnelle à la surface de l'individu et les toxines diluées dans son biovolume, la quantité de cellules d'*A. minutum* ingérée par unité de biovolume doit diminuer lorsque l'individu grandit. Le fait que nous observions l'inverse (i.e. les individus plus gros accumulent plus) montre que cette tendance est forte puisque les écarts de filtration des individus leur ont permis d'aller à l'encontre de ces questions allométriques et ce même après 2 jours d'exposition. Sachant que tous les individus ont été élevés dans les mêmes conditions et que nous ne considérons pas que les seuls 4 jours d'expérience aient pu influencer sur cette masse, il est fort probable que ces huîtres aient un taux de croissance plus fort.

Dans notre modèle, nous avons pris en compte cette variabilité inter-individuelle en attribuant de façon aléatoire aux individus des valeurs différentes de taux de filtration pour rendre compte des trois phénotypes observés. Cependant d'après les résultats présentés dans les chapitres 2 et 3, ces différences de filtration pourraient être la conséquence de niveaux d'activités physiologiques différents. Dans ce cas, on pourrait traiter le problème en laissant le taux de filtration spécifique identique entre les phénotypes et en modifiant d'autres paramètres. Deux voies pourraient être envisagées : (1) introduire une variabilité sur la valeur de κ (i.e. la valeur curseur entre l'allocation d'énergie à la croissance et à la reproduction). Cette approche correspond en fait à celle mise en œuvre avec l'adaptation de notre modèle aux huîtres triploïdes. En attribuant différentes valeurs de κ aux individus, on aurait alors des huîtres avec des taux de croissance différents, (i.e. une structure qui augmente plus ou moins vite) et donc des taux de filtration différents induisant une accumulation variée. (2) Puisque nous avons observé des différences dans le niveau d'activité des huîtres, l'autre alternative pourrait consister à introduire une variabilité sur la vitesse d'utilisation des réserves (\dot{p}_c) en modifiant par exemple la conductance de l'énergie (\dot{v}). De cette manière, on induirait également des différences dans les taux de croissance, taux de filtration et accumulation en toxines.

Pour identifier quelle méthode serait la plus appropriée, il faudrait comparer l'allocation à la reproduction entre les différents groupes. Augmenter le κ induirait une diminution de l'effort reproductif alors qu'augmenter \dot{p}_c signifierait une plus grande quantité d'énergie allouée à la croissance mais aussi à la reproduction.

7.2.2 Sélection, attention...

La sélection est pratiquée par l'homme depuis de nombreuses années sur les huîtres *C. gigas*, généralement dans l'optique de produire des lignées à croissance rapide (Haley et Newkirk, 1977 ; Ward *et al.*, 2000 ; Wang *et al.*, 2012). Les résultats présentés dans cette étude suggèrent que le caractère "fort potentiel d'accumulation" est également associé à des huîtres susceptibles de présenter un taux de croissance important. Il est donc probable qu'en sélectionnant des huîtres à forte croissance, ce caractère soit également sélectionné. Il convient alors de prendre en considération cet aspect, en particulier lorsque ces sélections sont réalisées dans le but de fournir en huîtres des zones d'élevage où les blooms d'algues toxiques sont récurrents.

Les résultats présentés dans cette étude montrent qu'il serait possible de sélectionner le caractère "faible potentiel d'accumulation" chez les huîtres pour avoir des individus qui auraient tendance à moins accumuler de PST. De ce fait, les arrêtés signifiant les interdictions de vente d'huîtres seraient moins réguliers. Cependant, en sélectionnant des huîtres sur ce facteur, on peut penser que le secteur ostréicole aurait plus à perdre qu'à gagner pour deux raisons. (1) Nous avons observé que les individus présentant ce caractère avaient aussi un poids de chair humide plus faible. Les huîtres sélectionnées auraient alors un taux de croissance plus faible, augmentant les temps d'élevage pour les producteurs et ainsi la probabilité d'être soumis à plus d'efflorescences. (2) Un des inconvénients de la sélection induite par l'homme, est la perte de richesse génotypique et donc phénotypique (Heino et Godø, 2002). Le rôle écologique de la variabilité intra-spécifique d'un trait de caractère est de plus en plus reconnu pour répondre à des problématiques de dynamique et de fonctionnement des communautés (Violle *et al.*, 2012). Bolnick *et al.* (2011) ; Schindler *et al.* (2015) expliquent que plus une espèce comprend des phénotypes différents plus la population sera à même de faire face à des fluctuations temporelles extrêmes de sa densité (effet portfolio). D'un point de vue populationnel, cette variabilité favorise le succès de l'espèce (Gamfeldt *et al.*, 2005 ; Forsman et Wennersten, 2016) et serait donc à conserver. Dans le cas des huîtres, on peut imaginer qu'en sélectionnant un des trois phénotypes identifiés dans cette étude, on perde également pour la souche sélectionnée, une capacité de résistance aux pathogènes ou à des conditions environnementales extrêmes.

7.2.3 Du tri sélectif

Chez les bivalves, le tri pré-ingestif est une fonction particulièrement complexe et efficace (Shumway et Cucci, 1987 ; Barillé *et al.*, 1997 ; Ward et Shumway, 2004) qui permet de moduler la quantité de matière organique ingérée. Comme développé par Mafra *et al.* (2009; 2010b) cette fonction peut induire une faible accumulation en toxines lorsque la micro-algue toxique est mélangée à d'autres micro-algues. Les données acquises lors des deux expériences menées dans cette thèse tendent à confirmer ce phénomène. Ainsi, en exposant des huîtres à des concentrations similaires de la même souche d'*A. minutum*, mais mélangées ou pas avec d'autres micro-algues fourrages, l'accumulation est sensiblement différente. Dans la première expérience (Chapitre 2,3 et 5) les huîtres ont été exposées à environ 10^6 cell L^{-1} d'*A. minutum* seulement pendant deux jours pour une accumulation maximale de $172 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$. Durant la seconde expérience qui a duré 6 semaines, *A. minutum* a été distribué mélangé à des micro-algues non-toxiques à une concentration variant entre $2 \cdot 10^6 \text{ cell L}^{-1}$ et $6.5 \cdot 10^5 \text{ cell L}^{-1}$ pour une accumulation maximale de $15 \mu\text{g STX}100\text{g}^{-1}$. Il semble donc que la sélection opérée par *C. gigas* soit très efficace. L'existence de ce tri peut poser problème lorsque l'on souhaite conditionner des huîtres pendant une longue période et provoquer en même temps expérimentalement une accumulation de PST chez ces mêmes huîtres. Dans cette étude, nous avons pris le parti de mélanger les micro-algues fourrages avec *A. minutum* pour permettre aux huîtres de croître et d'accumuler. À la lueur de nos résultats, il semblerait plus approprié d'envisager une autre stratégie consistant à alterner cycles d'expositions aux micro-algues toxiques et non-toxiques afin de permettre une accumulation en PST plus importante. Par ailleurs, on sait que les micro-algues, dont certaines souches d'*A. minutum*, sont capables de synthétiser des composés extracellulaires (Arzul *et al.*, 1999) encore peu connus, ayant une activité allélopathique sur d'autres micro-algues (Ma *et al.*, 2011 ; Lelong *et al.*, 2011). D'autres travaux ont montré que ces composés avaient des propriétés ichtyotoxiques agissant également sur les bivalves (Ford *et al.*, 2008) et pouvaient provoquer des refus alimentaires (Borcier *et al.*, 2017, ; Castrec *et al.*, in prep). En mélangeant des micro-algues non-toxiques avec une souche de micro-algue synthétisant ces composés, il faut s'attendre à observer des effets sur les micro-algues fourrages et sur la nutrition des bivalves. On sait par exemple que les bivalves peuvent trier leur nourriture en fonction de la viabilité des cellules (Brillant et MacDonald, 2003). Espinosa *et al.* (2007) ont également montré que les composés excrétés dans l'eau de mer avaient un effet important sur la sélection alimentaire des bivalves. Une étude caractérisant les effets de ces composés extracellulaires sur la sélection alimentaire opérée par les bivalves mériterait donc d'être menée. À la lumière de ces résultats, les mélanges de micro-algues lors d'expérimentations sont à proscrire.

Pour traiter de cette problématique de sélection préférentielle, nous nous sommes

basés dans le chapitre 5 sur le concept des synthesizing units (SU; Kooijman, 1998 ; Troost *et al.*, 2010 ; Saraiva *et al.*, 2011) tel que détaillé par Lavaud *et al.* (2014). Ce dernier a développé un modèle de sélection chez *P. maximus* pour intégrer la matière organique particulaire (i.e. cellules non-algales) comme source trophique dans son modèle. Dans le chapitre 4, nous avons voulu formaliser ce concept en détaillant pas à pas les équations qui le composent. Puisque ce modèle présente un grand nombre de paramètres (deux niveaux de sélection), il a été simplifié, et le modèle obtenu a été comparé au modèle initial. Nous avons finalement pu conclure que les équations décrites par Lavaud *et al.* (2014) permettaient de traduire au mieux le phénomène de préférence chez l'huître entre micro-algues non-toxiques et toxiques. Ce constat semble à première vue assez étonnant. Sachant que les bivalves possèdent quatre sites (Fig. 3, p.10) permettant de trier les particules selon un grand nombre de critères (taille, forme, densité, signature chimique, viabilité chimique Beninger *et al.*, 1997 ; Brillant et MacDonald, 2003 ; Cognie *et al.*, 2003 ; Ward *et al.*, 2003 ; Espinosa *et al.*, 2008; 2010), nous ne nous attendions pas à devoir simuler une sélection similaire entre des micro-algues et de la matière organique (Lavaud *et al.*, 2014) et entre des micro-algues non-toxiques et toxiques. Ce système de SU semble donc être particulièrement robuste pour traiter de la préférence alimentaire chez les bivalves. Cependant, pour affiner le modèle, il serait utile de comparer par le biais d'une expérimentation, les quantités effectivement ingérées par individu et celles simulées par le modèle en intégrant l'effet des composés extracellulaires.

7.2.4 Des effets difficiles à appréhender

Les effets délétères des PST sur les bivalves ont été largement décrits dans la littérature (Galimany *et al.*, 2008c;b ; Estrada *et al.*, 2010 ; Haberkorn *et al.*, 2010a;b ; Hégaret *et al.*, 2012 ; Rolton *et al.*, 2014). L'impact de ces effets sur la bioénergétique de *C. gigas* a été exprimé dans cette étude d'après des principes d'écotoxicologie (Jager et Zimmer, 2012) en se basant sur deux paramètres, la concentration minimale à partir de laquelle les PST affectent l'individu (*NEC*) et le facteur de stress C_k . À partir des données de la littérature, nous avons émis l'hypothèse que les PST augmentaient les coûts de maintenance (i.e. quantité d'énergie par unité de volume de structure nécessaire au maintien des fonctions vitales). Ainsi, dès que la concentration en PST dans l'individu franchit la concentration seuil, les coûts de maintenance augmentent de façon linéaire avec la concentration en PST. Cependant il est possible que cette formulation simpliste ne reflète pas vraisemblablement la relation entre concentration en PST dans l'individu et augmentation des coûts de maintenance. Dans une de nos expériences (Fig. 34, p.114), nous avons observé un amaigrissement plus rapide que la normale alors que les huîtres avaient totalement dépuré. Ceci suggère qu'après l'élimination de l'intégralité des PST, les

coûts de maintenance ne reviennent pas immédiatement à leur valeur initiale. On peut par exemple imaginer que des coûts associés à des réparations de tissus ou au renouvellement des hémocytes persistent quelques temps après dépuración totale. Il est aussi possible que la relation entre concentration en PST et augmentation des coûts de maintenance, ne soit pas linéaire. Les coûts pourraient par exemple être identiques quelle que soit la concentration en PST, diminuer ou augmenter avec la concentration. Une expérience dédiée à l'étude de cette relation pourrait permettre au modèle de mieux rendre compte des effets des PST sur *C. gigas*.

En calibrant et appliquant ces coûts sur différents jeux de données dans le chapitre 5, nous avons pu mettre en lumière le fait que ces derniers étaient très variables. Deux hypothèses ont été formulées pour expliquer cette variabilité. La première serait qu'après une première exposition, les bivalves deviennent moins sensibles à la toxine. Ce paramètre semble jouer un rôle important puisque nous avons observé un facteur égal à au moins 4 entre l'effet des PST sur des huîtres n'ayant jamais été en contact avec des micro-algues toxiques ($C_k=10$; Chapitre 5) et ayant déjà été exposées à des efflorescences toxiques ($C_k=40$; chapitre 5). Ce phénomène a été décrit plusieurs fois, Chebib *et al.* (1993) ont ainsi rapporté une accumulation moindre chez des moules qui avaient déjà été exposées à des micro-algues toxiques alors que Shumway et Cucci (1987) ont observé des différences dans les comportements de nutrition. Enfin, les nerfs d'huîtres (*C. gigas*) régulièrement en contact avec des micro-algues toxiques seraient moins sensibles à la STX que les autres Boullot (2017a). Le modèle DEB-PST développé dans cette étude montre qu'il apparaît compliqué d'intégrer ce paramètre tant les réponses induites chez le bivalve et les mécanismes sous-jacents restent flous. La seconde hypothèse serait que les composés extracellulaires synthétisés par certaines micro-algues aient aussi un effet important sur la bioénergétique des bivalves. Ainsi, pour reproduire la perte de masse d'individus exposés à une souche d'*A. minutum* qui synthétise ces composés, nous avons dû augmenter les coûts énergétiques induits par les PST d'un facteur 10 par rapport aux effets calibrés avec une souche ne produisant pas de composés extracellulaires. Il est en fait probable que les coûts associés aux PST n'aient pas varié mais que les composés extracellulaires soient responsables de cette plus forte perte de masse. Les résultats de Borcier *et al.* (2017), mettant en évidence le fait que les composés extracellulaires ont un impact important sur la croissance de *P. maximus* vont dans ce sens, en revanche, ils ne montraient pas d'effet des PST sur la croissance. En comparant certaines réponses physiologiques de *C. gigas* exposées à des souches synthétisant ou non des PST et des composés extracellulaires, Castrec *et al.*, in prep. ont montré que les composés extracellulaires altéraient surtout la prise alimentaire (diminution de la filtration, lésions des branchies, micro-fermetures) alors que les PST avaient des effets au niveau interne (mobilisation des hémocytes, diapédèses, modification du rythme biologique). Pour améliorer notre modèle, il faudrait donc quantifier la part

exacte des effets délétères chez *C. gigas* induite par les PST et celle induite par les composés extracellulaires. Sachant que notre étude a permis de calibrer les effets d'une souche d'*A. minutum* synthétisant uniquement des PST (chapitre 5, données de calibration) et d'une autre synthétisant des PST et des composés extracellulaires (chapitre 5, données de validation), on peut imaginer qu'un conditionnement d'huîtres avec une souche d'*A. minutum* synthétisant uniquement des composés extracellulaires comme réalisé dans le chapitre 5, permettrait d'obtenir les données nécessaires. Au vu des résultats de Borcier *et al.* (2017) et de Castrec *et al.*, in prep. on peut s'attendre à ce qu'ils soient importants et qu'ils affectent la filtration. Dans une telle expérimentation, il faudra ainsi prendre en compte précautionneusement la consommation des huîtres pour permettre de discerner la diminution du taux de croissance provoquée directement par les effets délétères de ces composés et celle induite par une diminution de la prise alimentaire.

7.2.5 Un modèle perfectible mais généralisable

La validation du modèle DEB-PST sur des jeux de données acquis *in situ* dans la rade de Brest témoigne de la robustesse de cet outil pour simuler l'accumulation des PST chez *C. gigas*. Ce modèle décrit l'accumulation de toxines présentes dans la nourriture, chez les bivalves selon deux compartiments, les toxines non-assimilées et les toxines assimilées. La dynamique des toxines non-assimilées est décrite par le passage des toxines à l'intérieur du système digestif et qui a été modélisé via le principe de dynamique des fluides appelé "écoulement piston" (Van de Vusse, 1964). Dans notre modèle, ce temps d'écoulement est proportionnel à la longueur structurelle de l'individu ($V^{1/3}$) et est corrigé par la température. Il ne prend donc pas en compte l'espèce de micro-algue ingérée ni sa concentration. Sachant que Guéguen *et al.* (2008b) ont montré que ces deux paramètres pouvaient influencer le temps de passage des cellules (i.e. temps de traversée d'une cellule de la bouche à l'anus), la prise en compte de ces variables pourrait améliorer le modèle lorsque les bivalves sont en présence d'une faible concentration en algues toxiques. Lors de fortes concentrations, alors que l'animal a déjà accumulé de grandes quantités de toxines, ce compartiment représente une faible part de la concentration totale en toxines (< 10 %).

Dans l'état actuel de développement du modèle le paramètre ρ_{PST} (i.e. quantité de toxines par unité d'énergie dans une cellule d'algue toxique) doit être ré-estimé pour chaque jeu de données en se basant sur des données d'accumulation en PST mesurées sur les huîtres. Dans le chapitre 5, nous avons observé que ρ_{PST} variait de façon importante d'une année sur l'autre (2012 : $0.025 \mu g STX J^{-1}$; 2013 : $0.165 \mu g STX 100g^{-1}$; 2014 : $0.055 \mu g STX J^{-1}$). Cependant ce résultat n'est pas étonnant puisque ce paramètre est dépendant, de plusieurs facteurs. Il dépend du contenu en PST par cellule qui varie fortement d'une souche d'*A. minutum* à l'autre

et au sein d'une même souche il est susceptible de varier en fonction des paramètres environnementaux (Boyer *et al.*, 1987 ; Anderson *et al.*, 1990 ; Hwang et Lu, 2000). Il dépend également du contenu énergétique cellulaire, lui-même dépendant des conditions environnementales (Renaud *et al.*, 2002). De ce fait, le modèle ne nous permet pas pour le moment de prédire en temps réel l'accumulation des bivalves présents sur la zone donnée. Pour améliorer sensiblement le modèle, il faudrait donc pouvoir estimer le paramètre ρ_{PST} à partir de certaines variables mesurables de façon assez simple lors d'un bloom. Ces variables pourraient par exemple correspondre aux propriétés physiques des algues mesurées en cytométrie, à l'hydrodynamie, à la température, à la lumière ou aux concentrations en nitrates, phosphates et nutriments dans l'eau de mer connues pour induire des variations dans la synthèse de PST par les micro-algues toxiques (Flynn *et al.*, 1994 ; John et Flynn, 2000 ; Granéli et Flynn, 2006 ; Lim *et al.*, 2006).

Ce modèle pourrait aussi être appliqué à d'autres zones où la micro-algue toxique *A. minutum* se développe régulièrement telles que le Golfe du Morbihan, les Abers, la Baie de Quiberon ou certaines baies néo-zélandaises, irlandaises, danoises, australiennes ou espagnoles (Hansen *et al.*, 2003). Ce modèle pourrait sans doute être appliqué pour modéliser l'accumulation de PST venant d'autres micro-algues productrices de saxitoxine et ses dérivés comme d'autres espèces d'*Alexandrium*, *Gymnodinium catenatum* ou *Pyrodinium* sp. et cela en re-estimant un nombre restreint de paramètres intervenant dans le système des SU (yE_Y , M_Y , \dot{b}_Y). Ce modèle pourrait ainsi être testé en l'appliquant aux huîtres de la lagune de Thau où des efflorescences d'*A. catenella*/*A. tamarense* sont régulièrement rapportées (Collos *et al.*, 2007 ; Genovesi *et al.*, 2009 ; Chambouvet *et al.*, 2011). On peut également envisager d'appliquer ce modèle à d'autres bivalves filtreurs ou d'autres phycotoxines après estimation de nouveaux paramètres. Cependant il est probable que quelques ajustements soient nécessaires. Par exemple si l'on s'intéresse à la problématique de l'accumulation des toxines amnésiantes (AST) par la coquille Saint-Jacques *P. maximus*, on pourrait s'affranchir du compartiment "toxines non-assimilées" puisque la dynamique temporelle du transit intestinal est bien inférieure (quelques heures) à celle de la détoxification (quelques mois). De plus, seuls le muscle et la gonade sont utilisés pour la consommation humaine. En revanche il faudrait certainement ajouter un nouveau compartiment décrivant la cinétique des toxines dans le muscle puisque les transferts de toxines inter-organes peuvent induire des phénomènes de re-intoxication du muscle (Blanco *et al.*, 2002; 2006).

Enfin, puisque dans certaines zones, l'augmentation des épisodes d'efflorescences d'algues toxiques a été reliée aux changements globaux (Wells *et al.*, 2015 ; Gobler *et al.*, 2017), le modèle DEB-PST pourrait être appliqué, dans une approche similaire à celle du chapitre 6, à différents scénarios environnementaux. On pourrait ainsi prédire les effets du changement climatique, de l'acidification de l'océan, de l'augmentation des phénomènes climatiques extrêmes ou de la diminution de la

biodiversité sur les contaminations futures des bivalves.

7.2.6 Gestion des risques

Ce modèle DEB-PST pourrait être utile pour les agences de surveillance sanitaire (type REPHY) et pour les ostréiculteurs dans l'optique de limiter les risques d'intoxication et de générer le moins de perte économique possible chez les producteurs. Différentes études tentent de comprendre les paramètres environnementaux déclenchant un bloom (Roelke et Buyukates, 2001 ; Guallar *et al.*, 2017) avec pour objectif de modéliser leur évolution dans une zone donnée (Le Gland, 2014). Le couplage de ce genre de modèles avec le modèle DEB-PST pourrait permettre d'identifier les zones conchylicoles où les coquillages auraient le plus de risque d'accumuler d'importantes quantités de PST. Grâce à ces prédictions, les ostréiculteurs pourraient installer leurs tables d'élevage hors de ces zones.

On peut aussi envisager d'utiliser ce modèle pour prédire les périodes dites "à risque" où des dosages dans les coquillages de la zone seraient nécessaires en se basant sur les conditions environnementales connues. Actuellement, c'est à partir de $10\,000\text{ cell.L}^{-1}$ que des dosages dans les coquillages sont réalisés, ce qui correspond à une exposition trop faible lorsqu'il y a d'autres micro-algues dans le milieu pour pouvoir induire une accumulation chez *C. gigas* supérieure au seuil sanitaire (voir par exemple chapitre 5). Le modèle pourrait ainsi permettre aux agences de réaliser des économies en diminuant le nombre de dosages réalisés sur des individus prélevés sur le terrain. Par ailleurs, contrairement aux dosages qui donnent une idée de la concentration en toxines dans un individu à un temps t , le modèle permet de donner des indications sur la cinétique d'intoxication et de détoxication. Ainsi, lorsque les zones sont fermées à la vente de coquillages, le modèle pourrait permettre de prédire la date théorique à laquelle les concentrations en PST dans les coquillages de la zone seront inférieures au seuil sanitaire. À cette date précise, des dosages pourraient être faits afin de vérifier la possibilité de commercialiser les coquillages. Un des atouts du modèle DEB-PST est certainement son couplage entre le modèle bioénergétique et le modèle d'accumulation. En effet, comme détaillé dans le chapitre 6, il prend en compte les conditions environnementales et le statut énergétique de l'individu pour prédire son accumulation. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence le fait que les huîtres triploïdes avaient tendance à accumuler plus que les diploïdes excepté après la ponte des individus diploïdes. La ploïdie ainsi que la date de ponte devraient donc être prises en compte par les agences de surveillance. On peut par exemple imaginer que les dates de fermeture soient définies indépendamment pour les diploïdes et les triploïdes. Enfin, au vu de l'effet de la ponte sur l'accumulation des diploïdes (Fig. 45, 139), il serait bénéfique pour le réseau de surveillance de se rapprocher du réseau "VELYGER" développé par IFREMER qui suit la reproduction et la date de ponte des huîtres dans le but de

prendre en compte ce facteur.

Concernant la problématique complexe que représente la gestion des risques sanitaires, on peut se demander si la ponte a réellement un effet sur la dangerosité des huîtres. En effet, cette dernière induit une modification de la concentration, alors que la charge totale de l'individu ne change pas ou diminue peu. Sachant que l'huître est un produit généralement consommé à l'unité (le consommateur consomme généralement n huîtres indépendamment du fait qu'elles aient pondu ou non), on peut se demander s'il ne serait pas plus judicieux d'évaluer les risques en se basant sur la charge totale individuelle.

Bibliographie

- Aalvik, B., Framstad, K., 1981. Assay and detoxification experiments with Mytilotoxin in mussels (*Mythus edulis* L.) from Nordåsstraumen, Western Norway, 1979 and 1980. *Sarsia* 66 (2), 143–146.
- Alderman, D. J., 1979. Epizootiology of *Marteilia refringens* in Europe. *Mar. Fish. Rev* 41 (1/2), 67–69.
- Allen, S. K., Downing, S. L., 1986. Performance of triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). I. Survival, growth, glycogen content, and sexual maturation in yearlings. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 102 (2-3), 197–208.
- Alunno-Bruscia, M., Bourlès, Y., Maurer, D., Robert, S., Mazurié, J., Gangnery, A., Goulletquer, P., Pouvreau, S., 2011. A single bio-energetics growth and reproduction model for the oyster *Crassostrea gigas* in six Atlantic ecosystems. *J. Sea Res.* 66 (4), 340–348.
- Amemiya, I., 1929. On the sex-change of the Japanese common oyster, *Ostrea gigas* Thunberg. *Proc. Imp. Acad.* 5 (7), 284–286.
- Amzil, Z., Sibat, M., Chomerat, N., Gossel, H., Marco-Miralles, F., Lemee, R., Nezan, E., Sechet, V., 2012. Ovatoxin-a and palytoxin accumulation in seafood in relation to *Ostreopsis* cf. *ovata* blooms on the French Mediterranean coast. *Mar. Drugs* 10 (2), 477–496.
- Anderson, D., Kulis, D., Sullivan, J., Hall, S., 1990. Toxin composition variations in one isolate of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. *Toxicon* 28 (8), 885–893.
- Anderson, D. M., 1989. Toxic algal blooms and red tides : a global perspective. *Red tides : Biology, environmental science and toxicology* , 11–16.
- Anderson, D. M., Alpermann, T. J., Cembella, A. D., Collos, Y., Masseret, E., Montresor, M., 2012. The globally distributed genus *Alexandrium* : multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae* 14, 10–35.
- Anderson, D. M., Glibert, P. M., Burkholder, J. M., 2002. Harmful algal blooms and eutrophication : nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries* 25 (4), 704–726.
- Angilletta, M. J., Niewiarowski, P. H., Navas, C. A., 2002. The evolution of thermal physiology in ectotherms. *J. Theor. Biol.* 27 (4), 249–268.
- Arzul, G., Seguel, M., Guzman, L., Erard-Le Denn, E., 1999. Comparison of allelopathic properties in three toxic *Alexandrium* species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 232 (2), 285–295.

- Augustine, S., Gagnaire, B., Adam-Guillermin, C., Kooijman, S. A., 2012. Effects of uranium on the metabolism of zebrafish, *Danio rerio*. *Aquat. Toxicol.* 118, 9–26.
- Bacher, C., Gangnery, A., 2006. Use of dynamic energy budget and individual based models to simulate the dynamics of cultivated oyster populations. *J. Sea Res.* 56 (2), 140–155.
- Backer, L. C., Kirkpatrick, B., Fleming, L. E., Cheng, Y. S., Pierce, R., Bean, J. A., Clark, R., Johnson, D., Wanner, A., Tamer, R., *et al.* 2005. Occupational exposure to aerosolized brevetoxins during Florida red tide events : effects on a healthy worker population. *Environ. Health Persp.* 113 (5), 644.
- Baker, S. M., Levinton, J. S., Ward, J. E., 2000. Particle transport in the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas). *Biol. Bull.* 199 (2), 116–125.
- Barceloux, D. G., 2008. Diarrhetic shellfish poisoning and okadaic acid. *Medical Toxicology of Natural Substances : Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants, and Venomous Animals* , 222–226.
- Bardouil, M., Bohec, M., Cormerais, M., Bougrier, S., Lassus, P., 1993. Experimental study of the effects of a toxic microalgal diet on feeding of the oyster *Crassostrea gigas* Thunberg. *J. Sea Res.* 12 (2), 417–422.
- Bargu, S., Silver, M. W., Ohman, M. D., Benitez-Nelson, C. R., Garrison, D. L., 2012. Mystery behind Hitchcock's birds. *Nat. Geosci.* 5 (1), 2.
- Barillé, L., Haure, J., Cognie, B., Leroy, A., 2000. Variations in pallial organs and eulatero-frontal cirri in response to high particulate matter concentrations in the oyster *Crassostrea gigas*. *Can. J. of Fish. Aquat. Sci.* 57 (4), 837–843.
- Barillé, L., Prou, J., Héral, M., Razet, D., 1997. Effects of high natural seston concentrations on the feeding, selection, and absorption of the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 212 (2), 149–172.
- Baron, R., Couedel, M., Joret, C., Garen, P., Truquet, P., Masselin, P., Bardouil, M., Lassus, P., 2006. Continuous fluorescence recording as a way to improve Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) models of paralytic shellfish toxin accumulation. *Aquat. Living Resour.* 19 (1), 77–84.
- Basti, L., Nagai, K., Shimasaki, Y., Oshima, Y., Honjo, T., Segawa, S., 2009. Effects of the toxic dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on the valve movement behaviour of the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Aquaculture* 291 (1), 41–47.
- Bates, S., Bird, C. J., Freitas, A. d., Foxall, R., Gilgan, M., Hanic, L. A., Johnson, G. R., McCulloch, A., Odense, P., Pocklington, R., *et al.* 1989. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Can. J. of Fish. Aquat. Sci.* 46 (7), 1203–1215.
- Bayne, B., 2004. Comparisons of measurements of clearance rates in bivalve molluscs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 276, 305–306.

- Bayne, B., Hawkins, A., Navarro, E., 1987. Feeding and digestion by the mussel *Mytilus edulis* L.(Bivalvia : Mollusca) in mixtures of silt and algal cells at low concentrations. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 111 (1), 1–22.
- Bayne, B. L., 2017. Biology of Oysters, Volume 41, 1st Edition. Vol. 41 of Developments in aquaculture and fisheries science 41. Elsevier Science ; Academic Press.
- Béchemin, C., Grzebyk, D., Hachame, F., Hummert, C., Maestrini, S. Y., 1999. Effect of different nitrogen/phosphorus nutrient ratios on the toxin content in *Alexandrium minutum*. Aquat. Microb. Ecol. 20 (2), 157–165.
- Benabdelmouna, A., Ledu, C., 2007. Obtention de mollusques bivalves tétraploïdes à partir de géniteurs diploïdes. FR patent , 2913982–A1.
- Beninger, P. G., Dufour, S. C., Bourque, J., 1997. Particle processing mechanisms of the eulamellibranch bivalves *Spisula solidissima* and *Mya arenaria*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 157–169.
- Beninger, P. G., Valdizan, A., Decottignies, P., Cognie, B., 2008. Impact of seston characteristics on qualitative particle selection sites and efficiencies in the pseudolamellibranch bivalve *Crassostrea gigas*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 360 (1), 9–14.
- Bernard, I., 2011. Écologie de la reproduction de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur les côtes atlantiques françaises : vers une explication de la variabilité du captage. Ph.D. thesis, Université de La Rochelle.
- Bernard, I., De Kermoisan, G., Pouvreau, S., 2011. Effect of phytoplankton and temperature on the reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* : investigation through DEB theory. J. Sea Res. 66 (4), 349–360.
- 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., B 125 (3), 359–369.
- Berthelin, C. H., Laisney, J., Espinosa, J., Martin, O., Hernandez, G., Mathieu, M., Kellner, K., 2001. Storage and reproductive strategy in *Crassostrea gigas* from two different growing areas (Normandy and the Atlantic coast, France). Invertebr. Reprod. Dev. 40 (1), 79–86.
- Blanco, J., Acosta, C., De La Puente, M. B., Salgado, C., 2002. Depuration and anatomical distribution of the amnesic shellfish poisoning (ASP) toxin domoic acid in the king scallop *Pecten maximus*. Aquat. Toxicol. 60 (1), 111–121.
- Blanco, J., Acosta, C. P., Mariño, C., Muñiz, S., Martín, H., Moroño, Á., Correa, J., Arévalo, F., Salgado, C., 2006. Depuration of domoic acid from different body compartments of the king scallop *Pecten maximus* grown in raft culture and natural bed. Aquat. Living Resour. 19 (3), 257–265.

- Blanco, J., Moroño, A., Franco, J., Reyero, M., 1997. PSP detoxification kinetics in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. one- and two-compartment models and the effect of some environmental variables. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 165–175.
- Blanco, J., Reyero, M. I., Franco, J., 2003. Kinetics of accumulation and transformation of paralytic shellfish toxins in the blue mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Toxicon* 42 (7), 777–784.
- Bodiguel, X., Loizeau, V., Le Guellec, A.-M., Rouspard, F., Philippon, X., Mellon-Duval, C., 2009a. Influence of sex, maturity and reproduction on PCB and p, p' DDE concentrations and repartitions in the European hake (*Merluccius merluccius*, L.) from the Gulf of Lions (NW Mediterranean). *Sci. Tot. Environ.* 408 (2), 304–311.
- Bodiguel, X., Maury, O., Mellon-Duval, C., Rouspard, F., Le Guellec, A.-M., Loizeau, V., 2009b. A dynamic and mechanistic model of PCB bioaccumulation in the European hake (*Merluccius merluccius*). *J. Sea Res.* 62 (2), 124–134.
- Bogan, Y., Harkin, A., Gillespie, J., Kennedy, D., Hess, P., Slater, J., 2007. The influence of size on domoic acid concentration in king scallop, *Pecten maximus* (L.). *Harmful Algae* 6 (1), 15–28.
- Bolnick, D. I., Amarasekare, P., Araújo, M. S., Bürger, R., Levine, J. M., Novak, M., Rudolf, V. H., Schreiber, S. J., Urban, M. C., Vasseur, D. A., 2011. Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecol. Evol.* 26 (4), 183–192.
- Bond, R., Medcof, J., 1958. Epidemic shellfish poisoning in New Brunswick, 1957. *Can. Medic. Assoc. J.* 79 (1), 19.
- Borcier, E., Morvezen, R., Boudry, P., Miner, P., Charrier, G., Laroche, J., Hegaret, H., 2017. Effects of bioactive extracellular compounds and paralytic shellfish toxins produced by *Alexandrium minutum* on growth and behaviour of juvenile great scallops *Pecten maximus*. *Aquat. Toxicol.*
- Boucaud, C., Lebesnerais, C., Lubet, P., Lihmann, I., 1983. Dynamique et enzymologie de la digestion chez l'huitre *Crassostrea gigas*. In : Bases biologiques de l'aquaculture, Montpellier, 12-16 decembre 1983.
- Bougrier, S., Lassus, P., Bardouil, M., Masselin, P., Truquet, P., 2003. Paralytic shellfish poison accumulation yields and feeding time activity in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and king scallop (*Pecten maximus*). *Aquat. Living Resour.* 16 (4), 347–352.
- Boullot, F., 2017a. Implication des canaux sodium voltage-dépendant dans la réponse aux toxines chez *Crassostrea gigas* : le cas des phycotoxines paralysantes. Ph.D. thesis, Brest.
- Boullot, F., 2017b. Implication des canaux sodium voltage-dépendant dans la réponse aux toxines chez *Crassostrea gigas* : le cas des phycotoxines paralysantes. Ph.D. thesis, Université de Bretagne Occidentale.

- Boullot, F., Castrec, J., Bidault, A., Dantas, N., Payton, L., Perrigault, M., Tran, D., Amzil, Z., Boudry, P., Soudant, P., *et al.* 2017. Molecular characterization of voltage-gated sodium channels and their relations with paralytic shellfish toxin bioaccumulation in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Drugs* 15 (1), 21.
- Bourlès, Y., Alunno-Bruscia, M., Pouvreau, S., Tollu, G., Leguay, D., Arnaud, C., Goullet-quer, P., Kooijman, S., 2009. Modelling growth and reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* : advances in the oyster-DEB model through application to a coastal pond. *J. Sea Res.* 62 (2), 62–71.
- Bourne, N., 1965. Paralytic shellfish poison in sea scallops (*Placopecten magellanicus*, Gmelin). *J. Fish. Res. Board Can.* 22 (5), 1137–1149.
- Bowers, H. A., Tomas, C., Tengs, T., Kempton, J. W., Lewitus, A. J., Oldach, D. W., 2006. Raphidophyceae [chadefaud ex silva] systematics and rapid identification : Sequence analyses and real-time pcr assays. *J. Phycol.* 42 (6), 1333–1348.
- Boyer, G., Sullivan, J., Andersen, R., Harrison, P., Taylor, F., 1987. Effects of nutrient limitation on toxin production and composition in the marine dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.* 96 (1), 123–128.
- Bricelj, V., Greene, M., Lee, J., Cembella, A., 1993. Growth of the blue mussel *Mytilus edulis* on toxic *Alexandrium fundyense* and effects of gut passage on dinoflagellate cells. In : Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Elsevier, Amsterdam, TJ Smayda, Y. Shimuzu (Eds.), pp. 371–376.
- Bricelj, V., Lee, J., Cembella, A., 1991. Influence of dinoflagellate cell toxicity on uptake and loss of paralytic shellfish toxins in the northern quahog *Mercenaria mercenaria*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 74, 33–46.
- Bricelj, V., Lee, J., Cembella, A., Anderson, D., 1990. Uptake kinetics of paralytic shellfish toxins from the dinoflagellate *Alexandrium fundyense* in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 63 (2), 177–188.
- Bricelj, V. M., Cembella, A., Laby, D., Shumway, S. E., Cucci, T. L., 1996. Comparative physiological and behavioral responses to PSP toxins in two bivalve molluscs, the softshell clam, *Mya arenaria*, and surfclam, *Spisula solidissima*. *Harmful and Toxic Algal Blooms*, Intergov. Oceanogr. Comm. of UNESCO, Paris, Yasumoto, T. Oshima, Y., Fukuyo, Y.(Eds.) , 405–408.
- Bricelj, V. M., Connell, L., Konoki, K., MacQuarrie, S. P., Scheuer, T., Catterall, W. A., Trainer, V. L., 2005. Sodium channel mutation leading to saxitoxin resistance in clams increases risk of PSP. *Nature* 434 (7034), 763–767.
- Bricelj, V. M., Shumway, S. E., 1998. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs : occurrence, transfer kinetics, and biotransformation. *Rev. Fish. Sci.* 6 (4), 315–383.

- Brillant, M., MacDonald, B., 2003. Postingestive sorting of living and heat-killed chlorella within the sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 290 (1), 81–91.
- Buestel, D., Ropert, M., Prou, J., Goulletquer, P., 2009. History, status, and future of oyster culture in France. *J. Shellfish Res.* 28 (4), 813–820.
- Burkholder, J. M., 1998. Implications of harmful microalgae and heterotrophic dinoflagellates in management of sustainable marine fisheries. *Ecol. Appl.* 8 (sp1).
- Burnett, N. P., Seabra, R., de Pirro, M., Wethey, D. S., Woodin, S. A., Helmuth, B., Zippay, M. L., Sarà, G., Monaco, C., Lima, F. P., 2013. An improved noninvasive method for measuring heartbeat of intertidal animals. *Limnol. Oceanogr. Methods* 11 (2), 91–100.
- CABI, 2014. Centre for Agriculture and Biosciences International, Datasheet for *Crassostrea gigas*. Accessed : Aout, 2017.
URL <http://www.cabi.org/isc/datasheet/87296>
- Camacho, F. G., Rodríguez, J. G., Mirón, A. S., García, M. C., Belarbi, E., Chisti, Y., Grima, E. M., 2007. Biotechnological significance of toxic marine dinoflagellates. *Biotechnol. Adv.* 25 (2), 176–194.
- Cardoso, J. F., Witte, J. I., van der Veer, H. W., 2006. Intra- and interspecies comparison of energy flow in bivalve species in dutch coastal waters by means of the dynamic energy budget (DEB) theory. *J. Sea Res.* 56 (2), 182–197.
- Casas, S., Bacher, C., 2006. Modelling trace metal (Hg and Pb) bioaccumulation in the mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, applied to environmental monitoring. *J. Sea Res.* 56 (2), 168–181.
- Cembella, A., 1998. Ecophysiology and metabolism of paralytic shellfish toxins in marine microalgae. In : *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*, Heidelberg, Anderson, DM, AD Cembella, GM Hallegraeff (Eds.), NATO-Advanced Study Institute Series. Vol. 41. Springer-Verlag, pp. 381–404.
- Cembella, A. D., Shumway, S. E., Larocque, R., 1994. Sequestering and putative biotransformation of paralytic shellfish toxins by the sea scallop *Placopecten magellanicus* : seasonal and spatial scales in natural populations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 180 (1), 1–22.
- Cembella, A. D., Sullivan, J. J., Boyer, G. L., Taylor, F., Andersen, R. J., 1987. Variation in paralytic shellfish toxin composition within the *Protogonyaulax tamarensis/catenella* species complex; red tide dinoflagellates. *Biochem. Syst. Ecol.* 15 (2), 171–186.
- Chambon, C., Legeay, A., Durrieu, G., Gonzalez, P., Ciret, P., Massabuau, J.-C., 2007. Influence of the parasite worm *Polydora* sp. on the behaviour of the oyster *Crassostrea gigas* : a study of the respiratory impact and associated oxidative stress. *Mar. Biol.* 152 (2), 329–338.

- Chambouvet, A., Laabir, M., Sengco, M., Vaquer, A., Guillou, L., 2011. Genetic diversity of Amoebophryidae (Syndiniales) during *Alexandrium catenella*/tamarensis (Dinophyceae) blooms in the Thau lagoon (Mediterranean sea, France). *Res. Microbiol.* 162 (9), 959–968.
- Chapelle, A., Le Gac, M., Labry, C., Siano, R., Quere, J., Caradec, F., Le Bec, C., Nezan, E., Doner, A., Gouriou, J., 2015. The Bay of Brest (France), a new risky site for toxic *Alexandrium minutum* blooms and PSP shellfish contamination. *Harmful Algae News* 51, 4–5.
- Chebib, H., Cembella, A., Anderson, P., 1993. Differential paralytic shellfish toxin accumulation and detoxification kinetics in transplanted populations of *Mytilus edulis* exposed to natural blooms of *Alexandrium excavatum*. *DEV. MAR. BIOL.* .
- Chelazzi, G., De Pirro, M., Williams, G., 2001. Cardiac responses to abiotic factors in two tropical limpets, occurring at different levels of the shore. *Mar. Biol.* 139 (6), 1079–1085.
- Chelazzi, G., De Pirro, M., Williams, G., 2004. Different cardiac response to copper in limpets from metal polluted and clean shores of Hong Kong. *Mar. Environ. Res.* 58 (1), 83–93.
- Chen, C. Y., Chou, H. N., 2001. Accumulation and depuration of paralytic shellfish poisoning toxins by purple clam *Hiatula rostrata* Lightfoot. *Toxicon* 39 (7), 1029–1034.
- Cheng, T. C., 1996. Hemocytes : forms and functions. The eastern oyster *Crassostrea virginica* 1, 75–93.
- Choi, M.-C., Peter, K., Hsieh, D. P., Lam, P. K., 2006. Trophic transfer of paralytic shellfish toxins from clams (*Ruditapes philippinarum*) to gastropods (*Nassarius festivus*). *Chemosphere* 64 (10), 1642–1649.
- Chou, H. N., Chen, Y. M., Chen, C. Y., 2004. Variety of PSP toxins in four culture strains of *Alexandrium minutum* collected from southern Taiwan. *Toxicon* 43 (3), 337–340.
- Chu, F.-L. E., La Peyre, J. F., 1993. *Perkinsus marinus* susceptibility and defense-related activities in eastern oysters *Crassostrea virginica* : temperature effects. *Dokl. Biol. Sci.* 16, 223–223.
- Clarke, A., Fraser, K., 2004. Why does metabolism scale with temperature? *Funct. Ecol.* 18 (2), 243–251.
- Cognie, B., Barillé, L., Massé, G., Beninger, P. G., 2003. Selection and processing of large suspended algae in the oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 250, 145–152.
- Collos, Y., Vaquer, A., Laabir, M., Abadie, E., Laugier, T., Pastoureaud, A., Souchu, P., 2007. Contribution of several nitrogen sources to growth of *Alexandrium catenella* during blooms in Thau lagoon, southern France. *Harmful Algae* 6 (6), 781–789.
- Comps, M., Duthoit, J.-L., 1979. Infections virales chez les huîtres *Crassostrea angulata* Lmk. et *Crassostrea gigas* Th. *Haliotis* 8, 301–307.

- Conover, R. J., 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 11 (3), 338–345.
- Contreras, A. M., Marsden, I. D., Munro, M. H., 2012. Effects of short-term exposure to paralytic shellfish toxins on clearance rates and toxin uptake in five species of New Zealand bivalve. *Mar. Freshw. Res.* 63 (2), 166–174.
- Coulson, J., Potts, G., Deans, I., Fraser, S., 1968. Exceptional mortality of shags and other seabirds caused by paralytic shellfish poison. *British Birds* 61 (38), 1–404.
- Delaporte, M., Soudant, P., Lambert, C., Moal, J., Pouvreau, S., Samain, J.-F., 2006. Impact of food availability on energy storage and defense related hemocyte parameters of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* during an experimental reproductive cycle. *Aquaculture* 254 (1), 571–582.
- Depledge, M., Andersen, B., 1990. A computer-aided physiological monitoring system for continuous, long-term recording of cardiac activity in selected invertebrates 96 (4), 473–477.
- Deslous-Paoli, J., Héral, M., Berthome, J., Razet, D., Garnier, J., 1981. [natural reproduction of oysters *crassostrea gigas* thunberg in marennes-oleron basin in 1979 and in 1981 : biochemical aspects and caloric value of oysters [france, littoral zone]]. *Revue des Travaux de l'Institut des Peches Maritimes (France)* .
- Deslous-Paoli, J.-M., Héral, M., 1988. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. *Aquat. Living Resour.* 1 (4), 239–249.
- Deslous-Paoli, J.-M., Lannou, A.-M., Geairon, P., Bougrier, S., Raillard, O., Héral, M., 1992. Effects of the feeding behavior of *Crassostrea gigas* (Bivalve Molluscs) on biosedimentation of natural particulate matter. *Hydrobiologia* 231 (2), 85–91.
- Diekmann, O., Metz, J., 2010. How to lift a model for individual behaviour to the population level? *Phil. Trans. R. Soc. B* 365 (1557), 3523–3530.
- Dinamani, P., 1987. Gametogenic patterns in populations of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Northland, New Zealand. *Aquaculture* 64 (1), 65–76.
- Ducrot, V., Péry, A. R., Lagadic, L., 2010. Modelling effects of diquat under realistic exposure patterns in genetically differentiated populations of the gastropod *Lymnaea stagnalis*. *Phil. Trans. R. Soc. B* 365 (1557), 3485–3494.
- Dupuy, J., Sparks, A., 1968. *Gonyaulax washingtonensis*, its relationship to *Mytilus californianus* and *Crassostrea gigas* as a source of paralytic shellfish toxin in Sequim Bay, Washington. In : *Proceedings of the National Shellfish Association*. Vol. 58.
- Dutertre, M., Barillé, L., Haure, J., Cognie, B., 2007. Functional responses associated with pallial organ variations in the pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 352 (1), 139–151.

-
- Dutertre, M., Ernande, B., Haure, J., Barillé, L., 2017. Spatial and temporal adjustments in gill and palp size in the oyster *Crassostrea gigas*. J. Mollusc. Stud. 83 (1), 11–18.
- Eichinger, M., Loizeau, V., Rouspard, F., Le Guellec, A.-M., Bacher, C., 2010. Modelling growth and bioaccumulation of Polychlorinated biphenyls in common sole (*Solea solea*). J. Sea Res. 64 (3), 373–385.
- Emmery, A., Lefebvre, S., Alunno-Bruscia, M., Kooijman, S., 2011. Understanding the dynamics of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in soft tissues of the bivalve *Crassostrea gigas* facing environmental fluctuations in the context of dynamic energy budgets (DEB). J. Sea Res. 66 (4), 361–371.
- Enríquez-Díaz, M., Pouvreau, S., Chávez-Villalba, J., Le Pennec, M., 2009. Gametogenesis, reproductive investment, and spawning behavior of the Pacific giant oyster *Crassostrea gigas* : evidence of an environment-dependent strategy. Aquac. Inter. 17 (5), 491.
- Erard-Le Denn, E., Morlaix, M., Dao, J., 1990. Effects of *Gyrodinium cf. aureolum* on *Pecten maximus* (post larvae, juveniles and adults). .
- Espinosa, E. P., Allam, B., Ford, S. E., 2008. Particle selection in the ribbed mussel *Geukensia demissa* and the Eastern oyster *Crassostrea virginica* : effect of microalgae growth stage. Est. Coast. Shelf Sci. 79 (1), 1–6.
- Espinosa, E. P., Barillé, L., Allam, B., 2007. Use of encapsulated live microalgae to investigate pre-ingestive selection in the oyster *Crassostrea gigas*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 343 (1), 118–126.
- Espinosa, E. P., Cerrato, R. M., Wikfors, G. H., Allam, B., 2016. Modeling food choice in the two suspension-feeding bivalves, *Crassostrea virginica* and *Mytilus edulis*. Mar. Biol. 163 (2), 40.
- Espinosa, E. P., Perrigault, M., Ward, J. E., Shumway, S. E., Allam, B., 2010. Microalgal cell surface carbohydrates as recognition sites for particle sorting in suspension-feeding bivalves. Biol. Bull. 218 (1), 75–86.
- Essink, K., Tydeman, P., De Koning, F., Kleef, H., 1989. On the adaptation of the mussel *Mytilus edulis* L. to different environmental suspended matter concentrations. Proceedings of the 21st EMBS Gdansk, 14–19 September 1986 , 41–51.
- Estrada, N., de Jesús Romero, M., Campa-Córdova, A., Luna, A., Ascencio, F., 2007a. Effects of the toxic dinoflagellate, *Gymnodinium catenatum* on hydrolytic and antioxidant enzymes, in tissues of the giant lions-paw scallop *Nodipecten subnodosus*. Comp. Biochem. Physiol., C 146 (4), 502–510.
- Estrada, N., Rodríguez-Jaramillo, C., Contreras, G., Ascencio, F., 2010. Effects of induced paralysis on hemocytes and tissues of the giant lions-paw scallop by paralyzing shellfish poison. Mar. Biol. 157 (6), 1401–1415.

- Estrada, N. A., Lagos, N., García, C., Maeda-Martínez, A. N., Ascencio, F., 2007b. Effects of the toxic dinoflagellate *gymnodinium catenatum* on uptake and fate of paralytic shellfish poisons in the pacific giant lions-paw scallop *nodipecten subnodosus*. *Mar. Biol.* 151 (4), 1205–1214.
- Etheridge, S. M., 2010. Paralytic shellfish poisoning : seafood safety and human health perspectives. *Toxicon* 56 (2), 108–122.
- Fabioux, C., Sulistiyani, Y., Haberkorn, H., Hégaret, H., Amzil, Z., Soudant, P., 2015. Exposure to toxic *Alexandrium minutum* activates the detoxifying and antioxidant systems in gills of the oyster *Crassostrea gigas*. *Harmful Algae* 48, 55–62.
- FAO, 2015. Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service, Global Production Statistics 1950–2013. Accessed : June 16, 2016.
URL <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/query/fr>
- FAO, 2017. Fisheries and Aquaculture Department, Aquatic Species Distribution Map Viewer. Accessed : Aout, 2017.
URL <http://www.fao.org/figis/geoserver/factsheets/species.html>
- Farrell, H., Seebacher, F., O'connor, W., Zammit, A., Harwood, D. T., Murray, S., 2015. Warm temperature acclimation impacts metabolism of paralytic shellfish toxins from *Alexandrium minutum* in commercial oysters. *Glob. Change Biol.* 21 (9), 3402–3413.
- Fernández, M., Shumway, S., Blanco, J., 2003. Management of shellfish resources. Manual on Harmful Marine Microalgae. UNESCO Publishing, Paris , 657–692.
- Fernández-Reiriz, M., Navarro, J., Contreras, A., Labarta, U., 2008. Trophic interactions between the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* and *Mytilus chilensis* : Feeding and digestive behaviour to long-term exposure. *Aquat. Toxicol.* 87 (4), 245–251.
- Filgueira, R., Guyondet, T., Comeau, L., Grant, J., 2014. A fully-spatial ecosystem-DEB model of oyster (*Crassostrea virginica*) carrying capacity in the richibucto Estuary, Eastern Canada. *J. Mar. Syst.* 136, 42–54.
- Fisher, W. S., Oliver, L. M., Winstead, J. T., Long, E. R., 2000. A survey of oysters *crassostrea virginica* from Tampa bay, Florida : associations of internal defense measurements with contaminant burdens. *Aquat. Toxicol.* 51 (1), 115–138.
- Fistarol, G. O., Legrand, C., Selander, E., Hummert, C., Stolte, W., Granéli, E., 2004. Allelopathy in *Alexandrium* spp. : effect on a natural plankton community and on algal monocultures. *Aquat. Microb. Ecol.* 35 (1), 45–56.
- Flores, H. S., Wikfors, G. H., Dam, H. G., 2012. Reactive oxygen species are linked to the toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium* spp. to protists. *Aquat. Microb. Ecol.* 66 (2), 199–209.

- Flye-Sainte-Marie, J., Jean, F., Paillard, C., Ford, S., Powell, E., Hofmann, E., Klinck, J., 2007a. Ecophysiological dynamic model of individual growth of *Ruditapes philippinarum*. *Aquaculture* 266 (1), 130–143.
- Flye-Sainte-Marie, J., Jean, F., Paillard, C., Kooijman, S. A., 2009. A quantitative estimation of the energetic cost of brown ring disease in the Manila clam using dynamic energy budget theory. *J. Sea Res.* 62 (2), 114–123.
- Flye-Sainte-Marie, J., Pouvreau, S., Paillard, C., Jean, F., 2007b. Impact of Brown Ring Disease on the energy budget of the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 349 (2), 378–389.
- Flynn, K., Franco, J. M., Fernández, P., Reguera, B., Zapata, M., Wood, G., Flynn, K. J., 1994. Changes in toxin content, biomass and pigments of the dinoflagellate *Alexandrium minutum* during nitrogen refeeding and growth into nitrogen or phosphorus stress. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 99–109.
- Ford, S. E., Bricelj, V. M., Lambert, C., Paillard, C., 2008. Deleterious effects of a nonpst bioactive compound (s) from *Alexandrium tamarense* on bivalve hemocytes. *Mar. Biol.* 154 (2), 241–253.
- Ford, S. E., Kanaley, S. A., Littlewood, D., 1993. Cellular responses of oysters infected with *Haplosporidium nelsoni* : changes in circulating and tissue-infiltrating hemocytes. *J. Invertebr. Pathol.* 61 (1), 49–57.
- Forsman, A., Wennersten, L., 2016. Inter-individual variation promotes ecological success of populations and species : evidence from experimental and comparative studies. *Ecography* 39 (7), 630–648.
- Foster-Smith, R., 1975. The role of mucus in the mechanism of feeding in three filter-feeding bivalves. *J. Mollusc. Stud.* 41 (6), 571–588.
- Foster-Smith, R., 1978. The function of the pallial organs of bivalves in controlling ingestion. *J. Mollusc. Stud.* 44, 83–89.
- Freitas, V., Cardoso, J. F., Santos, S., Campos, J., Drent, J., Saraiva, S., Witte, J. I., Kooijman, S. A., Van der Veer, H. W., 2009. Reconstruction of food conditions for Northeast Atlantic bivalve species based on dynamic energy budgets. *J. Sea Res.* 62 (2), 75–82.
- Fremy, J., LeDoux, M., Nezan, E., Piclet, G., Belvez, H., 1989. Evolution de la présence des toxines paralysantes dans les coquillages lors de l'épisode toxique en Aber Wrach (1988). *Toxicorama* 1 (1), 23–28.
- Frémy, J.-M., Lassus, P., 2001. *Toxines d'algues dans l'alimentation*. Editions Quae.
- Gagnaire, B., Soletchnik, P., Madec, P., Geairon, P., Le Moine, O., Renault, T., 2006. Diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), reared at two heights above sediment in Marennes-Oleron Basin, France : difference in mortality, sexual maturation and hemocyte parameters. *Aquaculture* 254 (1), 606–616.

- Gainey, L., Shumway, S., 1988a. A compendium of the responses of bivalve molluscs to toxic dinoflagellates. *J. Shellfish Res.* 7 (4), 623–628.
- Gainey, L. F., Shumway, S. E., 1988b. Physiological effects of *Protogonyaulax tamarensis* on cardiac activity in bivalve molluscs. *Comp. Biochem. Physiol., C* 91 (1), 159–164.
- Galimany, E., Place, A. R., Ramón, M., Jutson, M., Pipe, R. K., 2008a. The effects of feeding *Karlodinium veneficum* (PLY# 103; *Gymnodinium veneficum* Ballantine) to the blue mussel *Mytilus edulis*. *Harmful Algae* 7 (1), 91–98.
- Galimany, E., Ramón, M., Ibarrola, I., 2011. Feeding behavior of the mussel *Mytilus galloprovincialis* (L.) in a Mediterranean estuary : a field study. *Aquaculture* 314 (1), 236–243.
- Galimany, E., Rose, J. M., Dixon, M. S., Wikfors, G. H., 2013. Quantifying feeding behavior of ribbed mussels (*Geukensia demissa*) in two urban sites (Long Island Sound, USA) with different seston characteristics. *Est. Coast* 36 (6), 1265–1273.
- Galimany, E., Sunila, I., Hégaret, H., Ramón, M., Wikfors, G. H., 2008b. Experimental exposure of the blue mussel (*Mytilus edulis*, L.) to the toxic dinoflagellate *Alexandrium fundyense* : Histopathology, immune responses, and recovery. *Harmful Algae* 7 (5), 702–711.
- Galimany, E., Sunila, I., Hégaret, H., Ramón, M., Wikfors, G. H., 2008c. Pathology and immune response of the blue mussel (*Mytilus edulis*, L.) after an exposure to the harmful dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. *Harmful Algae* 7 (5), 630–638.
- Galloway, T. S., Brown, R. J., Browne, M. A., Dissanayake, A., Lowe, D., Jones, M. B., Depledge, M. H., 2004. A multibiomarker approach to environmental assessment. *Environ. Sci. Technol.* 38 (6), 1723–1731.
- Galtsoff, P. S., 1938. Physiology of reproduction of *Ostrea virginica* : II. Stimulation of spawning in the female oyster. *Biol. Bull.* 75 (2), 286–307.
- Galtsoff, P. S., 1964. The american oyster *Crassostrea virginica* Gmelin. *Fish. Bull.* 64, 421–425.
- Gamfeldt, L., Wallén, J., Jonsson, P. R., Berntsson, K. M., Havenhand, J. N., 2005. Increasing intraspecific diversity enhances settling success in a marine invertebrate. *Ecology* 86 (12), 3219–3224.
- Garnier, M., Labreuche, Y., Garcia, C., Robert, M., Nicolas, J.-L., 2007. Evidence for the involvement of pathogenic bacteria in summer mortalities of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Microb. Ecol.* 53 (2), 187–196.
- Genovesi, B., Laabir, M., Masseret, E., Collos, Y., Vaquer, A., Grzebyk, D., 2009. Dormancy and germination features in resting cysts of *Alexandrium tamarensis* species complex (Dinophyceae) can facilitate bloom formation in a shallow lagoon (Thau, southern France). *J. Plankt. Res.* 31 (10), 1209–1224.

- Geraci, J. R., Anderson, D. M., Timperi, R. J., St. Aubin, D. J., Early, G. A., Prescott, J. H., Mayo, C. A., 1989. Humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) fatally poisoned by dinoflagellate toxin. *Can. J. of Fish. Aquat. Sci.* 46 (11), 1895–1898.
- Gerdes, D., 1983. The Pacific oyster *Crassostrea gigas* : Part I. Feeding behaviour of larvae and adults. *Aquaculture* 31 (2-4), 195–219.
- Glibert, P. M., Anderson, D. M., Gentien, P., Granéli, E., Sellner, K. G., 2005. The global, complex phenomena of harmful algal blooms. *Oceanography* .
- Gobler, C. J., Doherty, O. M., Hattenrath-Lehmann, T. K., Griffith, A. W., Kang, Y., Litaker, R. W., 2017. Ocean warming since 1982 has expanded the niche of toxic algal blooms in the North Atlantic and North Pacific oceans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114 (19), 4975–4980.
- Gouletquer, P., Joly, J.-P., Gerard, A., Le Gagneur, E., Moriceau, J., Peignon, J.-M., Heurtebise, S., Phelipot, P., 1996. Performance of triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) reared in high carrying capacity ecosystem : survival, growth and proximate biochemical composition. *Haliotis* 25, 1–12.
- Gouletquer, P., Soletchnik, P., Le Moine, O., Razet, D., Geaïron, P., Faury, N., 1998. Summer mortality of the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* in the Bay of Marennes-Oleron (France). In : CIEM Conseil International pour l'Exploration de la Mer.
- Gourault, M., Petton, S., Thomas, Y., Pecquerie, L., Marques, G., Cassou, C., Fleury, É., Paulet, Y.-M., Pouvreau, S., in prep. Modelling reproductive traits of an invasive bivalve species under contrasted climate scenarios from 1960 to 2100 .
- Granéli, E., Flynn, K., 2006. Chemical and physical factors influencing toxin content. *Ecol. Harmful Algae*, 229–241.
- Graneli, E., Hansen, P. J., 2006. Allelopathy in harmful algae : a mechanism to compete for resources? *Ecol. Harmful Algae*, 189–201.
- Grizel, H., Héral, M., 1991. Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *ICES J. Mar. Sci.* 47 (3), 399–403.
- Guallar, C., Bacher, C., Chapelle, A., 2017. Global and local factors driving the phenology of *Alexandrium minutum* (Halim) blooms and its toxicity. *Harmful Algae* 67, 44–60.
- Guéguen, M., 2009. Modélisation de la détoxification de mollusques bivalves contenant des phycotoxines paralysantes ou diarrhéiques. Ph.D. thesis, Nantes.
- Guéguen, M., Bardouil, M., Baron, R., Lassus, P., Truquet, P., Massardier, J., Amzil, Z., 2008a. Detoxification of Pacific oyster *Crassostrea gigas* fed on diets of *Skeletonema costatum* with and without silt, following PSP contamination by *Alexandrium minutum*. *Aquat. Living Resour.* 21 (1), 13–20.
- Guéguen, M., Baron, R., Bardouil, M., Haberkorn, H., Soudant, P., Truquet, P., Lassus, P., 2012. Influence of *Crassostrea gigas* (Thunberg) sexual maturation stage and ploidy on uptake of paralytic phycotoxins. *Toxicon* 60 (1), 40–43.

- Guéguen, M., Baron, R., Bardouil, M., Truquet, P., Haberkorn, H., Lassus, P., Barillé, L., Amzil, Z., 2011. Modelling of paralytic shellfish toxin biotransformations in the course of *Crassostrea gigas* detoxification kinetics. *Ecol. Model.* 222 (18), 3394–3402.
- Guéguen, M., Lassus, P., Laabir, M., Bardouil, M., Baron, R., Séchet, V., Truquet, P., Amzil, Z., Barillé, L., 2008b. Gut passage times in two bivalve molluscs fed toxic microalgae : *Alexandrium minutum*, *A. catenella* and *Pseudo-nitzschia calliantha*. *Aquat. Living Resour.* 21 (1), 21–29.
- Guillard, R., Hargraves, P., 1993. *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. *Phycologia* 32 (3), 234–236.
- Guo, X., Cooper, K., Hershberger, W. K., Chew, K. K., 1992a. Genetic consequences of blocking polar body I with cytochalasin B in fertilized eggs of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* : I. Ploidy of resultant embryos. *Biol. Bull.* 183 (3), 381–386.
- Guo, X., DeBrosse, G. A., Allen, S. K., 1996. All-triploid Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) produced by mating tetraploids and diploids. *Aquaculture* 142 (3), 149–161.
- Guo, X., Hershberger, W. K., Cooper, K., Chew, K. K., 1992b. Genetic consequences of blocking polar body I with cytochalasin B in fertilized eggs of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* : II. Segregation of chromosomes. *Biol. Bull.* 183 (3), 387–393.
- Haberkorn, H., Lambert, C., Le Goïc, N., Guéguen, M., Moal, J., Palacios, E., Lassus, P., Soudant, P., 2010a. Effects of *Alexandrium minutum* exposure upon physiological and hematological variables of diploid and triploid oysters, *Crassostrea gigas*. *Aquat. Toxicol.* 97 (2), 96–108.
- Haberkorn, H., Lambert, C., Le Goïc, N., Moal, J., Suquet, M., Guéguen, M., Sunila, I., Soudant, P., 2010b. Effects of *Alexandrium minutum* exposure on nutrition-related processes and reproductive output in oysters *Crassostrea gigas*. *Harmful Algae* 9 (5), 427–439.
- Haberkorn, H., Tran, D., Massabuau, J.-C., Ciret, P., Savar, V., Soudant, P., 2011. Relationship between valve activity, microalgae concentration in the water and toxin accumulation in the digestive gland of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to *Alexandrium minutum*. *Mar. Pollut. Bull.* 62 (6), 1191–1197.
- Haley, L. E., Newkirk, G. F., 1977. Selecting oysters for faster growth. *J. World Aquac. Soc.* 8 (1-4), 557–565.
- Halldórsson, H. P., De Pirro, M., Romano, C., Svavarsson, J., Sarà, G., 2008. Immediate biomarker responses to benzo [a] pyrene in polluted and unpolluted populations of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.) at high-latitudes. *Environ. Int.* 34 (4), 483–489.
- Hallegraeff, G. M., 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia* 32 (2), 79–99.
- Hallegraeff, G. M., 1995. Harmful algal blooms : a global overview. *Manual on harmful marine microalgae* 33, 1–22.

- Hallegraeff, G. M., 2014. Harmful algae and their toxins : progress, paradoxes and paradigm shifts. *Toxins and biologically active compounds from microalgae* 1 (1).
- Hallegraeff, G. M., Anderson, D. M., Cembella, A. D., Enevoldsen, H. O., *et al.* 2003. Manual on harmful marine microalgae. Unesco.
- Hand, R., Nell, J., Thompson, P., 2004. Studies on triploid oysters in Australia : XIII. Performance of diploid and triploid Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata* (Gould, 1850), progeny from a third generation breeding line. *Aquaculture* 233 (1), 93–107.
- Hansen, G., Daugbjerg, N., Franco, J., 2003. Morphology, toxin composition and LSU rDNA phylogeny of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) from Denmark, with some morphological observations on other european strains. *Harmful Algae* 2 (4), 317–335.
- Hawkins, A., Day, A., Gerard, A., Naciri, Y., Ledu, C., Bayne, B., Heral, M., 1994. A genetic and metabolic basis for faster growth among triploids induced by blocking meiosis I but not meiosis II in the larviparous European flat oyster, *Ostrea edulis* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 184 (1), 21–40.
- Hawkins, A. J., 1995. Effects of temperature change on ectotherm metabolism and evolution : metabolic and physiological interrelations underlying the superiority of multi-locus heterozygotes in heterogeneous environments. *J. Theor. Biol.* 20 (1-2), 23–33.
- Hégaret, H., Brokordt, K. B., Gaymer, C. F., Lohrmann, K. B., García, C., Varela, D., 2012. Effects of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* on histopathological and escape responses of the Northern scallop *Argopecten purpuratus*. *Harmful Algae* 18, 74–83.
- Hégaret, H., Da Silva, P. M., Sunila, I., Shumway, S. E., Dixon, M. S., Alix, J., Wikfors, G. H., Soudant, P., 2009a. Perkinsosis in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* affects responses to the harmful-alga, *Prorocentrum minimum*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 371 (2), 112–120.
- Hégaret, H., Da Silva, P. M., Wikfors, G. H., Haberkorn, H., Shumway, S. E., Soudant, P., 2011. In vitro interactions between several species of harmful algae and haemocytes of bivalve molluscs. *Cell Biol. Toxicol.* 27 (4), 249–266.
- Hégaret, H., Shumway, S. E., Wikfors, G. H., Pate, S., Burkholder, J. M., 2008. Potential transport of harmful algae via relocation of bivalve molluscs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 361, 169–179.
- Hégaret, H., Wikfors, G., Shumway, S., *et al.* 2009b. Biotxin contamination and shellfish safety. *Shellfish safety and quality* , 43–80.
- Hégaret, H., Wikfors, G. H., Shumway, S. E., 2007a. Diverse feeding responses of five species of bivalve mollusc when exposed to three species of harmful algae. *J. Shellfish Res.* 26 (2), 549–559.

- Hégaret, H., Wikfors, G. H., Soudant, P., Lambert, C., Shumway, S. E., Bérard, J. B., Lassus, P., 2007b. Toxic dinoflagellates (*Alexandrium fundyense* and *A. catenella*) have minimal apparent effects on oyster hemocytes. *Mar. Biol.* 152 (2), 441–447.
- Heino, M., Godø, O. R., 2002. Fisheries-induced selection pressures in the context of sustainable fisheries. *Bull. Mar. Sci.* 70 (2), 639–656.
- Heisler, J., Glibert, P. M., Burkholder, J. M., Anderson, D. M., Cochlan, W., Dennison, W. C., Dortch, Q., Gobler, C. J., Heil, C. A., Humphries, E., *et al.* 2008. Eutrophication and harmful algal blooms : a scientific consensus. *Harmful Algae* 8 (1), 3–13.
- Helm, M., Trueman, E., 1967. The effect of exposure on the heart rate of the mussel, *Mytilus edulis* L. *Comp. Biochem. Physiol.* 21 (1), 171–177.
- Heral, M., 1989. Traditional oyster culture in France. In : *Barnabe Aquaculture* , 342–387.
- Hermabessiere, L., Fabioux, C., Lassudrie, M., Boullot, F., Long, M., Lambert, C., Le Goïc, N., Gouriou, J., Le Gac, M., Chappelle, A., *et al.* 2016. Influence of gametogenesis pattern and sex on paralytic shellfish toxin levels in triploid Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to a natural bloom of *Alexandrium minutum*. *Aquaculture* 455, 118–124.
- Hildreth, D., Crisp, D., 1976. A corrected formula for calculation of filtration rate of bivalve molluscs in an experimental flowing system. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 56 (01), 111–120.
- Hoagland, P., Scatasta, S., 2006. The economic effects of harmful algal blooms. In : *Ecology of harmful algae*. Springer, pp. 391–402.
- Honsell, G., Poletti, R., Pompei, M., Sidari, L., Milandri, A., Casadei, C., Viviani, R., 1996. *Alexandrium minutum* Halim and PSP contamination in the northern Adriatic Sea (Mediterranean sea). *Harmful Toxic Algal Blooms*, 77–80.
- Hu, T., Curtis, J. M., Oshima, Y., Quilliam, M. A., Walter, J. A., Watson-Wright, W. M., Wright, J. L., 1995. Spirolides B and D, two novel macrocycles isolated from the digestive glands of shellfish. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 20, 2159–2161.
- Hurst, J. W., Gilfillan, E. S., 1977. Paralytic shellfish poisoning in Maine. Department of Marine Resources.
- Hwang, D.-F., Chueh, C.-H., Jeng, S.-S., 1990. Susceptibility of fish, crustacean and mollusk to tetrodotoxin and paralytic shellfish poison. *Nippon Suis Gak* 56 (2), 337–343.
- Hwang, D. F., Lu, Y. H., 2000. Influence of environmental and nutritional factors on growth, toxicity, and toxin profile of dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Toxicon* 38 (11), 1491–1503.
- Iglesias, J., Urrutia, M., Navarro, E., Ibarrola, I., 1998. Measuring feeding and absorption in suspension-feeding bivalves : an appraisal of the biodeposition method. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 219 (1), 71–86.

-
- Jager, T., Barsi, A., Hamda, N. T., Martin, B. T., Zimmer, E. I., Ducrot, V., 2014. Dynamic energy budgets in population ecotoxicology : Applications and outlook. *Ecol. Model.* 280, 140–147.
- Jager, T., Zimmer, E. I., 2012. Simplified dynamic energy budget model for analysing ecotoxicity data. *Ecol. Model.* 225, 74–81.
- Jin, D., Thunberg, E., Hoagland, P., 2008. Economic impact of the 2005 red tide event on commercial shellfish fisheries in New England. *Ocean. Coast. Manage.* 51 (5), 420–429.
- John, E., Flynn, K., 2000. Growth dynamics and toxicity of alexandrium fundyense (Dinophyceae) : the effect of changing N [ratio] P supply ratios on internal toxin and nutrient levels. *Eur. J. Phycol.* 35 (1), 11–23.
- Jørgensen, C. B., 1996. Bivalve filter feeding revisited. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 142, 287–302.
- Jouaux, A., Heude-Berthelin, C., Sourdain, P., Mathieu, M., Kellner, K., 2010. Gametogenic stages in triploid oysters *Crassostrea gigas* : Irregular locking of gonial proliferation and subsequent reproductive effort. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 395 (1), 162–170.
- Kat, M., 1979. Occurrence of *Prorocentrum* species and coincidental gastrointestinal illness of mussel consumers. *Dev. Mar. Biol.*
- Kautsky, N., Johannesson, K., Tedengren, M., 1990. Genotypic and phenotypic differences between Baltic and North Sea populations of *Mytilus edulis* evaluated through reciprocal transplantations. I. Growth and morphology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 203–210.
- Kearney, M., 2012. Metabolic theory, life history and the distribution of a terrestrial ectotherm. *Funct. Ecol.* 26 (1), 167–179.
- Kearney, M. R., Simpson, S. J., Raubenheimer, D., Kooijman, S. A., 2013. Balancing heat, water and nutrients under environmental change : a thermodynamic niche framework. *Funct. Ecol.* 27 (4), 950–966.
- Kermarec, F., Dor, F., Armengaud, A., Charlet, F., Kantin, R., Sauzade, D., De Haro, L., 2008. Les risques sanitaires liés à la présence d'*Ostreopsis ovata* dans les eaux de baignade ou d'activités nautiques. *Environnement, risques & santé* 7 (5), 357–363.
- Kjørboe, T., Møhlenberg, F., 1981. Particle selection in suspension-feeding bivalves. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 291–296.
- Kontis, K. J., Goldin, A. L., 1993. Site-directed mutagenesis of the putative pore region of the rat IIA sodium channel. *Mol. Pharmacol.* 43 (4), 635–644.
- Kooijman, S., 1993. Dynamic energy budgets in biology systems- theory and applications in ecotoxicology.
- Kooijman, S., 1998. The synthesizing unit as model for the stoichiometric fusion and branching of metabolic fluxes. *Bioph. Chem.* 73 (1), 179–188.

- Kooijman, S., Bedaux, J., 1996. Analysis of toxicity tests on fish growth. *Wat. Res.* 30 (7), 1633–1644.
- Kooijman, S. A., 2006. Pseudo-faeces production in bivalves. *J. Sea Res.* 56, 103–106.
- Kooijman, S. A. L. M., 2010. Dynamic energy budget theory for metabolic organisation. Cambridge university press.
- Kvitek, R., Beitler, M., 1991. Relative insensitivity of butter clam neurons to saxitoxin : A pre-adaptation for sequestering paralytic shellfish poisoning toxins as a chemical defense. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69 (1), 47–54.
- Kvitek, R. G., Goldberg, J. D., Smith, G. J., Doucette, G. J., Silver, M. W., 2008. Domoic acid contamination within eight representative species from the benthic food web of Monterey Bay, California, USA. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 367, 35–47.
- Kwong, R. W., Wang, W.-X., Lam, P. K., Peter, K., 2006a. The uptake, distribution and elimination of paralytic shellfish toxins in mussels and fish exposed to toxic dinoflagellates. *Aquat. Toxicol.* 80 (1), 82–91.
- Kwong, R. W., Wang, W.-X., Lam, P. K., Yu, P. K., 2006b. The uptake, distribution and elimination of paralytic shellfish toxins in mussels and fish exposed to toxic dinoflagellates. *Aquat. Toxicol.* 80 (1), 82 – 91.
- Laabir, M., Amzil, Z., Lassus, P., Masseret, E., Tapilatu, Y., De Vargas, R., Grzebyk, D., 2007. Viability, growth and toxicity of *Alexandrium catenella* and *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) following ingestion and gut passage in the oyster *Crassostrea gigas*. *Aquat. Living Resour.* 20 (1), 51–57.
- Laabir, M., Collos, Y., Masseret, E., Grzebyk, D., Abadie, E., Savar, V., Sibat, M., Amzil, Z., 2013. Influence of environmental factors on the paralytic shellfish toxin content and profile of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) isolated from the Mediterranean Sea. *Mar. Drugs* 11 (5), 1583–1601.
- Laanaia, N., Vaquer, A., Fiandrino, A., Genovesi, B., Pastoureaud, A., Cecchi, P., Collos, Y., 2013. Wind and temperature controls on *Alexandrium* blooms (2000–2007) in Thau lagoon (Western Mediterranean). *Harmful Algae* 28, 31–36.
- Lacoste, A., Jalabert, F., Malham, S., Cueff, A., Gelebart, F., Cordevant, C., Lange, M., Poulet, S., 2001. A *Vibrio splendidus* strain is associated with summer mortality of juvenile oysters *Crassostrea gigas* in the Bay of Morlaix (North Brittany, France). *Dokl. Biol. Sci.*
- Landsberg, J. H., 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Rev. Fish. Sci.* 10 (2), 113–390.
- Lango Reynoso, F., 1999. Détermination de la sexualité chez l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). Ph.D. thesis, Université de Bretagne Occidentale.

- Lassudrie, M., Soudant, P., Nicolas, J.-L., Fabioux, C., Lambert, C., Miner, P., Le Grand, J., Petton, B., Hégaret, H., 2015a. Interaction between toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* exposure and disease associated with herpesvirus OsHV-1 μ var in Pacific oyster spat *Crassostrea gigas*. *Harmful Algae* 45, 53–61.
- Lassudrie, M., Wikfors, G. H., Sunila, I., Alix, J. H., Dixon, M. S., Combot, D., Soudant, P., Fabioux, C., Hégaret, H., 2015b. Physiological and pathological changes in the eastern oyster *Crassostrea virginica* infested with the trematode *Bucephalus sp.* and exposed to the toxic dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. *J. Invertebr. Pathol.* 126, 51–63.
- Lassus, P., Amzil, Z., Baron, R., Séchet, V., Barillé, L., Abadie, E., Bardouil, M., Sibat, M., Truquet, P., Bérard, J.-B., 2007. Modelling the accumulation of PSP toxins in Thau lagoon oysters (*Crassostrea gigas*) from trials using mixed cultures of *Alexandrium catenella* and *Thalassiosira weissflogii*. *Aquat. Living Resour.* 20 (01), 59–67.
- Lassus, P., Bardouil, M., Baron, R., Berard, J.-B., Masselin, P., Truquet, P., Pitrat, J., 2005. Improving detoxification efficiency of PSP-contaminated oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture Eur.*
- Lassus, P., Bardouil, M., Beliaeff, B., Masselin, P., Naviner, M., Truquet, P., 1999. Effect of a continuous supply of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* Halim on the feeding behavior of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). *J. Sea Res.* 18 (1), 211–216.
- Lassus, P., Bardouil, M., Masselin, P., Naviner, M., Truquet, P., 2000. Comparative efficiencies of different non-toxic microalgal diets in detoxification of PSP-contaminated oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). *J. Nat. Toxins* 9 (1), 1–12.
- Lassus, P., Baron, R., Garen, P., Truquet, P., Masselin, P., Bardouil, M., Leguay, D., Amzil, Z., 2004. Paralytic shellfish poison outbreaks in the Penze estuary : Environmental factors affecting toxin uptake in the oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquat. Living Resour.* 17 (2), 207–214.
- Lavaud, R., Flye-Sainte-Marie, J., Jean, F., Emmerly, A., Strand, Ø., Kooijman, S. A., 2014. Feeding and energetics of the great scallop, *Pecten maximus*, through a DEB model. *J. Sea Res.* 94, 5–18.
- Le Gland, G., 2014. Modélisation 0d des efflorescences d'*Alexandrium* en rade de Brest en compétition inter-spécifique .
- Le Goïc, N., Hégaret, H., Fabioux, C., Miner, P., Suquet, M., Lambert, C., Soudant, P., 2013. Impact of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* on Pacific oyster reproductive output : application of flow cytometry assays on spermatozoa. *Aquat. Living Resour.* 26 (3), 221–228.
- Lefebvre, K. A., Bill, B. D., Erickson, A., Baugh, K. A., O'Rourke, L., Costa, P. R., Nance, S., Trainer, V. L., 2008. Characterization of intracellular and extracellular saxitoxin levels in both field and cultured *Alexandrium* spp. samples from Sequim Bay, Washington. *Mar. Drugs* 6 (2), 103–116.

- Legendre, P., 2014. lmodel2 : Model II Regression. R package version 1.7-2.
URL <https://CRAN.R-project.org/package=lmodel2>
- Lelong, A., Haberkorn, H., Le Goïc, N., Hégaret, H., Soudant, P., 2011. A new insight into allelopathic effects of *Alexandrium minutum* on photosynthesis and respiration of the diatom *Chaetoceros neogracile* revealed by photosynthetic-performance analysis and flow cytometry. *Microb. Ecol.* 62 (4), 919–930.
- Leong, S. C. Y., Murata, A., Nagashima, Y., Taguchi, S., 2004. Variability in toxicity of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in response to different nitrogen sources and concentrations. *Toxicon* 43 (4), 407–415.
- Leverone, J. R., Blake, N. J., Pierce, R. H., Shumway, S. E., 2006. Effects of the dinoflagellate *Karenia brevis* on larval development in three species of bivalve mollusc from Florida. *Toxicon* 48 (1), 75–84.
- Leverone, J. R., Shumway, S. E., Blake, N. J., 2007. Comparative effects of the toxic dinoflagellate *Karenia brevis* on clearance rates in juveniles of four bivalve molluscs from Florida, USA. *Toxicon* 49 (5), 634–645.
- Li, S.-C., Wang, W.-X., 2001. Radiotracer studies on the feeding of two marine bivalves on the toxic and nontoxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 263 (1), 65–75.
- Li, S.-C., Wang, W.-X., Hsieh, D. P., 2002. Effects of toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on the energy budgets and growth of two marine bivalves. *Mar. Environ. Res.* 53 (2), 145–160.
- Lim, P.-T., Leaw, C.-P., Usup, G., Kobiyama, A., Koike, K., Ogata, T., 2006. Effects of light and temperature on growth, nitrate uptake, and toxin production of two tropical dinoflagellates : *Alexandrium tamiyavanichii* and *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). *J. Phycol.* 42 (4), 786–799.
- Lin, H.-P., Cho, Y., Yashiro, H., Yamada, T., Oshima, Y., 2004. Purification and characterization of paralytic shellfish toxin transforming enzyme from *Macra chinensis*. *Toxicon* 44 (6), 657–668.
- Llandres, A. L., Marques, G. M., Maino, J. L., Kooijman, S., Kearney, M. R., Casas, J., 2015. A dynamic energy budget for the whole life-cycle of holometabolous insects. *Ecol. Monogr.* 85 (3), 353–371.
- Logan, C. A., Kost, L. E., Somero, G. N., 2012. Latitudinal differences in *Mytilus californianus* thermal physiology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 450, 93–105.
- Lu, Y., Hwang, D., 2002. Effects of toxic dinoflagellates and toxin biotransformation in bivalves. *J. Nat. Toxins* 11 (4), 315–322.

- Luckenbach, M., Sellner, K., Shumway, S., Greene, K., 1993. Effects of two bloom-forming dinoflagellates, *Prorocentrum minimum* and *Gyrodinium uncatenum*, on the growth and survival of the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin 1791). J. Shellfish Res. 12 (2), 411–415.
- Ma, H., Krock, B., Tillmann, U., Muck, A., Wielsch, N., Svatoš, A., Cembella, A., 2011. Isolation of activity and partial characterization of large non-proteinaceous lytic allelochemicals produced by the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. Harmful Algae 11, 65–72.
- MacQuarrie, S. P., Bricelj, V. M., 2008. Behavioral and physiological responses to PSP toxins in *Mya arenaria* populations in relation to previous exposure to red tides. Mar. Ecol. Prog. Ser. 366, 59–74.
- Madenwald, N. D., 1985. Effect of water temperature on the loss of paralytic shellfish poison from the butter clam, *Saxidomus giganteus*. In : 3. International Conference on Toxic Dinoflagellates, St. Andrews, New Brunswick (Canada), 8–12 Jun 1985. Elsevier.
- Mafra, L. L., Bricelj, V. M., Fennel, K., 2010a. Domoic acid uptake and elimination kinetics in oysters and mussels in relation to body size and anatomical distribution of toxin. Aquat. Toxicol. 100 (1), 17–29.
- Mafra, L. L., Bricelj, V. M., Ouellette, C., Bates, S. S., 2010b. Feeding mechanics as the basis for differential uptake of the neurotoxin domoic acid by oysters, *Crassostrea virginica*, and mussels, *Mytilus edulis*. Aquat. Toxicol. 97 (2), 160–171.
- Mafra, L. L., Bricelj, V. M., Ward, J. E., 2009. Mechanisms contributing to low domoic acid uptake by oysters feeding on *Pseudo-nitzschia* cells. II. Selective rejection. Aquat. Biol. 6, 213–226.
- Marsden, I. D., Contreras, A. M., MacKenzie, L., Munro, M. H., 2015. A comparison of the physiological responses, behaviour and biotransformation of paralytic shellfish poisoning toxins in a surf-clam (*Paphies donacina*) and the green-lipped mussel (*Perna canaliculus*). Mar. Freshw. Res. 67 (8), 1163–1174.
- Marsden, I. D., Shumway, S. E., 1993. The effect of a toxic dinoflagellate (*Alexandrium tamarense*) on the oxygen uptake of juvenile filter-feeding bivalve molluscs. Comp. Biochem. Physiol., A 106 (4), 769–773.
- Marshall, D. J., Dong, Y.-w., McQuaid, C. D., Williams, G. A., 2011. Thermal adaptation in the intertidal snail *Echinolittorina malaccana* contradicts current theory by revealing the crucial roles of resting metabolism. J. Exp. Biol. 214 (21), 3649–3657.
- Marshall, D. J., Peter, R., Chown, S. L., 2004. Regulated bradycardia in the pulmonate limpet Siphonaria (Gastropoda : Mollusca) during pollutant exposure : implication for biomarker studies. Comp. Biochem. Physiol., A 139 (3), 309–316.

- Mat, A., Klopp, C., Payton, L., Jeziorski, C., Chalopin, M., Amzil, Z., Tran, D., Hégaret, H., Soudant, P., Fabioux, C., Arnaud, H., in prep. Paralytic shellfish toxins load prediction by gene expression in oysters exposed to *Alexandrium minutum* .
- Mat, A. M., Haberkorn, H., Bourdineaud, J.-P., Massabuau, J.-C., Tran, D., 2013. Genetic and genotoxic impacts in the oyster *Crassostrea gigas* exposed to the harmful alga *Alexandrium minutum*. *Aquat. Toxicol.* 140, 458–465.
- Maurer, D., Auby, I., Passoni, S., Meteigner, C., Rigouin, L., Rumèbe, M., Tournaire, M.-P., Simonnet, B., Navarro, R., 2013. Reproduction de l'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon. Année 2013 .
- McFarland, K., 2015. Population dynamics of the invasive green mussel *Perna viridis* and their response to the toxic dinoflagellate *Karenia brevis* : application of dynamic energy budget theory to determine population trends. Ph.D. thesis, Université de Bretagne Occidentale (UBO), Brest.
- McFarren, E. F., Schafer, M. L., Campbell, J. E., Lewis, K. H., Jensen, E. T., Schantz, E. J., 1961. Public health significance of paralytic shellfish poison. *Adv. Food Res.* 10, 135–179.
- Medler, S., Silverman, H., 2001. Muscular alteration of gill geometry in vitro : implications for bivalve pumping processes. *Biol. Bull.* 200 (1), 77–86.
- Miller, R. J., Lenihan, H. S., Muller, E. B., Tseng, N., Hanna, S. K., Keller, A. A., 2010. Impacts of metal oxide nanoparticles on marine phytoplankton. *Environ. Sci. Technol.* 44 (19), 7329–7334.
- Miossec, L., Le Deuff, R.-M., Gouletquer, P., 2009. Alien species alert : *Crassostrea gigas* (Pacific oyster). *ICES Coop. Res. Rep.* 299.
- Molnár, P. K., Derocher, A. E., Klanjscek, T., Lewis, M. A., 2011. Predicting climate change impacts on polar bear litter size. *Nat. Commun.* 2, 186.
- Montalto, V., Sarà, G., Ruti, P. M., Dell'Aquila, A., Helmuth, B., 2014. Testing the effects of temporal data resolution on predictions of the effects of climate change on bivalves. *Ecol. Model.* 278, 1–8.
- Moore, S. K., Trainer, V. L., Mantua, N. J., Parker, M. S., Laws, E. A., Backer, L. C., Fleming, L. E., 2008. Impacts of climate variability and future climate change on harmful algal blooms and human health. *Environ. Health* 7 (2), S4.
- Moroño, A., Franco, J., Miranda, M., Reyero, M. I., Blanco, J., 2001. The effect of mussel size, temperature, seston volume, food quality and volume-specific toxin concentration on the uptake rate of PSP toxins by mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 257 (1), 117–132.
- Muller, E. B., 2011. Synthesizing units as modeling tool for photosynthesizing organisms with photoinhibition and nutrient limitation. *Ecol. Model.* 222 (3), 637–644.

- Narahashi, T., Moore, J. W., 1968. Neuroactive agents and nerve membrane conductances. *J. Gen. Physiol.* 51 (5), 93.
- Navarro, E., Iglesias, J., Ortega, M., 1992. Natural sediment as a food source for the cockle *Cerastoderma edule* (L.) : effect of variable particle concentration on feeding, digestion and the scope for growth. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 156 (1), 69–87.
- Navarro, J. M., Contreras, A. M., 2010. An integrative response by *Mytilus chilensis* to the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Mar. Biol.* 157 (9), 1967–1974.
- Nell, J. A., 2002. Farming triploid oysters. *Aquaculture* 210 (1), 69–88.
- Nielsen, M., Strømgren, T., 1991. Shell growth response of mussels (*Mytilus edulis*) exposed to toxic microalgae. *Mar. Biol.* 108 (2), 263–267.
- Nisbet, I. C., 1983. Paralytic shellfish poisoning : effects on breeding terns. *Condor* 85 (3), 338–345.
- Normand, J., 2009. Déterminismes génétiques de l'allocation à la reproduction chez les huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) triploïdes. Ph.D. thesis, La Rochelle.
- Normand, J., Ernande, B., Haure, J., McCombie, H., Boudry, P., 2009. Reproductive effort and growth in *Crassostrea gigas* : comparison of young diploid and triploid oysters issued from natural crosses or chemical induction. *Aquat. Biol.* 7 (3), 229–241.
- Ogata, T., Ishimaru, T., Kodama, M., 1987. Effect of water temperature and light intensity on growth rate and toxicity change in *Protogonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.* 95 (2), 217–220.
- Olive, P., 1995. Annual breeding cycles in marine invertebrates and environmental temperature : probing the proximate and ultimate causes of reproductive synchrony. *J. Therm. Biol.* 20 (1-2), 79–90.
- Orensanz, J. M. L., Schwindt, E., Pastorino, G., Bortolus, A., Casas, G., Darrigran, G., Elías, R., Gappa, J. J. L., Obenat, S., Pascual, M., *et al.* 2002. No longer the pristine confines of the world ocean : a survey of exotic marine species in the southwestern Atlantic. *Biol. Invasions* 4 (1-2), 115–143.
- Oshima, Y., 1995a. Chemical and enzymatic transformation of paralytic shellfish toxins in marine organisms. *Harmful Marine Algal Blooms.* , 475–480.
- Oshima, Y., 1995b. Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *J. AOAC. int.* 78 (2), 528–532.
- Oshima, Y., Bolch, C. J., Hallegraeff, G. M., 1992. Toxin composition of resting cysts of *Alexandrium tamarensis* (Dinophyceae). *Toxicon* 30 (12), 1539–1544.
- Padilla, D. K., Doall, M. H., Gobler, C. J., Hartson, A., O'Boyle, K., 2006. Brown tide alga, *Aureococcus anophagefferens*, can affect growth but not survivorship of *Mercenaria mercenaria* larvae. *Harmful Algae* 5 (6), 736–748.

- Payne, B. S., Miller, A. C., Hubertz, E. D., Lei, J., 1995a. Adaptive variation in palp and gill size of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and Asian clam (*Corbicula fluminea*). *Can. J. of Fish. Aquat. Sci.* 52 (5), 1130–1134.
- Payne, B. S., Miller, A. C., Lei, J., 1995b. Palp to gill area ratio of bivalves : a sensitive indicator of elevated suspended solids. *Riv. Res. Appl.* 11 (2), 193–200.
- Pecquerie, L., Petitgas, P., Kooijman, S. A., 2009. Modeling fish growth and reproduction in the context of the Dynamic Energy Budget theory to predict environmental impact on anchovy spawning duration. *J. Sea Res.* 62 (2), 93–105.
- Persich, G. R., Kulis, D. M., Lilly, E. L., Anderson, D. M., Garcia, V. M., 2006. Probable origin and toxin profile of *Alexandrium tamarens* (Lebour) Balech from southern Brazil. *Harmful Algae* 5 (1), 36–44.
- Persson, A., Smith, B. C., Wikfors, G. H., Quilliam, M., 2006. Grazing on toxic *Alexandrium fundyense* resting cysts and vegetative cells by the eastern oyster (*Crassostrea virginica*). *Harmful Algae* 5 (6), 678–684.
- Petton, B., Bruto, M., James, A., Labreuche, Y., Alunno-Bruscia, M., Le Roux, F., 2015. *Crassostrea gigas* mortality in France : the usual suspect, a herpes virus, may not be the killer in this polymicrobial opportunistic disease. *Front. Microbiol.* 6 :686.
- Petton, B., Pernet, F., Robert, R., Boudry, P., 2013. Temperature influence on pathogen transmission and subsequent mortalities in juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas*. *Aquac. Environ. Inter.* 3, 257–273.
- Pichot, Y., Comps, M., Tige, G., Grizel, H., Rabouin, M.-A., 1979. Recherches sur *Bonamia ostreae* gen. n., sp. n., parasite nouveau de l'huître plate *Ostrea edulis* L. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes* 43 (1), 131–140.
- Picoche, C., Le Gendre, R., Flye-Sainte-Marie, J., Françoise, S., Maheux, F., Simon, B., Gangnery, A., 2014. Towards the determination of *Mytilus edulis* food preferences using the dynamic energy budget (DEB) theory. *PloS one* 9 (10), e109796.
- Pierce, R., Henry, M., Blum, P., Hamel, S., Kirkpatrick, B., Cheng, Y., Zhou, Y., Irvin, C., Naar, J., Weidner, A., *et al.* 2005. Brevetoxin composition in water and marine aerosol along a Florida beach : Assessing potential human exposure to marine biotoxins. *Harmful Algae* 4 (6), 965–972.
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.-C., Flajšhans, M., Haffray, P., Colombo, L., 2009. Polyploid fish and shellfish : production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture* 293 (3), 125–156.
- Plakas, S. M., Dickey, R. W., 2010. Advances in monitoring and toxicity assessment of brevetoxins in molluscan shellfish. *Toxicon* 56 (2), 137–149.

- Pousse, E., Alunno-Bruscia, M., Flye-Sainte-Marie, J., Hégaret, H., Jean, F., in rev. Sources of paralytic shellfish toxin accumulation variability in the Pacific oyster *Magallana gigas*. *Toxicon* .
- Pouvreau, S., Bourles, Y., Lefebvre, S., Gangnery, A., Alunno-Bruscia, M., 2006. Application of a dynamic energy budget model to the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, reared under various environmental conditions. *J. Sea Res.* 56 (2), 156–167.
- Pouvreau, S., Jonquière, G., Buestel, D., 1999. Filtration by the pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, under conditions of low seston load and small particle size in a tropical lagoon habitat. *Aquaculture* 176 (3), 295–314.
- Prakash, A., Medcof, J. C., Tennant, A., 1971. Paralytic shellfish poisoning in eastern Canada. *FISH RES BD CAN BULL.* 177. 2-87. ILLUS. 1971. .
- Purchon, R. D., 1956. The stomach in the Protobranchia and Septibranchia (Lamellibranchia). *J. Zool.* 127 (4), 511–525.
- R Core Team, 2016. R : A Language and Environment for Statistical Computing. R Found. Stat. Comput., Vienna, Austria.
URL <https://www.R-project.org/>
- Rahel, F. J., Olden, J. D., 2008. Assessing the effects of climate change on aquatic invasive species. *Conserv. Biol.* 22 (3), 521–533.
- Rao, D., Khan, M., 2000. Zebra mussels : enhancement of copper toxicity by high temperature and its relationship with respiration and metabolism. *Wat. Environ. Res.* 72 (2), 175–178.
- Reguera, B., Velo-Suárez, L., Raine, R., Park, M. G., 2012. Harmful *Dinophysis* species : A review. *Harmful Algae* 14, 87–106.
- Reid, R., 1965. The structure and function of the stomach in bivalve molluscs. *J. Zool.* 147 (2), 156–184.
- Ren, J. S., Ross, A. H., 2001. A dynamic energy budget model of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Ecol. Model.* 142 (1), 105–120.
- Ren, J. S., Ross, A. H., Hayden, B. J., 2006. Comparison of assimilation efficiency on diets of nine phytoplankton species of the greenshell mussel *Perna canaliculus*. *J. Shellfish Res.* 25 (3), 887–892.
- Ren, J. S., Schiel, D. R., 2008. A dynamic energy budget model : parameterisation and application to the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in New Zealand waters. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 361 (1), 42–48.
- Renaud, S. M., Thinh, L.-V., Lambrinidis, G., Parry, D. L., 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* 211 (1), 195–214.

- REPHY, 2017. French Observation and Monitoring program for Phytoplankton and Hydrology in coastal waters. REPHY dataset. French observation and Monitoring program for Phytoplankton and Hydrology in coastal waters. 1987–2016 Metropolitan data. SEANOE.
URL <http://doi.org/10.17882/47248>
- Reyero, M., Cacho, E., Martínez, A., Vázquez, J., Marina, A., Fraga, S., Franco, J. M., 1999. Evidence of saxitoxin derivatives as causative agents in the 1997 mass mortality of monk seals in the Cape Blanc Peninsula. *Nat. Toxins* 7 (6), 311–315.
- Reynolds, C. S., 2006. *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.
- Rico-Villa, B., Bernard, I., Robert, R., Pouvreau, S., 2010. A dynamic energy budget (DEB) growth model for Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 305 (1), 84–94.
- Ritchie, J. M., Rogart, R., 1977. The binding of saxitoxin and tetrodotoxin to excitable tissue. In : *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Volume 79. Springer, pp. 1–50.
- Roelke, D., Buyukates, Y., 2001. The diversity of harmful algal bloom-triggering mechanisms and the complexity of bloom initiation. *Human and Ecological Risk Assessment : An International Journal* 7 (5), 1347–1362.
- Rolland, J.-L., Medhioub, W., Vergnes, A., Abi-Khalil, C., Savar, V., Abadie, E., Masseret, E., Amzil, Z., Laabir, M., 2014. A feedback mechanism to control apoptosis occurs in the digestive gland of the oyster *Crassostrea gigas* exposed to the paralytic shellfish toxins producer *Alexandrium catenella*. *Mar. Drugs* 12 (9), 5035–5054.
- Rolton, A., Vignier, J., Soudant, P., Shumway, S. E., Bricelj, V. M., Volety, A. K., 2014. Effects of the red tide dinoflagellate, *karenia brevis*, on early development of the eastern oyster *Crassostrea virginica* and northern quahog *Mercenaria mercenaria*. *Aquat. Toxicol.* 155, 199–206.
- Romberger, H. P., Epifanio, C., 1981. Comparative effects of diets consisting of one or two algal species upon assimilation efficiencies and growth of juvenile oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Aquaculture* 25 (1), 77–87.
- Rosland, R., Strand, Ø., Alunno-Bruscia, M., Bacher, C., Strohmeier, T., 2009. Applying dynamic energy budget (DEB) theory to simulate growth and bio-energetics of blue mussels under low seston conditions. *J. Sea Res.* 62 (2), 49–61.
- Rovero, F., Hughes, R. N., Chelazzi, G., 1999. Cardiac and behavioural responses of mussels to risk of predation by dogwhelks. *Anim. Behav.* 58 (4), 707–714.
- Ruesink, J. L., Lenihan, H. S., Trimble, A. C., Heiman, K. W., Micheli, F., Byers, J. E., Kay, M. C., 2005. Introduction of non-native oysters : ecosystem effects and restoration implications. *Annu. Rev. Ecol. Evol.* 36.

- Sagou, R., Amanhir, R., Taleb, H., Vale, P., Blaghen, M., Loutfi, M., 2005. Comparative study on differential accumulation of PSP toxins between cockle (*Acanthocardia tuberculatum*) and sweet clam (*Callista chione*). *Toxicon* 46 (6), 612–618.
- Samsur, M., Yamaguchi, Y., Sagara, T., Takatani, T., Arakawa, O., Noguchi, T., 2006. Accumulation and depuration profiles of PSP toxins in the short-necked clam *Tapes japonica* fed with the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Toxicon* 48 (3), 323–330.
- Santini, G., De Pirro, M., Chelazzi, G., 1999. In situ and laboratory assessment of heart rate in a Mediterranean limpet using a noninvasive technique. *Physiol. Biochem. Zool.* 72 (2), 198–204.
- Santini, G., Williams, G., Chelazzi, G., 2000. Assessment of factors affecting heart rate of the limpet *Patella vulgata* on the natural shore. *Mar. Biol.* 137 (2), 291–296.
- Saraiva, S., Van Der Meer, J., Kooijman, S., Sousa, T., 2011. Modelling feeding processes in bivalves : a mechanistic approach. *Ecol. Model.* 222 (3), 514–523.
- Saraiva, S., Van der Meer, J., Kooijman, S., Witbaard, R., Philippart, C., Hippler, D., Parker, R., 2012. Validation of a Dynamic Energy Budget (DEB) model for the blue mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 463, 141–158.
- Satake, M., Ofuji, K., Naoki, H., James, K. J., Furey, A., McMahon, T., Silke, J., Yasumoto, T., 1998. Azaspiracid, a new marine toxin having unique spiro ring assemblies, isolated from Irish mussels, *Mytilus edulis*. *J. Am. Chem. Soc.* 120 (38), 9967–9968.
- Savina, M., Pouvreau, S., 2004. A comparative ecophysiological study of two infaunal filter-feeding bivalves : *Paphia rhomboides* and *Glycymeris glycymeris*. *Aquaculture* 239 (1), 289–306.
- Schindler, D. E., Armstrong, J. B., Reed, T. E., 2015. The portfolio concept in ecology and evolution. *Front. Ecol. Environ.* 13 (5), 257–263.
- Segarra, A., Pépin, J. F., Arzul, I., Morga, B., Faury, N., Renault, T., 2010. Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. *Virus Res.* 153 (1), 92–99.
- Seki, T., Satake, M., Mackenzie, L., Kaspar, H. F., Yasumoto, T., 1995. Gymnodimine, a new marine toxin of unprecedented structure isolated from New Zealand oysters and the dinoflagellate, *Gymnodinium* sp. *Tetrahedron. Lett.* 36 (39), 7093–7096.
- Sekiguchi, K., Sato, S., Kaga, S., Ogata, T., Kodama, M., 2001. Accumulation of paralytic shellfish poisoning toxins in bivalves and an ascidian fed on *Alexandrium tamarense* cells. *Fish. Sci.* 67 (2), 301–305.
- Sellner, K. G., Doucette, G. J., Kirkpatrick, G. J., 2003. Harmful algal blooms : causes, impacts and detection. *J. of Ind. Microbiol. Biotechnol.* 30 (7), 383–406.

- Shamseldin, A., Clegg, J. S., Friedman, C. S., Cherr, G. N., Pillai, M., 1997. Induced thermotolerance in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. J. Shellfish Res. 16, 487–491.
- Shatkin, G., Shumway, S. E., Hawes, R., 1997. Considerations regarding the possible introduction of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to the Gulf of Maine : a review of global experience. J. Shellfish Res. 16, 463–478.
- Shpigel, M., Barber, B. J., Mann, R., 1992. Effects of elevated temperature on growth, gametogenesis, physiology, and biochemical composition in diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* Thunberg. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 161 (1), 15–25.
- Shumway, S., Cucci, T., Gainey, L., Yentsch, C., 1985. A preliminary study of the behavioral and physiological effects of *Gonyaulax tamarensis* on bivalve molluscs. Toxic Dinoflag. N-Y : Elsevier Sci. Publ., 389–394.
- Shumway, S. E., 1990. A review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. J. World Aquac. Soc. 21 (2), 65–104.
- Shumway, S. E., Barter, J., Sherman-Caswell, S., 1990. Auditing the impact of toxic algal blooms on oysters. Environ. Auditor 2 (1), 41–56.
- Shumway, S. E., Burkholder, J. M., Springer, J., 2006. Effects of the estuarine dinoflagellate *Pfiesteria shumwayae* (Dinophyceae) on survival and grazing activity of several shellfish species. Harmful Algae 5 (4), 442–458.
- Shumway, S. E., Cucci, T. L., 1987. The effects of the toxic dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis* on the feeding and behaviour of bivalve molluscs. Aquat. Toxicol. 10 (1), 9–27.
- Shumway, S. E., Sherman, S. A., Cembella, A. D., Selvin, R., 1994. Accumulation of paralytic shellfish toxins by surfclams, *Spisula solidissima* (Dillwyn, 1897) in the Gulf of Maine : seasonal changes, distribution between tissues, and notes on feeding habits. Nat. Toxins 2 (4), 236–251.
- Silvert, W., Cembella, A., 1995. Dynamic modelling of phycotoxin kinetics in the blue mussel, *Mytilus edulis*, with implications for other marine invertebrates. Can. J. of Fish. Aquat. Sci. 52 (3), 521–531.
- Springer, J. J., Shumway, S. E., Burkholder, J. M., Glasgow, H. B., 2002. Interactions between the toxic estuarine dinoflagellate *Pfiesteria piscicida* and two species of bivalve molluscs. Mar. Ecol. Prog. Ser. 245, 1–10.
- Stachowicz, J. J., Terwin, J. R., Whitlatch, R. B., Osman, R. W., 2002. Linking climate change and biological invasions : ocean warming facilitates nonindigenous species invasions. Proc. Natl. Acad. Sci. 99 (24), 15497–15500.
- Summerson, H. C., Peterson, C. H., 1990. Recruitment failure of the bay scallop, *Argopecten irradians concentricus*, during the first red tide, *Ptychodiscus brevis*, outbreak recorded in North Carolina. Est. Coast 13 (3), 322–331.

- Thomas, Y., Garen, P., Pouvreau, S., 2011a. Application of a bioenergetic growth model to larvae of the pearl oyster *Pinctada margaritifera* L. J. Sea Res. 66 (4), 331–339.
- Thomas, Y., Mazurié, J., Alunno-Bruscia, M., Bacher, C., Bouget, J.-F., Gohin, F., Pouvreau, S., Struski, C., 2011b. Modelling spatio-temporal variability of *Mytilus edulis* (L.) growth by forcing a dynamic energy budget model with satellite-derived environmental data. J. Sea Res. 66 (4), 308–317.
- Thomas, Y., Pouvreau, S., Alunno-Bruscia, M., Barillé, L., Gohin, F., Bryère, P., Gernez, P., 2016. Global change and climate-driven invasion of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) along European coasts : a bioenergetics modelling approach. J. Biogeogr. 43 (3), 568–579.
- Touzet, N., Franco, J. M., Raine, R., 2007. Characterization of nontoxic and toxin-producing strains of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) in Irish coastal waters. Appl. Environ. Microb. 73 (10), 3333–3342.
- Tran, D., Haberkorn, H., Soudant, P., Ciret, P., Massabuau, J.-C., 2010. Behavioral responses of *Crassostrea gigas* exposed to the harmful algae *Alexandrium minutum*. Aquaculture 298 (3), 338–345.
- Troost, T., Wijsman, J., Saraiva, S., Freitas, V., 2010. Modelling shellfish growth with dynamic energy budget models : an application for cockles and mussels in the Oosterschelde (southwest Netherlands). Phil. Trans. R. Soc. B 365 (1557), 3567–3577.
- Turner, J. T., Tester, P. A., 1997. Toxic marine phytoplankton, zooplankton grazers, and pelagic food webs. Limnol. Oceanogr. 42 (5part2), 1203–1213.
- Twarog, B. M., Hidaka, T., Yamaguchi, H., 1972. Resistance to tetrodotoxin and saxitoxin in nerves of bivalve molluscs : A possible correlation with paralytic shellfish poisoning. Toxicon 10 (3), 273–278.
- Urrutia, M., Iglesias, J., Navarro, E., Prou, J., 1996. Feeding and absorption in cerastoderma edule under environmental conditions in the bay of Marennes oleron (Western France). J. Mar. Biol. Assoc. UK 76 (2), 431–450.
- Urrutia, M., Navarro, E., Ibarrola, I., Iglesias, J., 2001. Preingestive selection processes in the cockle *Cerastoderma edule* : mucus production related to rejection of pseudofaeces. Mar. Ecol. Prog. Ser. 209, 177–187.
- Vale, P., 2008. Complex profiles of hydrophobic paralytic shellfish poisoning compounds in *Gymnodinium catenatum* identified by liquid chromatography with fluorescence detection and mass spectrometry. J. Chromatogr. A 1195 (1), 85–93.
- Van de Vusse, J., 1964. Plug-flow type reactor versus tank reactor. Chem. Eng. Sci. 19 (12), 994–996.
- van der Veer, H. W., Alunno-Bruscia, M., 2006. The DEBIB project : dynamic energy budgets in bivalves. J. Sea Res. 56 (2), 81–84.

- van der Veer, H. W., Cardoso, J. F., van der Meer, J., 2006. The estimation of deb parameters for various Northeast Atlantic bivalve species. *J. Sea Res.* 56 (2), 107–124.
- Van Dolah, F. M., 2000. Marine algal toxins : origins, health effects, and their increased occurrence. *Environ. Health Persp.* 108 (Suppl 1), 133.
- Vernoux, J., 1988. La ciguatera dans l'île de Saint-Barthélemy : aspects épidémiologiques, toxicologiques et préventifs. *Oceanol. Acta* 11 (1), 37–46.
- Violle, C., Enquist, B. J., McGill, B. J., Jiang, L., Albert, C. H., Hulshof, C., Jung, V., Messier, J., 2012. The return of the variance : intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecol. Evol.* 27 (4), 244–252.
- Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R., Suzzi, G., 2016. Marine biotoxins : occurrence, toxicity, regulatory limits and reference methods. *Front. Microbiol.* 7.
- Walne, P. R., 1970. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. *Fish. Invest. Ser. 2* 26 (5).
- Wang, Q., Li, Q., Kong, L., Yu, R., 2012. Response to selection for fast growth in the second generation of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Oce. Univ. China* 11 (3), 413–418.
- Wang, W.-X., Fisher, N. S., 1996. Assimilation of trace elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis* : effects of food composition. *Limnol. Oceanogr.* 41 (2), 197–207.
- Ward, J., Levinton, J., Shumway, S., Cucci, T., 1998. Particle sorting in bivalves : *in vivo* determination of the pallial organs of selection. *Mar. Biol.* 131 (2), 283–292.
- Ward, J. E., Levinton, J. S., Shumway, S. E., 2003. Influence of diet on pre-ingestive particle processing in bivalves : I : transport velocities on the ctenidium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 293 (2), 129–149.
- Ward, J. E., Shumway, S. E., 2004. Separating the grain from the chaff : particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 300 (1), 83–130.
- Ward, R. D., English, L. J., McGoldrick, D. J., Maguire, G. B., Nell, J. A., Thompson, P. A., 2000. Genetic improvement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Australia. *Aquac. Res.* 31 (1), 35–44.
- Wells, M. L., Trainer, V. L., Smayda, T. J., Karlson, B. S., Trick, C. G., Kudela, R. M., Ishikawa, A., Bernard, S., Wulff, A., Anderson, D. M., *et al.* 2015. Harmful algal blooms and climate change : Learning from the past and present to forecast the future. *Harmful Algae* 49, 68–93.
- Whyte, J., Englar, J., Carswell, B., 1990. Biochemical composition and energy reserves in *Crassostrea gigas* exposed to different levels of nutrition. *Aquaculture* 90 (2), 157–172.
- Wijsman, J. W., Smaal, A. C., 2011. Growth of cockles (*Cerastoderma edule*) in the oosterschelde described by a dynamic energy budget model. *J. Sea Res.* 66 (4), 372–380.

- Wikfors, G., Smolowitz, R., 1993. Detrimental effects of a *Prorocentrum* isolate upon hard clams and bay scallops in laboratory feeding studies. DEV. MAR. BIOL. .
- Wikfors, G. H., Smolowitz, R. M., 1995. Experimental and histological studies of four life-history stages of the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, exposed to a cultured strain of the dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. Biol. Bull. 188 (3), 313–328.
- Wildish, D., Lassus, P., Martin, J., Saulnier, A., Bardouil, M., 1998. Effect of the PSP-causing dinoflagellate, *Alexandrium sp.* on the initial feeding response of *Crassostrea gigas*. Aquat. Living Resour. 11 (01), 35–43.
- Williams, G. A., De Pirro, M., Cartwright, S., Khangura, K., Ng, W.-C., Leung, P. T., Morritt, D., 2011. Come rain or shine : the combined effects of physical stresses on physiological and protein-level responses of an intertidal limpet in the monsoonal tropics. Funct. Ecol. 25 (1), 101–110.
- Wisessang, S., Ogata, T., Kodama, M., Fukuyo, Y., Ishimaru, T., Saitanu, K., Yongvanich, T., Piyakarnchana, T., 1991. Accumulation of paralytic shellfish toxins by green mussel *Perna viridis* by feeding on cultured cells of *Alexandrium cohorticula* isolated from the gulf of Thailand. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 57 (1), 127–131.
- Wright, J., Boyd, R., Freitas, A. d., Falk, M., Foxall, R., Jamieson, W., Laycock, M., McCulloch, A., McInnes, A., Odense, P., *et al.* 1989. Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino acid, in toxic mussels from eastern Prince Edward Island. Can. J. of Chem. 67 (3), 481–490.
- Yamamoto, T., Flynn, K. J., Takayama, H., 2003. Application of a two-compartment one-toxin model to predict the toxin accumulation in Pacific oysters in Hiroshima Bay, Japan. Fish. Sci. 69 (5), 944–950.
- Yan, T., Zhou, M., Fu, M., Wang, Y., Yu, R., Li, J., 2001. Inhibition of egg hatching success and larvae survival of the scallop, *Chlamys farreri*, associated with exposure to cells and cell fragments of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. Toxicon 39 (8), 1239–1244.
- Yan, T., Zhou, M., Fu, M., Yu, R., Wang, Y., Li, J., 2003. Effects of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on early development of the scallop argopecten irradians concentricus. Aquaculture 217 (1), 167–178.
- Yasumoto, T., Murata, M., Oshima, Y., Sano, M., Matsumoto, G., Clardy, J., 1985. Diarrhetic shellfish toxins. Tetrahedron 41 (6), 1019–1025.
- Yentsch, C. M., Mague, F. C., 1979. Motile cells and cysts : two probable mechanisms of intoxication of shellfish in New England waters. Toxic Dinoflagellate Blooms. Elsevier, North Holland , 127–130.
- Yu, K., Choi, M. C., Shen, X., Wu, R. S., Wang, W.-X., Lam, P. K., 2005. Modeling of depuration of paralytic shellfish toxins in *Chlamys nobilis* and *Perna viridis*. Mar. Pollut. Bull. 50 (4), 474–479.

Zaccaroni, A., Scaravelli, D., 2008. Toxicity of sea algal toxins to humans and animals. In :
Algal Toxins : Nature, Occurrence, Effect and Detection. Springer, pp. 91–158.

Modélisation basée sur la théorie des budgets d'énergie dynamiques (DEB) de la cinétique de bioaccumulation des toxines paralysantes (PST) par l'huître creuse *Crassostrea gigas*

L'huître creuse *Crassostrea gigas* est l'un des mollusques les plus commercialisés au monde. Cette espèce cosmopolite doit faire face à de nombreux agents pathogènes (bactéries, virus), parasites, xénobiotiques, et/ou micro-algues toxiques. En tant que bivalve filtreur, elle peut accumuler de fortes charges de phycotoxines, dont les toxines paralysantes (PST), lorsqu'elle est exposée à des blooms de micro-algues toxiques (HAB). Pour protéger la santé humaine, des interdictions de vente de coquillages sont déclarées lorsque ceux-ci sont contaminés en PST, impactant ainsi le secteur ostréicole. Ce travail de thèse a pour but de développer un modèle basé sur la théorie des Budgets d'Énergie Dynamiques (DEB) décrivant la cinétique d'intoxication et de détoxification des PST chez *C. gigas*. Le couplage d'un modèle de bioaccumulation avec un modèle DEB permet de prendre en compte certaines variables physiologiques de l'huître et les conditions environnementales pour simuler avec précision la dynamique d'accumulation des PST. Deux expériences consistant à exposer *C. gigas* au dinoflagellé toxique *Alexandrium minutum* ont été réalisées. La consommation de toxines a été calibrée dans une première expérience à court terme où le taux de filtration et l'efficacité d'assimilation ont été mesurés individuellement durant une phase d'exposition à des micro-algues non-toxiques puis toxiques. Les taux de respiration et le rythme cardiaque ont également été mesurés. En identifiant trois phénotypes distincts ayant des potentiels d'accumulation différents, cette étude amène de nouvelles connaissances concernant l'importante variabilité inter-individuelle dans l'accumulation de PST observée chez *C. gigas*. Ensuite, une expérience à moyen terme a été menée où des naissains ont été exposés à un mélange de micro-algues toxiques et non-toxiques. Différentes conditions ont été mises en place pour calibrer (1) le processus d'élimination de toxines, (2) les effets des PST sur la bioénergétique de l'huître, et (3) valider une fonction permettant de traiter de la sélection alimentaire. Un modèle DEB simulant l'évolution de la concentration en PST basé sur deux compartiments (toxines non assimilées et assimilées) a ainsi été proposé et validé en utilisant des jeux de données obtenus en laboratoire et sur le terrain. Dans une dernière partie, le modèle a été utilisé pour étudier les différences d'accumulation entre les huîtres diploïdes et triploïdes selon leur masse, leur âge et leur stade de gamétogenèse. Les résultats obtenus tendent à montrer que les triploïdes accumulent plus que les diploïdes, excepté après la ponte de ces dernières.

Mots-clés | Budgets d'Énergie Dynamiques | Toxines paralysantes | Pacific oyster | Cinétiques d'accumulation | Écotoxicologie |

Modeling based on dynamic energy budget theory (DEB) of the kinetic of paralytic shellfish toxins (PST) bioaccumulation in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*

The oyster *Crassostrea gigas* is one of the most commercialized molluscs in the world. It is a very cosmopolitan species that has been disseminated by humans and is susceptible to various agents such as pathogens (bacteria, viruses), parasites, xenobiotics and/or toxic micro-algae. As a filter-feeder, it may accumulate phyco-toxins while feeding on harmful algal blooms (HAB), including paralytic shellfish toxins (PST). To protect human health shellfisheries harvesting are closed during HAB, impacting the aquaculture industry. This PhD work aims to develop a Dynamic Energy Budget (DEB) based model to describe kinetics of PST accumulation and detoxification in *C. gigas*. Interest of coupling bio-accumulation to DEB model lies in the inclusion of physiological (e.g. body size, tissue composition) and environmental (food quantity and quality) variables to simulate accurately the dynamics of contaminants in marine organisms. Two experiments consisting in exposing *C. gigas* to the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* were performed. Toxin intake was calibrated in a first short-term experiment where clearance rates and assimilation efficiency were individually measured during an exposure to toxic and non-toxic micro-algae. Metabolic rates (respiration, cardiac activity) were also assessed. This study brings new insights concerning the important inter-individual variability of PST accumulation reported in *C. gigas* by identifying three phenotypes characterized by different clearance rates. Then a long-term exposure to a mixture of toxic and non-toxic micro-algae was carried out to calibrate (1) toxin elimination process, (2) PST effects on oyster bioenergetic and (3) validate a mathematical representation of particles selection. A DEB model simulating the evolution of toxin concentration via two compartments (unassimilated and assimilated toxins) is proposed which was validated using a laboratory dataset and field surveys. In a last part, the numerical model is then used to investigate the differences in toxification and depuration dynamics between diploid and triploid oysters. Results allowed to confirm hypothesis stating that triploids accumulate generally more than diploids but also showed that spawning could inverse this trend.

Keywords | Dynamic Energy Budget | Paralytic Shellfish Toxins | Pacific oyster | Accumulation kinetics | Ecotoxicology |
