

Danièle Maurer
Béatrice Bec
Nadine Neaud-Masson
Myriam Rumebe
Isabelle Auby
Antoine Grémare

Avril 2010 – RST/LER/AR/10.004

Etude des relations entre le phytoplancton et les phénomènes de toxicité d'origine inconnue dans le Bassin d'Arcachon

Tâche T3b du Programme National Arcachon :
"Toxicité due à des espèces phytoplanctoniques
réputées toxiques ou encore méconnues dans le Bassin
d'Arcachon".



Etude des relations entre le phytoplancton et les phénomènes de toxicité d'origine inconnue dans le Bassin d'Arcachon

Tâche T3b du Programme National Arcachon :
"Toxicité due à des espèces phytoplanctoniques réputées toxiques ou encore méconnues dans le Bassin d'Arcachon".

Fiche documentaire

<p>Numéro d'identification du rapport : RST/LER/AR/10.004</p> <p>Diffusion : libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte: <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/></p> <p>Validé par : Zouher Amzil (IFREMER) Catherine Belin (IFREMER) Nicolas Chomérat (IFREMER) Patrick Gentien (IFREMER) Philipp Hess (IFREMER) Patrick Lassus (IFREMER) Elisabeth Nézan (IFREMER) Benoît Sautour (EPOC - Université de Bordeaux 1)</p>	<p>Date de publication : Janvier 2010</p> <p>Nombre de pages : 85 + 14 annexes</p> <p>Bibliographie: oui</p> <p>Illustration(s): oui</p> <p>Langue du rapport : français</p>
<p>Titre et sous-titre du rapport :</p> <p style="text-align: center;"><i>Etude des relations entre les populations phytoplanctoniques et les phénomènes de toxicité d'origine inconnue dans le Bassin d'Arcachon</i></p> <p style="text-align: center;"><i>Tâche T3b du Programme National Arcachon</i></p>	
<p>Contrat IFREMER n° 1217137 Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/> Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/></p>	
<p>Auteur(s) principal(aux) :</p> <p>Danièle Maurer Béatrice Bec Nadine Neaud-Masson Myriam Rumèbe Isabelle Auby Antoine Grémare</p>	<p>Organisme / Direction / Service, laboratoire</p> <p>IFREMER - LER/Arcachon IFREMER - LER/Arcachon IFREMER - LER/Arcachon IFREMER - LER/Arcachon IFREMER - LER/Arcachon EPOC – Université Bordeaux I</p>
<p>Collaborateur(s) : nom, prénom</p>	<p>Organisme / Direction / Service, laboratoire</p>
<p>Cadre de la recherche : Projet : PJ0903 – Risques sanitaires chimiques associés aux produits de la mer.</p>	

INTRODUCTION.....	9
1. ANALYSE DES DONNEES HISTORIQUES RELATIVES AUX TOXINES LIPOPHILES SUR LE BASSIN D'ARCACHON.....	11
1.1. DONNEES DISPONIBLES ET PREMIERE ANALYSE DES RESULTATS DES BIO-ESSAIS SOURIS SUR LA SERIE HISTORIQUE COMPLETE	11
1.1.1. Périodes d'acquisition des données.....	11
1.1.2. Période précédant l'année 2004	13
1.1.3. Analyse globale des résultats de la série des bio-essais	14
1.2. ANALYSE DE LA SERIE HISTORIQUE DE 2002 A 2009.....	16
1.2.1. Rappels sur les toxines lipophiles et sur les espèces phytoplanctoniques les produisant.....	16
1.2.2. Toxines analysées.....	18
1.2.3. Résultats des analyses de toxines	20
1.2.4. Qualification des épisodes de toxicité.....	22
1.2.5. Liens entre espèces phytoplanctoniques et toxines connues	27
1.2.6. Liens entre phytoplancton et toxicité inconnue.....	34
1.3. DISCUSSION.....	40
1.3.1. Rappel de la stratégie d'échantillonnage du phytoplancton mise en œuvre dans le cadre du REPHY du Bassin d'Arcachon	40
1.3.2. Cette stratégie est-elle adaptée pour expliquer les relations phytoplancton-toxicités dans le Bassin d'Arcachon ?	41
1.3.3. Les toxicités d'origine inconnue pourraient-elles être dues à des espèces benthiques et/ou épiphytiques ?	42
1.4. CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE	43
2. STRUCTURE DES POPULATIONS PHYTOPLANCTONIQUES DU BASSIN D'ARCACHON.....	45
2.1. DONNEES PHYTOPLANCTONIQUES DISPONIBLES	45
2.2. TRAITEMENTS STATISTIQUES DES DONNEES	46
2.3. EVOLUTION A LONG TERME DES POPULATIONS PHYTOPLANCTONIQUES	47
2.4. VARIATIONS SPATIALES DES POPULATIONS PHYTOPLANCTONIQUES.....	48
2.5. VARIATIONS SAISONNIERES DES POPULATIONS PHYTOPLANCTONIQUES.....	50
2.5.1. Détermination des "saisons phytoplanctoniques" et de leurs limites	50
2.5.2. Caractérisation des populations phytoplanctoniques selon les saisons phytoplanctoniques.....	53
2.6. SAISONS PHYTOPLANCTONIQUES ET PERIODES DE TOXICITE	54
2.6.1. Niveaux de toxicité et assemblages phytoplanctoniques	54
2.6.2. Nature des toxicités et assemblages phytoplanctoniques	55
2.7. STRUCTURE DES POPULATIONS PHYTOPLANCTONIQUES A L'ECHELLE ANNUELLE ..	58
2.7.1. Année 2003	58
2.7.2. Année 2004	60
2.7.3. Année 2005	64
2.7.4. Année 2006	67
2.7.5. Année 2007	69
2.7.6. Année 2008	71
2.7.7. Conclusion	74

2.8. CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE	75
CONCLUSION GENERALE	77
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	81
ANNEXES.....	87

Introduction

Depuis l'introduction, il y a une quarantaine d'années, de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon, la vente des huîtres a été interdite pour la première fois en 2005¹, sur la base de bio-essais souris positifs pour les toxines lipophiles. Si le début de cet épisode a pu être rattaché à la présence dans l'eau de microalgues du genre *Dinophysis* et dans les hépatopancreas des huîtres, d'acide okadaïque, il n'en a pas été de même pour la fin de la période qui fut qualifiée d'épisode de "toxicité atypique" ou "toxicité d'origine inconnue", c'est-à-dire "un épisode de contamination des coquillages, révélé à travers une réponse toxique chez la souris en injection intra péritonéale, dont l'origine ne peut pas être expliquée par la présence de toxines connues habituellement recherchées" (AFSSA, 2006).

En 2006, de nouveau, plusieurs épisodes de toxicité atypique se sont produits, affectant la commercialisation des huîtres, avec des répercussions économiques graves sur les entreprises ostréicoles.

C'est dans ce contexte que l'AFSSA², en réponse à la saisine du MAP³ du 09 juin 2006, a proposé un programme approfondi de recherches sur les causes possibles des mortalités de souris survenues dans le cadre de la surveillance des toxines lipophiles dans le Bassin d'Arcachon. Ce programme, appelé PNA⁴, dont la mise en point fut achevée en juin 2007, se décline en plusieurs tâches (AFSSA, 2007). Outre le prélèvement et la qualification d'échantillons (Tâche 1), l'étude de la toxicité et le développement d'outils de suivi des fractions toxiques (Tâche 2), la tâche 3 consiste à étudier quatre hypothèses concernant l'origine de la toxicité (AFSSA, 2007) :

- toxicité due à la synergie entre toxines et/ou à la présence d'esters de ces toxines (spirolides et pecténotoxines) (T3a),
- toxicité due à des espèces phytoplanctoniques réputées toxiques ou méconnues (T3b),
- toxicité due à des contaminants organiques ou inorganiques d'origine anthropique (T3e),
- toxicité due à des interférences liées aux teneurs en acides gras libres dans les coquillages (T3f).

L'objet de ce rapport est de rendre compte du travail réalisé pour la tâche T3b, concernant le phytoplancton toxique. Il convient de préciser que, entre le moment où le contenu de la tâche a été défini et la réalisation de celle-ci, deux années se sont écoulées, au cours desquelles les connaissances et le regard sur les hypothèses formulées ont évolué. C'est pourquoi la démarche adoptée a été élargie à l'analyse des relations entre le phytoplancton et les réponses toxiques des souris pendant les 8 années de bio-essais sur souris (avec la même méthodologie) et de 5 années de crises de toxicité atypique, en

¹ De fin avril à début mai.

² AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.

³ MAP : Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.

⁴ PNA : Programme National Arcachon.

prenant en compte plus de 20 années de données sur le phytoplancton du Bassin. Ce travail a été mené parallèlement aux autres tâches du PNA, sachant que les toxines responsables de la mort des souris ne sont pas encore identifiées (Tâche 2) et que leur origine phytoplanctonique n'est pas avérée. Il comporte deux parties qui, comme les différentes tâches du PNA, ont été menées conjointement.

1. Une analyse historique des phénomènes de toxicité des coquillages à Arcachon reposant sur l'étude des liens entre les résultats des bio-essais réalisés sur souris, les occurrences des espèces phytoplanctoniques potentiellement impliquées et la nature et les concentrations des toxines lipophiles détectées dans les coquillages (lorsqu'elles sont disponibles). Il s'agit notamment de qualifier précisément les différentes périodes de façon à mener à bien la deuxième partie de ce travail.
2. Une étude de la structure des populations phytoplanctoniques, réalisée à partir de l'ensemble des dénombrements disponibles dans le cadre du REPHY, afin de déterminer si les assemblages phytoplanctoniques présents lors des épisodes de toxicité d'origine inconnue s'avèrent, ou non, spécifiques par rapport aux années passées et/ou aux autres épisodes.

Au cours de ces années de toxicité atypique, de nombreux documents, comptes-rendus de crise, rapports et avis ont été produits par l'IFREMER (LER Arcachon, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009 ; Auby, 2006) et l'AFSSA (AFSSA, 2006a, 2006b, 2008). Il y sera fait référence dans ce travail sans que l'ensemble de leur contenu ne soit repris. Le lecteur pourra s'y référer pour de plus amples précisions. Il en est de même pour tout ce qui concerne la mise en œuvre du REPHY (Belin, 2006 ; Grossel, 2006 ; Belin, 2009).

Par ailleurs, il sera fait référence aux premières conclusions des autres tâches du PNA (AFSSA, 2009 ; Amzil *et al.*, 2009 ; Dubois et Amzil, 2009 ; ITERG, 2007, 2008).

1. Analyse des données historiques relatives aux toxines lipophiles sur le Bassin d'Arcachon

1.1. Données disponibles et première analyse des résultats des bio-essais souris sur la série historique complète

1.1.1. Périodes d'acquisition des données

Les périodes d'acquisition des données sur lesquelles s'appuie ce travail sont précisées ci-dessous. Elles s'inscrivent dans le cadre du REseau de la surveillance du PHYtoplancton et des PHYcotoxines (REPHY) de l'IFREMER créé en 1984.

1. Le suivi de la flore phytoplanctonique du Bassin d'Arcachon est effectué depuis 1987 dans le chenal du Teychan et, à la station Bouée 7 située à l'entrée du Bassin dans la Passe Sud, depuis juin 1995 pour la flore toxique et 2003 pour la flore totale (Figure 1). La station Teychan est échantillonnée chaque semaine, les flores totales et toxiques étant analysées alternativement ; la station Bouée 7 est usuellement échantillonnée deux fois par mois pour la flore totale de même que les points Jacquets et Comprian pour la flore toxique (depuis 2003).

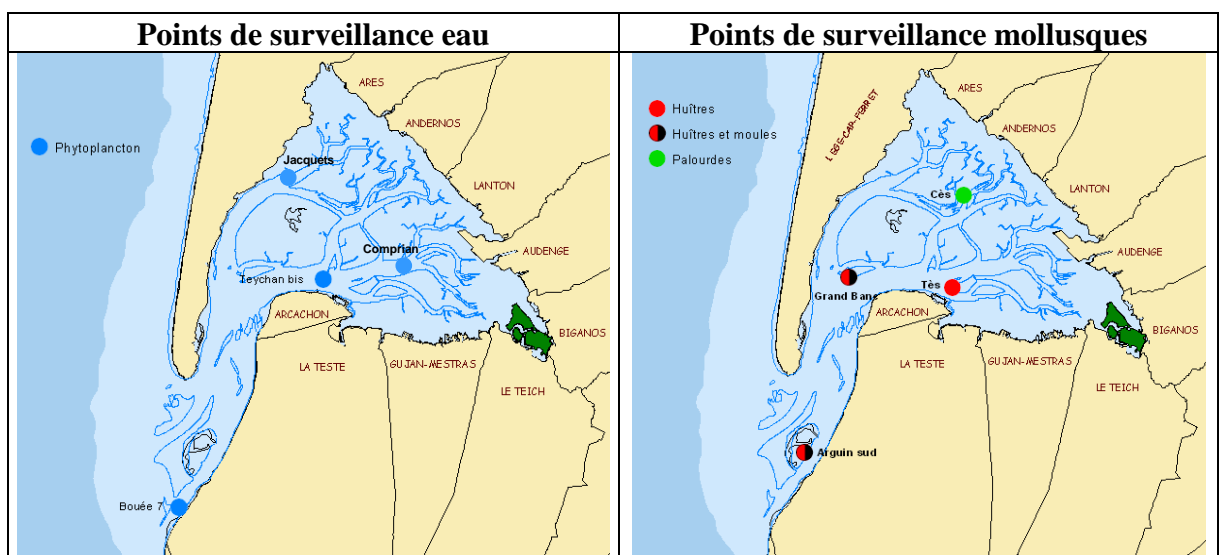


Figure 1. Localisation des points du Bassin d'Arcachon suivis dans le cadre du REPHY.

2. Les premiers bio-essais à partir de moules du Bassin ont été réalisés en 1986 et, à partir des huîtres, en 1992. Deux points de prélèvements sont échantillonnés régulièrement dans le Bassin d'Arcachon : Arguin et Grand-Banc (Figure 1), d'autres le sont occasionnellement en particulier Tès et Ferret.

3. Les méthodes d'extraction et de bio-essais ont évolué (Belin, 2002) pour aboutir en 2002 à la méthode utilisée actuellement avec un test sur 24 h (Yasumoto *et al.*, 1984) et

formalisée en 2008 par le Laboratoire National de Référence LNR (méthodes de référence LNRBM-LIP01 et LIP02).

4. Les bio-essais ont été fréquents en 2002 et 2004 lors d'études préalables à la mise en place de la surveillance systématique hebdomadaire⁵ (janvier 2005), pendant les périodes définies comme à risque pour chaque bassin conchylicole (Figure 2). Depuis 2005, plus de 100 bioessais par année sont ainsi réalisés pour le Bassin d'Arcachon (cf. Tableau 1 ci-dessous).

5. Les analyses chimiques des toxines lipophiles ne se sont vraiment multipliées qu'à partir de 2004 et n'étaient réalisées que lors des périodes de bio-essais positifs. Nous ne disposons donc que de peu de résultats en dehors de ces périodes⁶. De plus, les toxines recherchées et leur limite de détection et de quantification ont beaucoup évolué au cours du temps.

C'est pourquoi nous ne pouvons travailler sur les liens entre phytoplancton et bio-essais que de 2002 à 2008 et seulement à partir de 2005, voire plus tard, en ce qui concerne les liens avec les toxines analysées.

Pour les années antérieures à 2002, les résultats des bio-essais souris étaient établis après un délai de 5 h mais les observations étaient poursuivies pendant 24 h. Ceci nous a permis de recalculer les temps de survie médians et de qualifier ces tests comme ils l'auraient été à partir de 2002.

Sur la figure 2 sont représentés les éléments résumant l'histoire et les résultats de la surveillance REPHY dans le Bassin d'Arcachon de 1987 à 2009.

⁵ Cette décision d'intensification de la surveillance a fait suite au rapport de l'inspection de l'OAV (Office Alimentaire et Vétérinaire) d'octobre 2001 mettant en évidence les failles du système à détecter des toxines d'origine inconnue telles que les azaspiracides.

⁶ Il serait nécessaire de disposer d'analyses chimiques sur tous les échantillons (positifs et négatifs), ainsi que de bio-essais réalisés toute l'année pendant plusieurs années, pour réaliser une analyse approfondie.

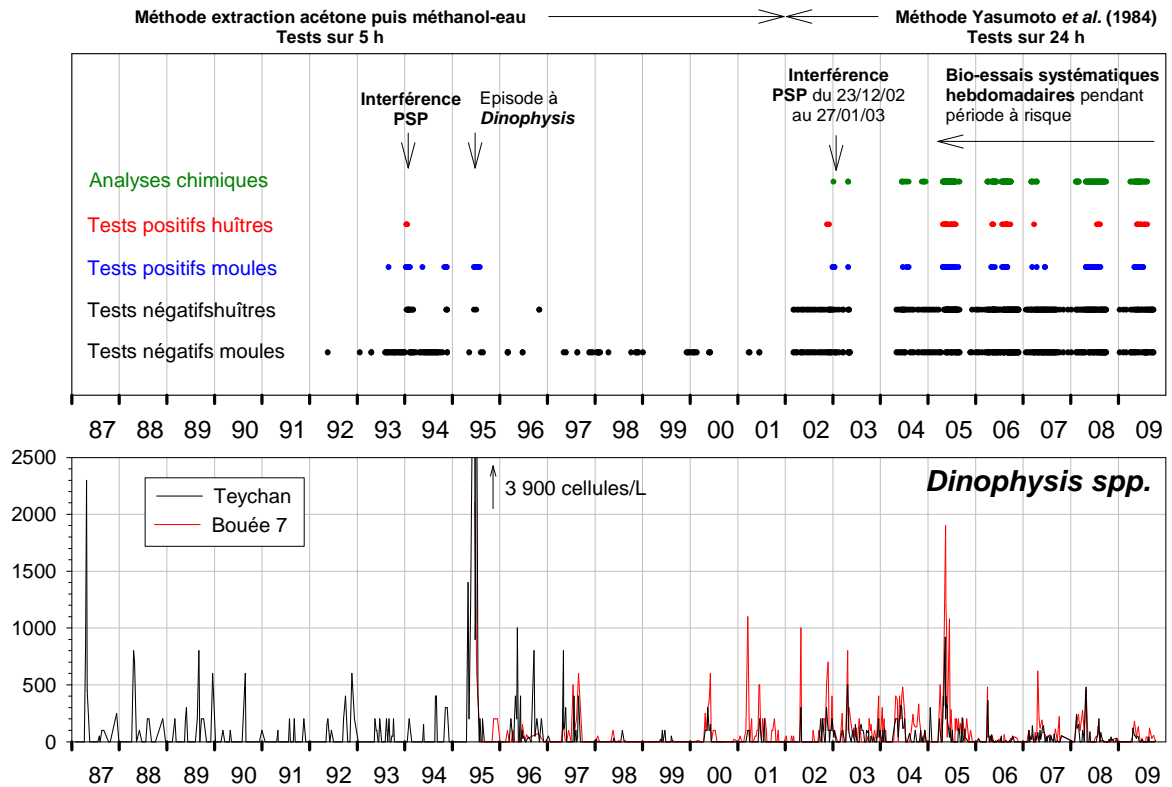


Figure 2. Série historique des données concernant les toxines lipophiles et les effectifs de *Dinophysis* (cellules/L) dans le Bassin d'Arcachon.

1.1.2. Période précédant l'année 2004

Certains éléments de la période précédant l'année 2004 (année où nous commençons à disposer d'analyses chimiques plus nombreuses) peuvent être précisés, à partir des résultats des quelques bio-essais réalisés à cette époque et des dénombrements de *Dinophysis* (Figure 2).

- En août 1993, les bio-essais positifs sur moules ne sont pas liés à des densités importantes de *Dinophysis* (inférieures à 200 cellules/L). Il en est de même en mai et novembre 1994⁷.
- La période de mai et juin 1995 peut être identifiée comme un épisode à *Dinophysis*, avec des bio-essais positifs sur les moules (et négatifs sur les huîtres), bien que nous ne disposions pas d'analyses chimiques pour confirmer cette assertion. Les effectifs de *Dinophysis* sont les plus élevés observés sur la série historique (jusqu'à 3 900 cellules/L).
- La période fin novembre-début décembre 2002 semble aussi correspondre à une période de toxicité due à la présence de *Dinophysis* (bien que nous ne disposions pas non plus d'analyses chimiques pour confirmer cette assertion), et concerne à la fois les huîtres et les moules⁸.

⁷ Les résultats positifs sur les moules et les huîtres de début 1994 ne sont pas concernés par cette remarque car ils résulteraient d'une interférence du test (tel qu'effectué à cette époque) avec la présence de PSP (Belin et Raffin, 1998).

⁸ Fin 2002 et début 2003, comme en 1994, les résultats positifs sur les moules résulteraient d'une interférence du test avec la présence de PSP.

- En avril 2003, un petit épisode à *Dinophysis* semble affecter uniquement les moules.

En conclusion, il peut y avoir suspicion de toxicité d'origine inconnue sur les moules en 1993 et en 1994 (bien que la méthode d'extraction, moins spécifique à cette époque, ne permette pas de vraiment comparer les situations de 1993 et 1994 avec celles de ces dernières années). Par ailleurs, la quasi-absence de données de 1996 à 2001 ne permet pas de se prononcer sur cette période.

1.1.3. Analyse globale des résultats de la série des bio-essais

Une première analyse des résultats de la série des bio-essais peut être réalisée.

1. Les nombreux bio-essais réalisés de 1993 à 2009 à partir des hépatopancreas d'huîtres ont pour une large part conduit à des résultats négatifs (86 %), y compris au cours des printemps et étés, en particulier en 2002, 2004, 2007 et 2008 (Figure 2 et Tableau 1). Il est donc erroné de penser que la positivité des tests sur les huîtres soit apparue en même temps que l'augmentation de leur fréquence. Cependant, certaines années, en particulier 2005 et 2009, montrent des proportions plus importantes de tests positifs pour les huîtres que les autres années (respectivement 35 % et 20 %).

Année	Moules <i>Mytilus edulis</i>			Huîtres <i>Crassostrea gigas</i>			Origine
	négatif	positif	Total	négatif	positif	Total	
1993	24	2	26	pas de test			Arguin Grand-Banc
1994	47	22	69	34	3	37	Arguin Grand-Banc Tès Ferret
1995	3	10	13	2		2	Arguin Grand-Banc Ferret
1996	3		3	2		2	Arguin Ferret
1997	7		7			-	Arguin
1998	10		10			-	Arguin
1999	4		4			-	Arguin
2000	6		6			-	Arguin
2001	4		4			-	Arguin
2002	28	4	32	23	2	25	Arguin Grand-Banc
2003	14	5	19	9		9	Arguin Grand-Banc
2004	16	3	19	21		21	Arguin
2005	23	25	48	47	25	72	Arguin Grand-Banc Tès
2006	61	15	76	89	15	104	Arguin Grand-Banc Tès
2007	47	4	51	55	1	56	Arguin Grand-Banc
2008	38	19	57	54	4	58	Arguin Grand-Banc
2009	36	32	68	57	14	71	Arguin Grand-Banc
Total	371	141	512	393	64	457	1059

Tableau 1. Bio-essais réalisés sur souris à partir des moules et des huîtres depuis 1993 dans le Bassin d'Arcachon (jusqu'à fin septembre 2009).

2. Pour les tests réalisés à une même date et sur le même site, il y a beaucoup plus de résultats positifs pour les moules⁹ que pour les huîtres. Dans les cas où au moins un test est positif (113 cas), la positivité concerne soit les moules seules (60 cas), soit les deux types de coquillages (40 cas) (Tableau 2). Ces résultats rendent globalement compte du fait que la moule accumule plus le produit toxique pour les souris que l'huître. Ponctuellement, il arrive cependant que les tests soient positifs uniquement sur les huîtres (13 cas) (Tableau 2).

Année	tests M positifs tests H positifs	tests M positifs tests H négatifs	tests M négatifs tests H positifs	tests M négatifs tests H négatifs	Total
2002	1	2	1	22	26
2003	0	2	0	8	10
2004	0	3	0	16	19
2005	15	9	3	15	42
2006	11	2	3	57	73
2007	0	4	1	44	49
2008	3	16	1	37	57
2009	10	22	4	30	66
Total	40	60	13	229	342

Tableau 2. Résultats de bio-essais réalisés à partir des moules (M) et des huîtres (H) à une même date et sur un même site depuis 2002 dans le Bassin d'Arcachon (jusqu'à fin septembre 2009).

3. Pour les tests réalisés sur les deux sites à une même date, on dénombre plus de résultats positifs à l'entrée du Bassin (Arguin directement sous influence océanique) que plus à l'intérieur (Grand-Banc). Dans les cas où au moins un test est positif (92 cas), la positivité concerne soit les deux sites (47 cas), soit seulement Arguin (30 cas) (Tableau 3). Il arrive parfois que les tests soient positifs uniquement au Grand-Banc (15 cas). Cependant, il n'y a jamais eu de test positif au Tès seul, ce qui semble témoigner du fait que les phénomènes de toxicité sont bien liés à une origine océanique¹⁰. Ce site n'est plus testé depuis 2006, ce qui ne permet pas d'étayer plus avant cette hypothèse.

Les différences observées entre Arguin et Grand-Banc pourraient s'expliquer en partie par des masses d'eau océanique d'origine différente baignant, à certaines périodes, les deux secteurs. Elles peuvent aussi correspondre à un décalage dans le temps entre les périodes de contamination, puis de décontamination des mollusques.

⁹ Les tests positifs sur les moules de fin 2002 et début 2003 n'ont pas été pris en compte du fait d'une interférence avec des PSP.

¹⁰ Ajoutons que les tests réalisés sur les palourdes, prélevées dans la partie interne de la Baie, ont toujours été négatifs.

Année	tests A positifs tests GB positifs	tests A positifs tests GB négatifs	tests A négatifs tests GB positifs	tests A négatifs tests GB négatifs	Total
2002	0	1	2 ¹¹	3	4
2003	2	0	0	6	8
2004	Arguin testé seul				
2005	18*	6	3	10	37
2006	6**	3	5**	44	58
2007	1	1	0	36	38
2008	5	10	0	30	45
2009	15	9	7	34	65
Total	47	30	15	163	255

Tableau 3. Résultats de bio-essais réalisés à partir des coquillages d'Arguin (A) et de Grand-Banc (GB), à une même date et sur une même espèce, depuis 2002 dans le Bassin d'Arcachon (jusqu'à fin septembre 2009).

* : Deux tests positifs aussi au Tès ** : Un test positif aussi au Tès

En conclusion, les proportions de résultats positifs sur les huîtres augmentent pour la première fois en 2005 et sont de nouveau très élevées au cours de l'année 2009. Globalement, les résultats des bio-essais montrent que les moules sont plus souvent et plus fortement toxiques pour les souris que les huîtres, ce qui rend bien compte de la physiologie propre à chaque espèce, et confirme le rôle sentinelle pouvant être joué par les moules. Enfin, les phénomènes de toxicités apparaissent avoir une origine océanique. Nous étudierons ci-dessous, lors de l'analyse détaillée de la période 2002 à 2009, si ces observations s'avèrent applicables aussi bien aux toxicités d'origine inconnue qu'à celles d'origine identifiée.

1.2. Analyse de la série historique de 2002 à 2009

1.2.1. Rappels sur les toxines lipophiles et sur les espèces phytoplanctoniques les produisant

Les solvants (acétone, dichlorométhane) utilisés pour extraire les toxines à partir de l'hépatopancréas extraient toutes les toxines lipophiles. Ces toxines lipophiles comprennent à la fois les toxines classées diarrhéiques (dinophysistoxines : acide okadaïque et dérivés DTXs), les pecténotoxines (PTXs), les yessotoxines (YTXs) et les azaspiracides (AZAs), ainsi que des neurotoxines à action rapide comme les spirolides (SPXs), gymnodimines (GYMs), pinnatoxines, ptériatoxines, prorocontrolides et brevetoxines.

Le tableau 4 présente la liste des toxines lipophiles et des espèces phytoplanctoniques susceptibles de les synthétiser (IOC Taxonomic Reference List of Toxic Algae¹² ; Hess, 2010).

¹¹ Lors de l'interférence du test avec la présence de PSP. Cas non comptabilisés.

¹² Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 2004. (<http://www.bi.ku.dk/ioc/>).

Toxines	Espèces phytoplanctoniques productrices	Toxines	Espèces phytoplanctoniques productrices
acide okadaïque	<i>Dinophysis acuminata</i> <i>Dinophysis acuta</i> <i>Dinophysis caudata</i> <i>Dinophysis fortii</i> <i>Dinophysis miles</i> <i>Dinophysis norvegica</i> <i>Dinophysis rapa</i> <i>Dinophysis rotundata</i> (= <i>Phalacroma rotundatum</i>) <i>Dinophysis sacculus</i> <i>Prorocentrum arenarium</i> <i>Prorocentrum belizeanum</i> <i>Prorocentrum faustiae</i> <i>Prorocentrum hoffmannianum</i> <i>Prorocentrum lima</i> <i>Prorocentrum maculosum</i>	DTX(s) = dérivés de l'acide okadaïque	<i>Dinophysis acuta</i> <i>Dinophysis fortii</i> <i>Dinophysis miles</i> <i>Dinophysis mitra</i> <i>Dinophysis norvegica</i> <i>Dinophysis rotundata</i> (= <i>Phalacroma rotundatum</i>) <i>Dinophysis tripos</i> <i>Prorocentrum faustiae</i> <i>Prorocentrum lima</i>
PTX2	<i>Dinophysis caudata</i> <i>Dinophysis acuta</i> <i>Dinophysis fortii</i>	yessotoxines	<i>Lingulodinium polyedrum</i> <i>Protoceratium reticulatum</i> <i>Gonyaulax spinifera</i>
azaspiracides	<i>Azadinium spinosum</i>	prorocentrolides	<i>Prorocentrum lima</i> <i>Prorocentrum maculosum</i>
gymnodimines	<i>Karenia selliformis</i>	pinnatoxines	dinoflagellé péridinoïde (Rhodes <i>et al.</i> , 2010)
brevetoxines	<i>Karenia brevis</i>	ptériatoxines	origine inconnue
spirolides	<i>Alexandrium ostenfeldii</i>		

Tableau 4. Liste des toxines lipophiles identifiées et des espèces phytoplanctoniques susceptibles de les synthétiser (source IOC Taxonomic Reference List of Toxic Algae ; Hess, 2010).

Les relations entre espèces phytoplanctoniques et toxines ne sont cependant pas simples. Les précisions suivantes sont apportées par Marcaillou-Le Baut (2006) :

"La toxinogénèse, c'est-à-dire la production de phycotoxines au cours du cycle cellulaire, et les variations entre différents organismes du même groupe, est assez mal connue mais les études montrent qu'elle est influencée par des facteurs génétiques et environnementaux. En général, à une espèce d'algue correspond une famille de molécules dont la quantité relative est assez stable. On aurait tendance à considérer cette observation comme une caractéristique de l'espèce mais on observe des exceptions aussi bien dans la quantité que dans la diversité structurale des substances produites.

En effet, à l'intérieur d'une même espèce ou d'un même genre, il peut exister des populations ou des espèces toxiques et d'autres non toxiques. À l'inverse, une famille de toxines peut être produite par deux genres différents. Par exemple, l'acide okadaïque et ses dérivés sont synthétisés à la fois par *Dinophysis* spp., qui est un genre pélagique¹³ mixotrophe¹⁴, et par certains *Prorocentrum* dont *P. lima* qui est une espèce benthique¹⁵

¹³ Pélagique : qualifie une espèce, des individus vivant en pleine eau.

¹⁴ Mixotrophe : qualifie un organisme capable de se nourrir aussi bien par autotrophie que par hétérotrophie.

¹⁵ Benthique : qualifie un organisme vivant sur le fond libre (vagile) ou fixé (sessile).

autotrophe¹⁶. Enfin, la même phycotoxine peut être synthétisée par des organismes appartenant à des groupes phylogéniques éloignés. Par exemple, la saxitoxine, une des plus puissantes toxines paralysantes, est produite par plusieurs espèces de dinoflagellés (*Alexandrium tamarense*, *Gymnodinium catenatum*, *Phyrodinium bahamense*) mais aussi par des cyanobactéries et peut-être des eubactéries qui sont très éloignées du point de vue évolutif. Autre exemple, l'acide okadaïque tient son nom de l'éponge à partir de laquelle il a été isolé : *Halichondria okadaï*."

En ce qui concerne *Dinophysis*, des concentrations relativement faibles (quelques centaines de cellules/L) sont susceptibles de contaminer les coquillages. La plupart des événements de toxicité rapportés dans la littérature font état de quelques centaines à quelques milliers de cellules/L, sachant que la toxicité de *Dinophysis* peut être variable dans le temps et selon les espèces (FAO/IOC/WHO, 2005 ; AFSSA, 2006). Les développements de *Dinophysis* sont généralement observés au printemps et en été en Atlantique. Leur répartition peut être très hétérogène, horizontalement (taches de quelques centaines de mètres de diamètre) ou verticalement le long de la colonne d'eau.

L'accumulation des toxines dans les coquillages est fonction des concentrations en algues toxiques, de leur quantité cumulée et de la physiologie propre à chaque espèce de mollusques (taux de filtration, d'assimilation, de détoxification). D'autres paramètres jouent aussi un rôle essentiel tels l'abondance des autres espèces algales ou la répartition des algues toxiques dans l'eau qui peut-être hétérogène. La contamination peut ainsi être très rapide (moins de 2 jours) ou nécessiter de plusieurs jours à une semaine pour atteindre le seuil de toxicité (Lassus et Marcaillou-Le Baut, 2001). De plus, une variabilité inter-individuelle importante des moules a pu être observée par Edebo *et al.* (1988). Cette variabilité a pu aussi être observée dans les huîtres en ce qui concerne le PSP (Paralytic Shellfish Poison) (Lassus *et al.*, 2002).

L'élimination des toxines lipophiles peut être lente ou rapide selon les espèces de mollusques. Chez les moules, elle se ferait selon un modèle biphasique avec une phase rapide qui dure quelques jours, puis une phase lente qui peut durer plusieurs semaines (Lassus et Marcaillou-Le Baut, 2001). Le rôle de la température dans la cinétique de décontamination est controversé. En revanche, l'abondance de nourriture favoriserait la décontamination.

1.2.2. Toxines analysées

Le nombre de toxines recherchées et/ou quantifiées a évolué au cours de la période d'étude du fait de l'absence de standards pour certaines toxines jusqu'à une période récente (Belin *et al.*, 2009). Les toxines recherchées avec leurs limites de détection (LD) et de quantification (LQ) pour les différentes années et les différentes toxines sont décrites ci-dessous (Belin *et al.*, 2009).

¹⁶ Autotrophe : qualifie un organisme capable de synthétiser sa propre matière organique à partir d'éléments inorganiques prélevés dans le milieu. A *contrario*, un organisme hétérotrophe élabore sa propre matière organique à partir de constituants organiques d'origine animale ou végétale.

- **2003**

- o AO+DTXs LD = 5 LQ = 10

- **2004 et 2005**

- o AO+DTXs LD = 5 LQ = 10

- o PTXs LD non validée

- o SPXs LD non validée

- **2006**

- o AO+DTXs LD = 5 LQ = 10

- o AZAs LD non validée

- o GYMs LD non validée

- o PTXs LD non validée

- o SPXs LD non validée

- o YTXs LD non validée

- **2007**

- o AO+DTXs LD = 5 LQ = 10

- o AZAs LD non validée

- o GYMs LD non validée

- o PTXs LD = 4 LQ = 8

- o SPXs LD = 1 LQ = 1,6

- o YTXs LD non validée

- **2008 et 2009**

- o AO+DTXs LD = 5 LQ = 10

- o AZAs LD = 1,5 LQ = 5

- o GYMs LD = 1 LQ = 2

- o PTXs LD = 4 LQ = 8

- o SPXs LD = 1 LQ = 1,6

- o YTXs LD = 16 LQ = 24

La valeur-seuil considérée conduire à des tests souris positifs est de 160 µg /Kg de chair de mollusque pour l'**acide okadaïque**. Néanmoins, une évaluation récente suggère que la probabilité de détecter un résultat positif à cette concentration est inférieure à 50% (EFSA, 2008 ; Aune *et al.*, 2007). Une valeur supérieure à 400 µg/Kg de chair entraîne des mortalités rapides sur les souris (en moins de 5 heures) (AFSSA, 2008).

Un facteur d'équivalence toxinique (TEF) de 1 appliqué aux **DTXs**¹⁷ et aux **PTXs** par rapport à l'acide okadaïque (AFSSA, 2008), conduit à la même valeur seuil de 160 µg en équivalent d'AO/Kg de chair pour ces deux toxines.

Pour les **azaspiracides**, la valeur seuil est aussi de 160 µg/Kg de chair.

¹⁷ Pour la DTX-2, ce rapport est égal à 0,6 (Aune *et al.*, 2007).

Pour les **spiroïdides** et les **yessotoxines**, en l'absence de références dans la littérature, nous avons effectué le calcul à partir de la DL 50, c'est-à-dire de la dose conduisant à la mortalité de 50 % des souris (dans notre cas 2 sur 3).

La DL 50 pour les **spiroïdides** étant de 40 µg/Kg de souris et 5 g d'hépatopancréas étant injectés à des souris de 20 g, la valeur seuil d'action sur les souris correspond donc à 32 µg/Kg de chair de mollusque (en considérant que le poids d'hépatopancréas représente 20% du poids total de la chair des mollusques).

Le même calcul appliqué aux **yessotoxines**, à partir d'une DL50 de 250 µg/Kg de souris conduit à 200 µg/Kg de chair de mollusque. Cependant, seulement 10 % de ces toxines sont extraites dans la phase DCM et injectées aux souris (P. Hess, comm. pers.). Il faut donc en fait 10 fois plus de toxine dans les coquillages pour obtenir une action sur les souris, soit 2 000 µg/Kg de chair de mollusque¹⁸.

Les seuils définis ci-dessus seront utilisés pour la qualification des épisodes de toxicité d'origine connue ou inconnue.

1.2.3. Résultats des analyses de toxines

En **2003**, les 3 analyses effectuées permettent de détecter et quantifier l'acide okadaïque (AO) et ses dérivés DTX, seuls recherchés dans les échantillons.

En **2004**, en plus de ces composés, des pecténotoxines (PTX) et des spiroïdides (SPX) sont décelées, de même qu'en **2005** (année où les dosages se multiplient) (Amzil, 2007), **2006** et **2007** (année où leurs limites de détection sont définies) (Figure 3).

En **2008**, en plus de ces quatre familles de toxines, des yessotoxines (YTX) (recherchées depuis 2006 mais dont la limite de détection est validée cette même année) font leur apparition en quantité relativement importante (Figure 3).

En **2009**, aucune nouvelle toxine n'est répertoriée.

Précisons que les azaspiracides n'ont été détectées dans le Bassin d'Arcachon que durant l'été 2007, à des concentrations bien inférieures (2 à 17 µg/Kg de chair) au seuil de toxicité sur les mollusques (160 µg/Kg de chair).

Les observations suivantes peuvent être faites (Figure 3).

- Les niveaux de toxines susceptibles de conduire à un test souris positif pour les moules sont atteints ou dépassés plusieurs fois en 2005 et en 2008, et une seule fois en 2004 et en 2006. Pour les huîtres, seuls quelques échantillons de 2005 dépassent ce niveau de toxicité.
- En 2006, 2007 et 2009, les toxines recherchées ont été présentes en très faible quantité.
- Les résultats des dosages de toxines lipophiles montrent bien la simultanée de leur présence chez les deux types de mollusques ainsi que l'accumulation plus forte chez les moules que chez les huîtres.

¹⁸ Ce seuil d'action sur les souris est très supérieur à celui considéré par l'AFSSA (2008). Rappelons que le seuil sanitaire réglementaire est de 1 000 µg/Kg de chair de mollusque (AFSSA, 2008).

- En 2008, les yessotoxines apparaissent début juin à la suite d'un épisode à acide okadaïque, centré sur fin avril-début mai. Leurs concentrations augmentent rapidement jusqu'au 9 juin (jusqu'à 680 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) ; elles décroissent ensuite assez rapidement en juin et juillet, puis plus lentement pendant les mois d'août et septembre. Les teneurs mesurées dans les coquillages ne semblent cependant jamais suffisantes pour conduire à des résultats positifs de bio-essais¹⁹ (inférieures au seuil de 2 000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de chair défini ci-dessus).

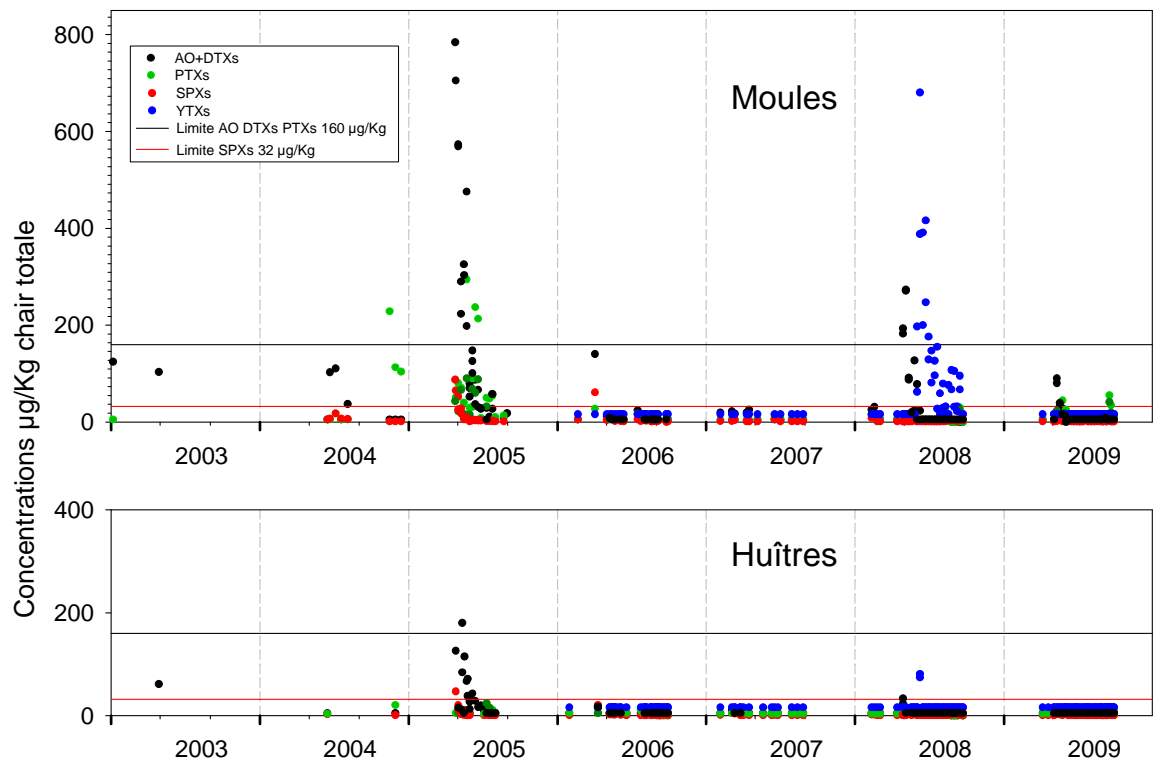


Figure 3. Evolution des concentrations en toxines depuis 2003 dans les hépatopancréas des moules et huîtres du Bassin d'Arcachon ($\mu\text{g}/\text{Kg}$ chair totale) (tous sites).

- Les maximums de spirolides correspondent à ceux de l'acide okadaïque. Les deux types de toxines sont ainsi très corrélées dans les moules (Figure 4). Ceci n'est vrai que pour les valeurs élevées (supérieures à 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ d'AO et à 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de SPX), raison pour laquelle cette relation ne s'observe pas pour les huîtres.

¹⁹ Contrairement à ce qui est présenté dans AFSSA (2008).

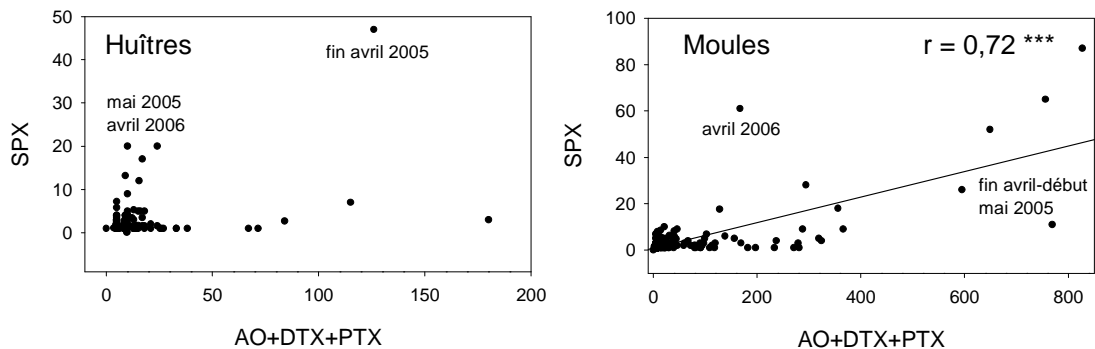


Figure 4. Relation entre les teneurs en dinophysistoxines+pecténotoxines et en spirolides dans les hépatopancreas des moules et des huîtres ($\mu\text{g}/\text{Kg}$ chair totale) (nuages de points tous sites).

1.2.4. Qualification des épisodes de toxicité

La qualification des épisodes toxiques a été réalisée à partir des résultats des tests souris et des analyses chimiques obtenus à Arguin, où les tests sont plus nombreux et plus souvent positifs qu'au Grand-Banc (dont les résultats ne diffèrent que ponctuellement, tableau 4). Les abondances de *Dinophysis* ont aussi été utilisées en 2002 et 2003, lorsque les analyses chimiques n'étaient pas effectuées.

Les résultats des bio-essais ont été caractérisés au-delà du sens réglementaire, c'est-à-dire selon les symptômes observés sur les souris (diarrhées, léthargie...). En effet, en cas de test positif, les symptômes peuvent être plus ou moins marqués, et en cas de test négatif, il peut y avoir présence ou absence de symptômes. Ceci permet de mieux comparer les bio-essais entre les deux types de mollusques, d'aborder parfois les apparentes incohérences de résultats de tests alternativement positifs et négatifs, et de qualifier l'ensemble d'une période plutôt que des dates isolées. Quatre niveaux ont été définis :

- **niveau 1** : aucun symptôme observé sur les souris et aucune souris morte,
- **niveau 2** : présence de symptômes sur les souris et/ou une souris morte,
- **niveau 3** : 2 ou 3 souris mortes en plus de 5 h,
- **niveau 4** : 2 ou 3 souris mortes en moins de 5 h²⁰.

Ainsi en 2005, 2008 et 2009, les épisodes de toxicité atypique sur les moules n'ont pas été morcelés car les résultats des tests, même s'ils n'étaient pas positifs au sens réglementaire, montraient des symptômes d'au moins un niveau 2 sur les souris (excepté une fois en 2008 et une fois en 2009). En 2006, les symptômes de niveau 2 associés aux tests sur les huîtres au début du mois d'août conduisent à ne pas diviser non plus la période de toxicité inconnue de l'été sur les moules.

Sur cette base, les périodes de toxicité typique ou atypique²¹, sur les moules et/ou les huîtres, ont été définies (Figure 5, Tableau 5).

²⁰ Les niveaux 1 et 2 correspondent à un résultat de test négatif, les niveaux 3 et 4 à un résultat de test positif.

²¹ c'est-à-dire, rappelons-le, "un épisode de contamination des coquillages, révélé à travers une réponse toxique chez la souris en injection intra péritonéale, dont l'origine ne peut pas être expliquée par la présence de toxines connues habituellement recherchées" (AFSSA, 2006).

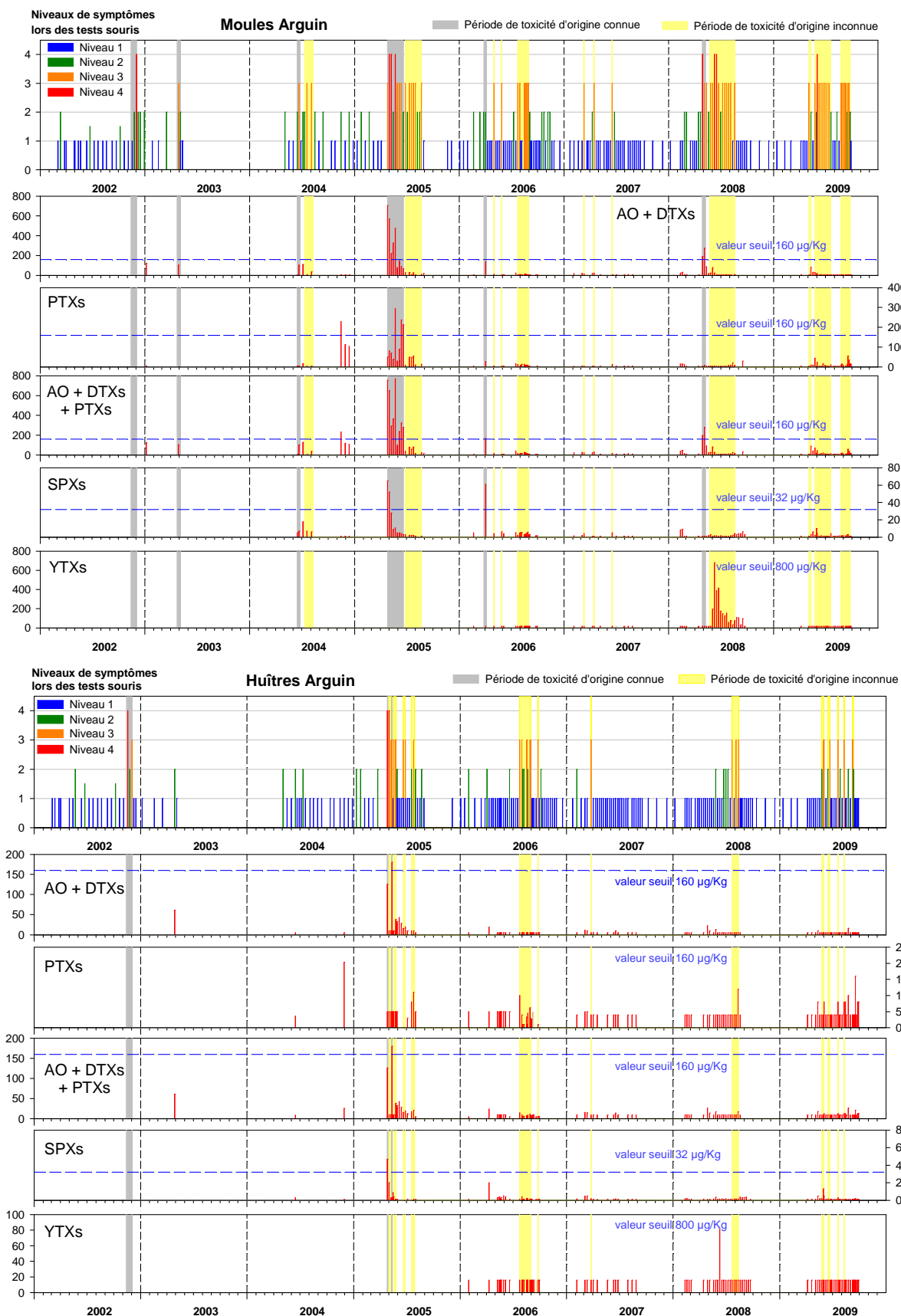


Figure 5. Résultats des bio-essais (niveaux des symptômes lors des tests souris) et des analyses de toxines des moules et des huîtres d'Arguin depuis 2002 ($\mu\text{g}/\text{Kg}$ chair totale).

Année	Dates	Moules	Dates	Huîtres
2002	14/11 - 03/12	Episode à <i>Dinophysis</i>	14/11 - 03/12	Episode à <i>Dinophysis</i>
2003	24/04 - 05/05	Episode à AO	-	-
2004	15/06 - 25/06	Episode à AO	-	-
	11/07 - 10/08	Episode atypique	-	-
2005	26/04 - 20/06	Episode à AO puis PTX	26/04 - 28/04	Episode à AO
			29/04 - 10/05	Episode atypique
			11/05 - 13/05	Episode à AO
			18/05 - 27/05	Episode atypique
	20/06 - 22/08	Episode atypique	20/06 - 27/06	Episode atypique
			18/07 - 29/07	Episode atypique
2006	28/03 - 03/04	Episode fugace à AO	-	-
	02/05 et 29/05	Episodes atypiques	-	-
	24/07 - 31/08	Episode atypique	24/07 - 31/08	Episode atypique
			24/09 - 26/09	Episode atypique
2007	11/03 - 13/03	Episode atypique		
			25/03 - 27/03	Episode atypique
	15/04 - 17/04	Episode atypique		
	17/06 - 19/06	Episode atypique		
2008	28/04 - 08/05	Episode à AO		
	23/05 - 19/08	Episode atypique	21/07 - 14/08	Episode atypique
2009	04/05 - 11/05	Episode atypique		
	25/05 - 20/07	Episode atypique	25/05 - 02/06	Episode atypique
			15/06 - 22/06	Episode atypique
			19/07 - 20/07	Episode atypique
			09/08 - 11/08	Episode atypique
24/08 - 25/09	Episode atypique	07/09 - 11/09	Episode atypique	

Tableau 5. Qualification des épisodes de toxicité depuis 2002 dans le Bassin d'Arcachon, à partir des résultats du site Arguin.

Episodes de toxicité typique

De 2002 à 2009, 6 épisodes à *Dinophysis* ou à acide okadaïque (AO) peuvent être identifiés (Tableau 5).

- En **novembre-décembre 2002**, bien que nous ne disposions pas d'analyses chimiques, les effectifs assez élevés de *Dinophysis* (Figure 2) et les forts symptômes observés sur les souris injectées avec des extraits de moules et d'huîtres, permettent de classer la fin du mois de novembre dans cette catégorie²².
- En **avril 2003** et en **juin 2004**, bien que les concentrations en équivalent AO atteignent tout juste la limite de 160 µg/Kg de chair, la présence significative de *Dinophysis* (Figure 2) permet de qualifier ces épisodes comme typiques. Ils ne concernent que les moules.

²² En décembre 2002 et janvier 2003, comme en 1994, les résultats positifs sur les moules résulteraient d'une interférence du test avec la présence de PSP.

- **Fin avril 2005**, les fortes teneurs en équivalent AO (parfois supérieures à 400 µg/Kg de chair) et les symptômes de niveau 4 (mortalités des souris en moins de 5 h) pour les moules, définissent le début d'un épisode très caractéristique²³. Il se prolonge environ jusqu'à début juin. Il concerne ponctuellement les huîtres (Tableau 5 et Figure 5). Rappelons que les fortes concentrations en spirolides observées conjointement sont aussi responsables de l'extrême rapidité de la mort des souris.
- **Fin mars-début avril 2006**, un épisode fugace à AO (et spirolides) sur les moules ne conduit pas à des résultats de tests positifs mais cependant à des symptômes de niveau 2 observés de façon répétée (Figure 5).
- **En 2008**, un épisode caractéristique se produit fin avril-début mai. Il ne concerne que les moules.

Ainsi, le plus souvent, les épisodes de toxicité typique surviennent au printemps et ne touchent de façon aiguë que les moules²⁴.

Episodes de toxicité atypique

Le premier épisode de toxicité d'origine inconnue apparaît en 2004 (Tableau 5 et Figure 5). Il dure près d'un mois (du 11 juillet au 10 août) et n'intéresse que les moules.

De 2004 à 2009, 17 épisodes de toxicité d'origine inconnue²⁵ ont été identifiés (Figure 5, Tableau 5) dont :

- 7 concernent les moules seules (dont 3 très fugaces en 2007),
- 5 concernent les moules et les huîtres conjointement,
- 5 concernent les huîtres seules. Dans ce cas, ils sont toujours très fugaces. Les deux premiers se produisent en 2005 alors que les moules présentent une toxicité explicable sur les souris (due à l'acide okadaïque ou aux pecténotoxines) (dans ces deux cas, rien n'empêche de penser que la toxicité atypique existe aussi chez les moules mais qu'elle est simplement masquée par la toxicité typique). Les trois autres événements (en 2006, 2007 et 2009) surviennent en dehors d'épisodes de toxicité identifiée sur les moules.

Pour les moules, la plupart de ces épisodes se prolongent de 1 à 2 mois, rendant compte d'événements bien installés²⁶. Pour les huîtres, les périodes de toxicité atypique²⁷ sont incluses dans celles concernant les moules (Figure 5). Ainsi, les résultats de bio-essais présentent une cohérence globale, confirmant la réalité d'un phénomène intéressant la colonne d'eau, susceptible d'atteindre l'hépatopancréas de différents types de mollusques, à des intensités plus ou moins fortes.

²³ Les concentrations élevées en AO s'accompagnent de fortes teneurs en spirolides (jusqu'à 65 µg/Kg).

²⁴ Observation pouvant être rapprochée de la tradition de ne pas manger de moules à cette période à Arcachon.

²⁵ Ces périodes correspondent à celles répertoriées par Belin (2004) et l'AFSSA (2008) excepté en ce qui concerne la période à yessotoxines (cf. 1.1.3).

²⁶ Rappelons que l'épisode de 2008 pour les moules est classé en atypique en considérant que les fortes valeurs de yessotoxines ne sont pas suffisantes pour expliquer la positivité des bio-essais.

²⁷ Exceptés les trois cas signalés ci-dessus.

Au cours de ces épisodes, les symptômes relevés sur les souris sont plus marqués (ou au moins équivalents) pour les tests moules que pour les tests huîtres²⁸, comme lors des toxicités typiques (Figure 5). Ces observations, sachant que la moule filtre plus d'eau (et pour cette raison concentre plus fortement les éléments particuliers du milieu) que l'huître, conduisent à émettre l'hypothèse d'une origine particulière de la toxicité inconnue. De plus, le fait que la toxine soit concentrée dans l'hépatopancréas, et pas dans le manteau et les branchies, conforte cette hypothèse de pénétration de la toxine par voie alimentaire plus que par voie dissoute.

Si globalement les observations sont cohérentes, il existe cependant des cas où les résultats ne s'inscrivent pas dans le schéma décrit. Ils se rapportent à des tests positifs sur les huîtres et négatifs sur les moules à la même date et dans le même site (cf. 1.1.3., Tableau 2). Ces situations ne se produisent que lors de périodes de toxicité atypique. Ces cas pourraient s'expliquer par des cinétiques de contamination/détoxification de l'agent inconnu différentes pour les deux types de mollusques, comme cela a été montré pour les toxines connues. Il est aussi intéressant de noter que ces cas concernent majoritairement le site du Grand-Banc²⁹. Nous savons que la contamination des mollusques présente, en plus d'une variabilité individuelle, une variabilité spatiale due à l'hétérogénéité de la répartition des algues toxiques dans l'eau (Lassus et Marcaillou-Le Baut, 2001). Le site du Grand-Banc serait, plus qu'Arguin, concerné par une répartition irrégulière de l'agent à l'origine des toxicités atypiques.

Par ailleurs, les toxicités atypiques présentent les caractéristiques suivantes.

- Elles se produisent toujours au cours des saisons printanières et estivales, entre les mois de mai et septembre. En dehors des épisodes ponctuels³⁰, les principales périodes pour les moules ont duré 1 mois en 2004 et 2006, 2 mois en 2005³¹ et 4 mois en 2008 et 2009. Le phénomène semble donc s'être amplifié depuis ces deux dernières années.
- Le contexte des épisodes atypiques ne semble pas identique d'une année à l'autre. En 2004, 2005 et 2008, ils se produisent pendant -ou font suite à- la présence de dinophysistoxines ou de yessotoxines dans les coquillages. En 2006 et 2009, ils surviennent en l'absence de toute toxine connue.
- Enfin, ces épisodes concernent plus le site d'Arguin que le site du Grand-Banc ce qui indiquerait, bien que de façon moins nette que pour les toxicités typiques, que la toxicité inconnue aurait aussi une origine océanique.

Il faut ajouter aussi que le Bassin d'Arcachon n'est pas le seul site à être atteint par des toxicités atypiques. De nombreux autres cas sont régulièrement répertoriés en Espagne (Chapela *et al.*, 2008), en Irlande et Norvège (Hess, 2009) ou le long du littoral français (Belin *et al.*, 2009) dont il est impossible de savoir s'ils ont, ou non, la même origine.

²⁸ *Idem.*

²⁹ Sauf en 2009 où il concerne 3 fois sur 4 le site d'Arguin. (cf. Annexe 1).

³⁰ Deux en mai 2006 et quatre au cours de l'année 2007, qui ont donné lieu à des interdictions de la commercialisation des huîtres ou des moules.

³¹ Rien n'empêche cependant de penser, qu'en 2005, la toxicité typique sur les moules ait pu masquer une toxicité atypique qui existait conjointement et qui se révélait chez les huîtres. Dans ce cas, le mois de mai pourrait être ajouté ce qui conduirait à 3 mois de toxicité atypique.

1.2.5. Liens entre espèces phytoplanctoniques et toxines connues

1.2.5.1. *Dinophysis*, dinophysistoxines et pecténotoxines

Rappelons que le genre *Dinophysis*, du fait de sa toxicité potentielle, fait l'objet d'un suivi hebdomadaire depuis 1987 à la station Teychan et depuis 1995 à la station Bouée 7 (Figure 6).

Dinophysis est présent dans le chenal du Teychan plus ou moins régulièrement depuis 1987. Tout au long de l'année, des effectifs de quelques dizaines de cellules/L peuvent être observés. Des pics d'abondance de quelques centaines de cellules/L se produisent le plus souvent au printemps (avril à juin) (en particulier en 1995 et 2005) mais aussi pendant l'été (1989, 1990, 1995, 1996, 1997) et parfois à l'automne (1992, 2002).

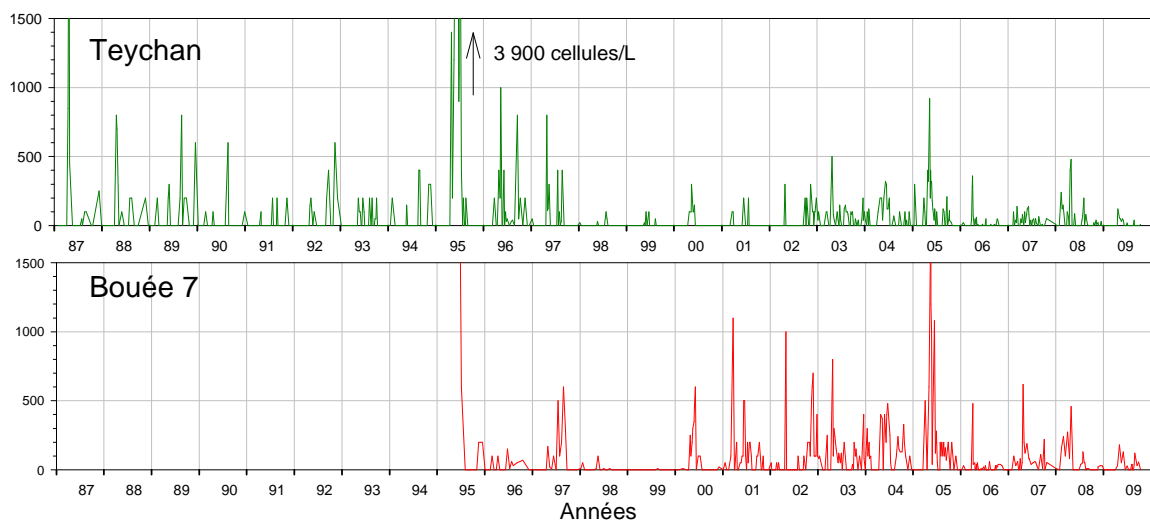


Figure 6. Evolution des concentrations en *Dinophysis* spp. (cellules/L) depuis 1987 dans le Bassin d'Arcachon.

A la Bouée 7, les effectifs de *Dinophysis* sont le plus souvent supérieurs à ceux du Teychan, avec des maximums pouvant précéder ceux du Teychan de quelques jours (Figure 6). Ces observations témoignent de l'origine océanique³² de ce genre ainsi que du fait qu'il ne se développe pas dans la Baie.

Certaines années, *Dinophysis* est peu abondant, en particulier en 1991, 1993, 1998, 1999, 2000, 2006, 2007³³ et 2009 (Figure 6).

Les 6 épisodes à AO, caractérisés ci-dessus depuis 2003, correspondent tous à la présence de *Dinophysis* en quantité très significative (voisine ou supérieure à 500 cellules/L) à l'entrée du Bassin (Figure 7). Une corrélation linéaire significative ($r = 0,66$, Figure 8) est mise en évidence entre la somme des concentrations

³² L'étude de la courantologie du Golfe de Gascogne, associée à la répartition de *Dinophysis* sur le plateau continental aquitain, fait l'objet d'une thèse en cours (François Batifoulier EPOC - IFREMER).

³³ Même si un petit pic fugace se produit au printemps en 2000, 2006 et 2007.

AO + DTXs + PTXs dans les moules d'Arguin et les effectifs maximaux de *Dinophysis* à la station Bouée 7 dans les jours précédant le prélèvement de moules³⁴.

Il peut arriver aussi que des effectifs conséquents de *Dinophysis* ne conduisent pas à une toxicité des mollusques. C'est le cas aux printemps 2002 et 2007. Ceci peut être dû à la fugacité du pic algal et/ou à la non-toxicité des *Dinophysis* à ce moment-là et/ou à la présence simultanée d'autres microalgues (cf. 1.2.1).

Les espèces suivantes ont été déterminées lors des comptages : *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. rotundata* (= *Phalacrocoma rotundatum*), *D. sacculus* et *D. tripos*. Elles sont toutes susceptibles de produire des toxines lipophiles (Tableau 4). Les espèces les plus fréquentes et les plus abondantes sont *D. acuminata* et *D. caudata*, la première étant dominante au printemps tandis que la seconde est surtout présente pendant l'été et l'automne (Figure 7).

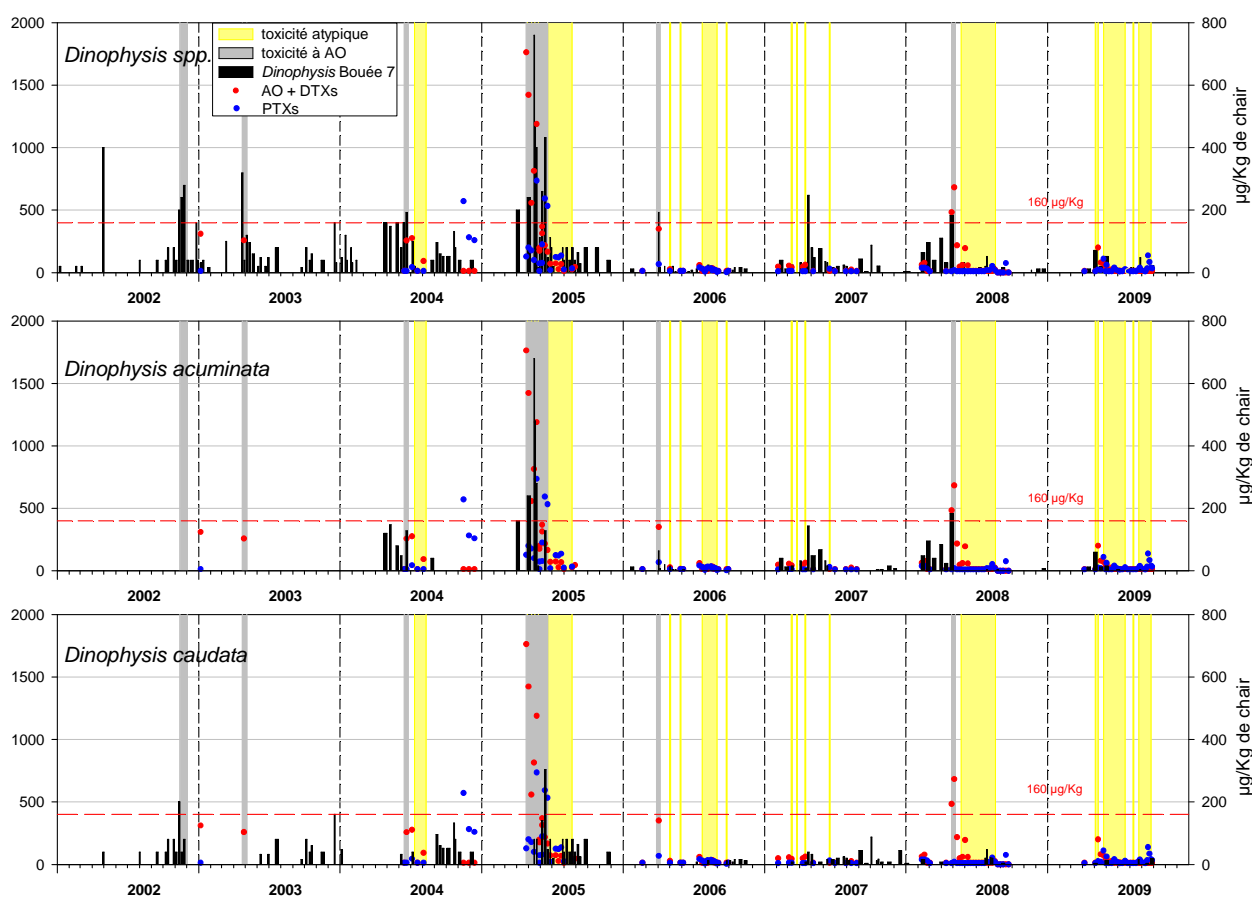


Figure 7. Evolution des effectifs de *Dinophysis* (cellules/L) à la station Bouée 7 depuis 2002 et des dinophysistoxines et pecténotoxines dans les moules d'Arguin depuis 2003.

* Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

³⁴ Il faut préciser à cet égard qu'il est parfois délicat, du fait de pas et dates de prélèvements différents, de constituer les couples de valeurs des deux variables.

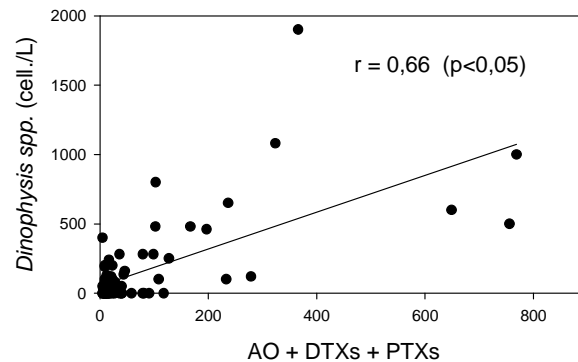


Figure 8. Relation linéaire entre les concentrations en AO+DTXs+PTXs dans les moules d'Arguin et les effectifs de *Dinophysis* spp. à la Bouée 7 (Bassin d'Arcachon).

C'est donc *D. acuminata* qui est principalement responsable des concentrations élevées d'acide okadaïque³⁵ rencontrées lors des épisodes typiques printaniers, même si d'autres espèces de *Dinophysis* peuvent également participer au phénomène. *D. acuminata* peut aussi synthétiser des pecténotoxines (PTX) (Amzil *et al.*, 2007). Cependant, les épisodes à PTX de l'automne 2004 et de la fin du printemps 2005 semblent plutôt associés à *D. caudata* (Figure 7), cité dans la littérature comme autre producteur de ces toxines (Tableau 4). Cette espèce paraît aussi être responsable de l'épisode automnal de novembre 2002³⁶.

Signalons que les concentrations en pecténotoxines observées en 2004, voisines ou supérieures à 160 µg/Kg, n'entraînent pas la positivité des bio-essais³⁷. Cependant, des symptômes de niveau 2 peuvent être observés sur les souris (Figure 5).

En juin 2005, les pecténotoxines s'ajoutent à l'acide okadaïque, ce qui pourrait expliquer la toxicité de la fin de la période typique.

1.2.5.2. Autres toxines et espèces phytoplanctoniques

Les spiroïdes

Les spiroïdes sont recherchées et détectées depuis 2004. En avril 2005, des concentrations voisines ou supérieures au seuil d'action sur les souris (32 µg/Kg), ont été rencontrées dans des moules et des huîtres du Bassin d'Arcachon (Tableau 6) (Amzil *et al.*, 2007).

³⁵ En avril 2003, les espèces n'ont pas été déterminées.

³⁶ Pour lequel, rappelons-le, nous ne disposons pas de résultats d'analyses chimiques.

³⁷ Ceci est probablement lié au fait que l'analyse chimique incluait à cette époque également les pecténotoxines transformées en seco-acides (une variante de métabolite formé dans les coquillages) qui ne provoquent pas de toxicité chez les souris.

Dates	Arguin		Grand-Banc	
	moules	huîtres	moules	huîtres
25/04/2005	65	47	87	-
02/05/2005	52	20	26	-
09/05/2005	28	-	18	-
03/04/2006	61	20	-	-

Tableau 6. Dates et valeurs des concentrations les plus élevées en spirolides ($\mu\text{g/Kg}$ de chair) observées dans les mollusques du Bassin d’Arcachon depuis 2004.

L’espèce productrice de spirolides, *Alexandrium ostenfeldii*, a été observée dans 3 prélèvements du Teychan les 28 avril 2005 (50 cellules/L), 6 avril 2006 (20 cellules/L) et 10 avril 2006 (10 cellules/L), et dans aucun prélèvement de la Bouée 7. Il faut préciser que cette espèce n’est pas facilement identifiable en microscopie optique et que les effectifs rencontrés sont très faibles. Depuis 2007, elle n’a plus été répertoriée dans le Bassin d’Arcachon bien qu’un bruit de fond de spirolides soit détecté par analyse chimique. Avant 2005, ce taxon avait été signalé en quelques occasions.

Ajoutons que la forte valeur en spirolides d’avril 2006 dans les moules d’Arguin (61 $\mu\text{g/Kg}$) ne s’accompagne pas d’une positivité du bio-essai mais simplement de symptômes de niveau 2 (Figure 5).

Les azaspiracides

Les azaspiracides sont recherchées dans les mollusques depuis 2006. Elles n’ont été détectées dans le Bassin d’Arcachon que durant l’été 2007 (de fin juin à début août) à de très faibles quantités (de 2 à 17 $\mu\text{g/Kg}$). L’espèce productrice, *Azadinium spinosum*³⁸, n’a été identifiée que récemment par Tillmann *et al.* (2009), raison pour laquelle elle n’a pas été pu être répertoriée dans les flores du REPHY d’Arcachon. Cependant, cette espèce pouvant être confondue en microscopie optique avec les petites formes du genre *Heterocapsa*, telles *H. niei*, il a semblé intéressant de représenter les variations d’abondances de cette espèce (Figure 9).

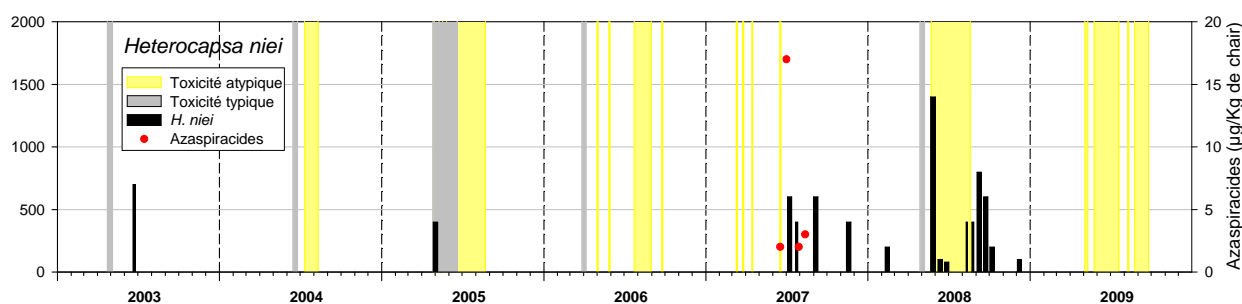


Figure 9. Evolution des effectifs de *Heterocapsa niei* (cellules/L) à la station Bouée 7 depuis 2003 et des azaspiracides dans les moules d’Arguin depuis 2006.

* Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d’Arguin.

Comme l’indique cette figure, la mise en évidence d’azaspiracides dans les mollusques en juillet 2007 correspond en effet à la présence de cette espèce dans l’eau, à une

³⁸ Il s’agit en d’un dinoflagellé à thèque de petite taille (12-16 μm de long et 7-11 μm de large).

concentration de quelques centaines de cellules/L, sans que l'on puisse conclure sur ce sujet.

Les yessotoxines

Après avoir été détectées pour la première fois en France en 2007 dans des mollusques de Méditerranée (Amzil *et al.*, 2008), les yessotoxines sont apparues en quantités importantes dans le Bassin d'Arcachon en 2008. La contamination s'est produite en une dizaine de jours, atteignant un maximum le 9 juin. Elle a surtout concerné les moules (maximum à Arguin : 680 µg/Kg, au Grand-Banc : 388 µg/Kg). La décontamination a été assez lente, les moules étant restées contaminées pendant environ 2 mois. Dans les huîtres, les yessotoxines n'ont été décelées qu'à une seule date (9 juin) à des concentrations de 81 et 77 µg/Kg respectivement à Arguin et au Grand-Banc. Roeder *et al.* (2009) ont observé expérimentalement que le potentiel de détoxification de la moule *Mytilus edulis* était plus lent que celui de l'huître *Crassostrea gigas* pour les yessotoxines.

Les espèces susceptibles de synthétiser les yessotoxines sont *Gonyaulax spinifera*, *Lingulodinium polyedrum* et *Protoceratium reticulatum* (Koike *et al.*, 2005 ; Rhodes *et al.*, 2006 ; Howard *et al.*, 2008).

- *Protoceratium reticulatum* n'a été répertorié dans les flores REPHY du Bassin d'Arcachon qu'à deux occasions, en 1988 et en 2006.
- *Lingulodinium polyedrum* a été observé à deux reprises en 2004 hors période de toxicité, puis une fois en 2007 et une fois en 2008, en très faibles quantités. Pendant ces périodes, les yessotoxines n'ont pas été détectées dans les coquillages (Figure 10).

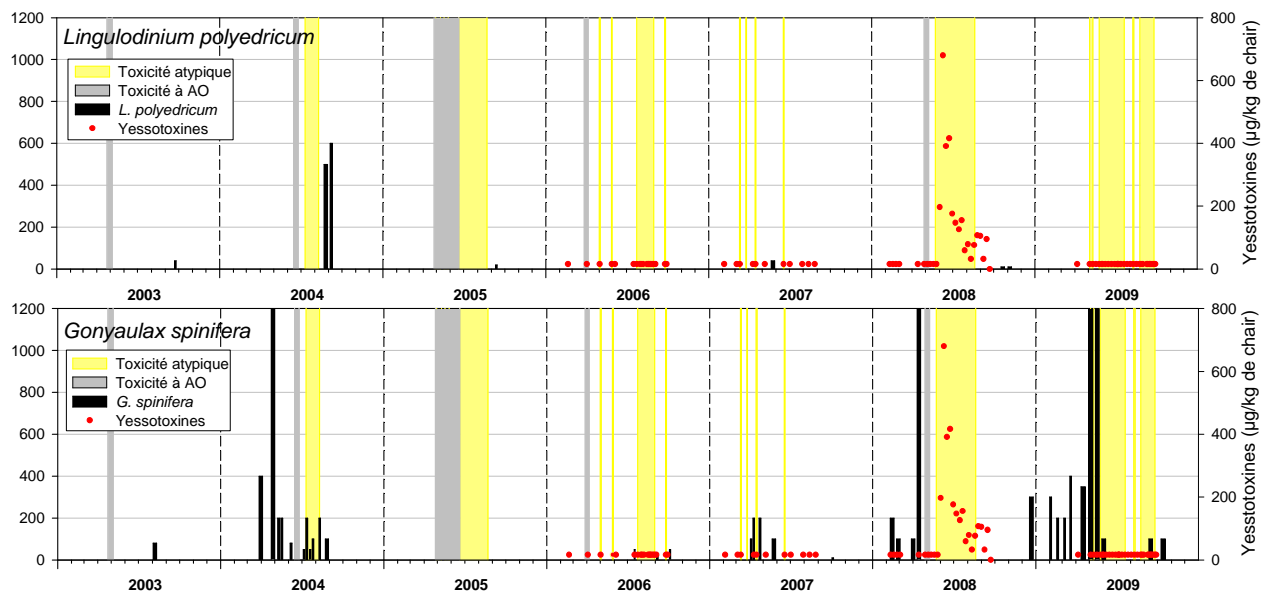


Figure 10. Evolution des effectifs de *Gonyaulax spinifera* et *Lingulodinium polyedrum* (cellules/L) à la station Bouée 7 depuis 2003 et des yessotoxines dans les moules d'Arguin depuis 2006.

* Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

- *Gonyaulax spinifera* est observé régulièrement dans le Bassin d'Arcachon. Depuis 2002, il est apparu fréquemment en 2004, 2007, 2008 et 2009, avec des maximums de 1 200 cellules/L aux printemps 2004, 2008 et 2009. Cependant, lors de la présence de ce

taxon dans les eaux du Bassin, même en quantité importante, les yessotoxines n'ont pas été détectées dans les coquillages (Figure 9). Lorsque ces toxines s'observent en quantité importante en 2008 dans les moules, c'est plus d'un mois après la dernière signalisation de la présence de *G. spinifera*.

Les résultats obtenus dans le cadre du REPHY ne permettent donc pas de préciser l'origine des yessotoxines en 2008 dans le Bassin d'Arcachon. D'autres observations, présentés ci-dessous (cf. 1.2.5.5.), apporteront une réponse partielle à cette question.

1.2.5.3. Plan d'intervention rapide

Début 2008, un plan d'intervention rapide (PIR) en cas de toxicité atypique dans le Bassin d'Arcachon, a été mis en place dans le but de compléter les prélèvements réalisés dans le cadre du programme national Arcachon (PNA) piloté par l'AFSSA.

Il s'agissait, en cas de toxicité atypique, de prélever :

- d'une part, des volumes importants d'eau de mer par pompage et de les filtrer sur des tamis de différentes tailles afin de concentrer trois fractions de phytoplancton (de 20 à 53 μm , de 53 à 100 μm et $> 100 \mu\text{m}$)³⁹,
- d'autre part, du sédiment pour l'observation du microphytobenthos, et des macroalgues benthiques et/ou des coquillages pour l'observation des espèces épiphytiques.

Ces prélèvements ont été réalisés à 4 reprises en 2008, sur les sites d'Arguin et de Grand-Banc, suite à des bio-essais positifs. De l'eau a été pompée pendant une durée de 15 à 20 minutes⁴⁰ au niveau des poches d'huîtres (1 m environ au dessus du fond), à pleine mer $\pm 2\text{h}$, les 30 mai, 5 juin, 25 juillet et 8 août. Le sédiment et les plantes et/ou coquillages ont été recueillis les jours suivants sur les parcs à huîtres dès qu'ils ont été accessibles à basse mer, soit les 2 juin, 9 juin, 28 juillet et 11 août.

Tous ces échantillons n'ont pas pu être analysés faute de moyens en personnel. Cependant, les fractions de phytoplancton concentré $> 20 \mu\text{m}$ ont fait l'objet d'examen phytoplanctoniques, d'analyses des toxines lipophiles connues et des acides gras, et sur une partie, de tests souris (laboratoire IFREMER EMP/PHYC) (Amzil *et al.*, 2009).

Toutes les toxines observées dans les hépatopancreas des mollusques du Bassin d'Arcachon ont été mises en évidence dans les concentrats de phytoplancton (Tableau 7).

³⁹ La fraction de 2 à 20 μm (nanoplancton) a aussi été concentrée mais s'est avérée au final être en quantité insuffisante pour permettre une exploitation analytique.

⁴⁰ Le volume filtré n'a pas pu être mesuré. Compte tenu du temps de pompage et du débit de la pompe, environ 1 000 à 1 500 L ont été filtrés sans que le volume exact de chaque prélèvement n'ait été précisé.

Date	Prélèvement	Site	Bio-essai	AO+DTXs	PTXs	SPXs	YSXs
26/05/2008	moules	Arguin	+	24	0	2.9	0
		Grand Banc	-	127	11	6	0
30/05/2008	PIR 1 (phytoplancton)	Arguin	-	29	89	1	0
		Grand Banc	-	152	18	1	0
02/06/2008	moules	Arguin	+	78	0	0	197
		Grand Banc	-	0	0	0	62
05/06/2008	PIR 2 (phytoplancton)	Arguin	/	144	404	4	43
		Grand Banc	-	4	190	2	20
09/06/2008	moules	Arguin	+	23	0	0	680
		Grand Banc	+	0	0	0	388
21/07/2008	moules	Arguin	+	0	0	0	155
		Grand Banc	-	0	0	0	27
25/07/2008	PIR 3 (phytoplancton)	Arguin	/	27	86	2	0
		Grand Banc	-	25	71	1	0
28/07/2008	moules	Arguin	+	0	0	0	59
		Grand Banc	-	0	0	0	0
04/08/2008	moules	Arguin	+	0	0	0	79
		Grand Banc	-	0	0	0	29
08/08/2008	PIR 4 (phytoplancton)	Arguin	/	348	1845	2	0
		Grand Banc	-	16	265	2	4
11/08/2008	moules	Arguin	-	0	21	2	32
		Grand Banc	-	0	0	0	0

Tableau 7. Concentrations en toxines lipophiles mesurées dans la fraction 20-53 μm du phytoplancton concentré (en grisé) (ng/mL) (Amzil *et al.*, 2009) et dans les moules ($\mu\text{g}/\text{Kg}$ de chair) de deux sites du Bassin d’Arcachon en 2008 - Résultats des bio-essais.

A certaines dates, les toxines présentes en quantité importante dans le phytoplancton sont aussi trouvées dans les mollusques : il s’agit des dinophysistoxines de mai et juin (PIR 1 et 2), et des yessotoxines de juin (PIR 2). Mais ce n’est pas le cas pour les dinophysistoxines de juillet et août (PIR 3 et 4) et les pecténotoxines en général.

En ce qui concerne les dinophysistoxines, ceci peut être lié à leur présence fugace dans la colonne d’eau ne permettant pas une accumulation dans les coquillages. Pour les pecténotoxines, il semblerait que leur vitesse de métabolisation soit très rapide (Wilkins *et al.*, 2006). Ainsi, seules les teneurs très élevées du 8 août 2008 (PIR 4) conduisent à une détection dans les moules d’Arguin le 11. En revanche, il semble que les yessotoxines présentes dans le phytoplancton soient particulièrement bien accumulées par les mollusques (Tableau 7).

Protoceratium reticulatum, présent en grande quantité dans les concentrats du 5 juin 2008, est sans doute à l’origine des yessotoxines mises en évidence dans les échantillons (Amzil *et al.*, 2009).

Le genre *Dinophysis*, en particulier l’espèce *D. caudata*, peut aussi être mis en relation avec la présence des dinophysistoxines et des pecténotoxines de juillet et août. Ce n’est cependant pas le cas pour les prélèvements de juin 2008 où le genre *Dinophysis*, producteur de ces toxines, n’est pas répertorié.

Une comparaison de la liste des taxons recensés dans les concentrats avec celle obtenue à partir des prélèvements du REPHY a été tentée, sachant que cette comparaison est délicate du fait de stations, profondeurs, dates et mode d'échantillonnage différents⁴¹.

Cependant, les deux listes de diatomées s'avèrent très similaires, comprenant aussi bien des taxons pélagiques que benthiques, même si ces derniers peuvent sembler un peu plus fréquents dans les concentrats. Les deux listes des dinoflagellés présentent aussi de nombreuses espèces communes. Certaines espèces ne sont recensées que dans les concentrats, comme *Protoceratium reticulatum*, sans doute car trop peu représentées dans les échantillons d'eau brute.

Ces résultats seront repris dans la discussion ci-dessous (cf. 1.3).

En ce qui concerne les toxicités atypiques, deux éléments apportés par Amzil *et al.* (2009) peuvent être soulignés :

- les fractions phytoplanctoniques > 20 µm prélevées au niveau des huîtres en période de toxicité atypique n'ont présenté aucune toxicité pour les souris ;
- les espèces phytoplanctoniques inventoriées dans ces fractions ne contiennent aucune espèce nouvellement identifiée dans le Bassin d'Arcachon susceptible d'être à l'origine des toxicités inconnues.

1.2.6. Liens entre phytoplancton et toxicité inconnue

1.2.6.1. Diatomées et dinoflagellés totaux

Diatomées

Les diatomées (dont se nourrissent les mollusques filtreurs) étant particulièrement riches en acide gras libres (AGL) et ces derniers pouvant être toxiques chez la souris par voie intra péritonéale, l'évolution des effectifs de diatomées à la Bouée 7 depuis 2003 est présentée figure 11.

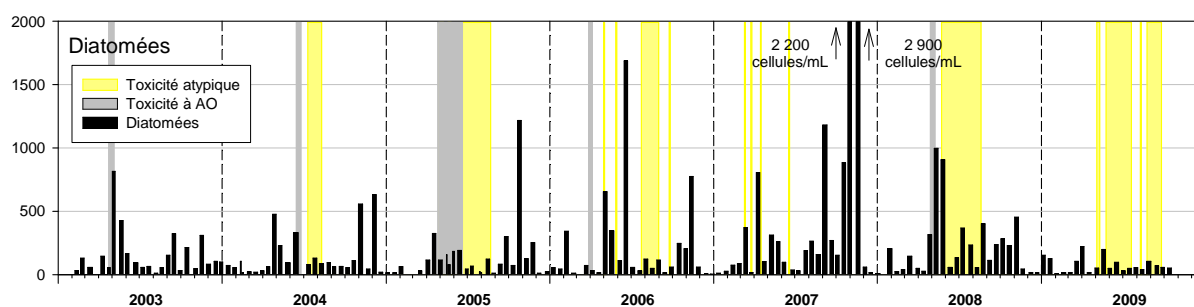


Figure 11. Evolution des effectifs des diatomées (cellules/mL) à la station Bouée 7 depuis 2003.

* Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

Les pics de diatomées ne peuvent pas être mis en relation avec les différentes périodes de toxicité. A l'inverse, des effectifs de diatomées faibles (2004, 2005, 2006) à très faibles (2009) accompagnent souvent les toxicités atypiques (Figure 11).

⁴¹ Echantillons du REPHY : eau brute recueillie Bouée 7, à 1 m de profondeur, aux dates des 27 mai, 12 juin, 28 juillet et 11 août 2008.

Ces observations vont dans le sens d'une non implication des acides gras libres dans la positivité des bio-essais. (AFSSA, 2009). De même, les résultats des dosages d'acides gras réalisés par l'ITERG (2007, 2008) dans le cadre de la tâche T3e⁴², superposés aux périodes de toxicité atypique des huîtres dans les deux sites, ne permettent pas non plus de conclure à un lien entre ces deux paramètres (Figure 10). Par ailleurs, aucune corrélation n'est mise en évidence entre les teneurs en acides gras des huîtres d'Arguin et les effectifs de diatomées de la Bouée 7 (Figures 12 et 13).

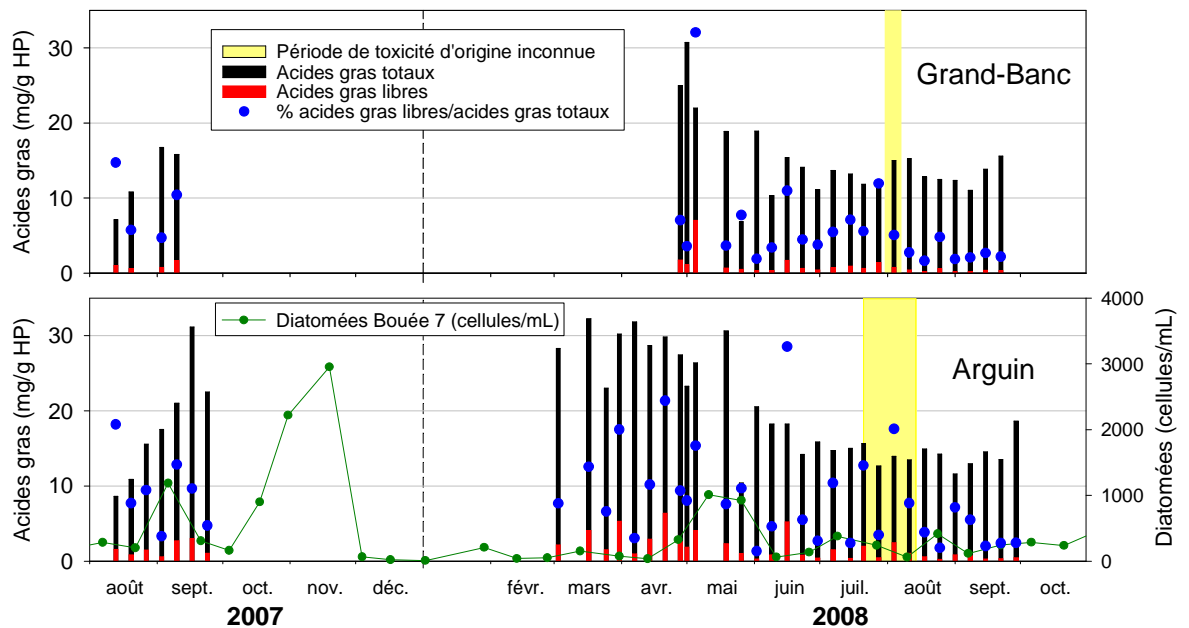


Figure 12. Evolution des teneurs en acides gras (mg/g HP) dans les hépatopancréas d'huîtres (Arguin et Grand-Banc) et des effectifs de diatomées à la station Bouée 7 (cellules/mL).

* Les périodes de toxicité représentées concernent les huîtres de chacun des deux sites.

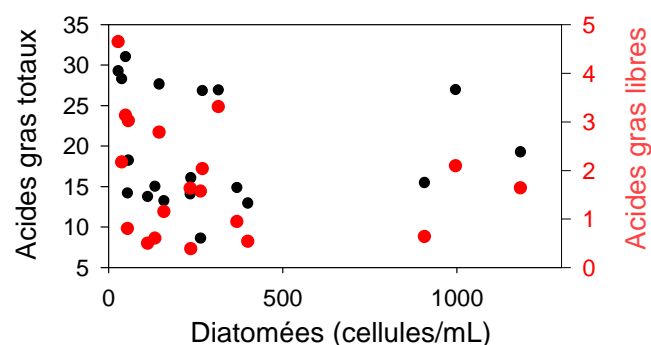


Figure 13. Nuage de points formé par les teneurs en acides gras (mg/g HP) dans les hépatopancréas d'huîtres (Arguin) et les effectifs de diatomées à la station Bouée 7 (cellules/mL).

⁴² Les premières conclusions de l'AFSSA vont aussi dans ce sens, les teneurs en AGL mesurées (de 0,2 à 7,0 mg/g) étant très inférieures au seuil indiqué par la littérature comme toxique pour les souris (10 mg/g) (AFSSA, 2009).

Aucun lien n'apparaît donc entre richesse en diatomées, acides gras dans les mollusques et toxicité atypiques. A l'inverse, la pauvreté en diatomées accompagne le plus souvent les épisodes de toxicité atypique (Figure 11). La contamination des coquillages par l'agent toxique serait d'autant plus forte que les algues fourrages dont ils se nourrissent sont peu abondantes (Lassus et Marcaillou-Le Baut, 2001).

Par ailleurs, l'examen de l'évolution temporelle des abondances de diatomées dans le Bassin fait apparaître la présence récente (depuis 2003) de quantités importantes de diatomées du genre *Lithodesmium*⁴³ dans les flores. Ceci nous a conduit à nous interroger sur une interférence éventuelle de ce taxon avec les résultats des bio-essais.

La superposition des effectifs de *Lithodesmium* à la Bouée 7 et des périodes de toxicité atypique à Arguin (Figure 14), ne permet pas de conclure quant au lien de causalité entre la présence de cette espèce et les périodes de toxicité atypique : on observe parfois une coïncidence mais pas de façon systématique. Par ailleurs, il faut signaler que ce taxon se développe principalement dans les eaux internes de la Baie (Bec, 2008b), présentant des concentrations beaucoup plus élevées à la station Teychan (avec des maximums de 100 000 à 200 000 cellules/L en 2008 et 2009) qu'à la station Bouée 7 (maximums de 8 000 à 14 000 cellules/L en 2003, 2005 et 2007). Cette dernière observation ne va pas dans le sens de l'origine océanique de la toxicité.

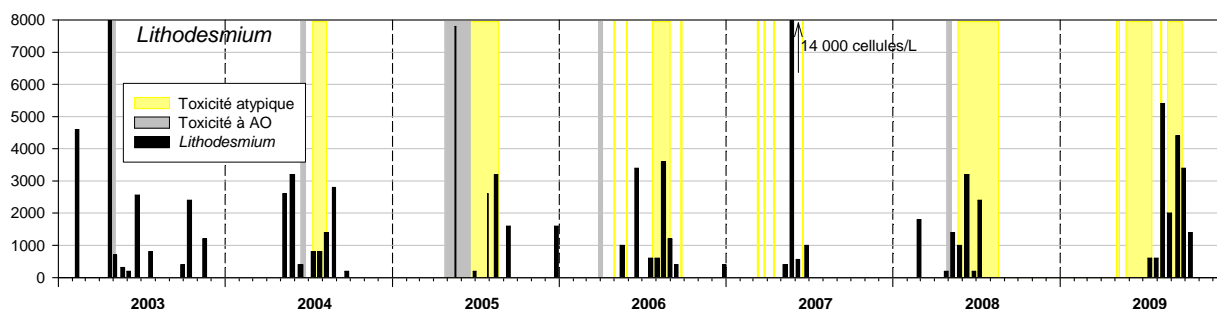


Figure 14. Evolution des effectifs du genre *Lithodesmium* à la station Bouée 7 depuis 2003 (cellules/ L).

* Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

Dinoflagellés totaux

Les algues toxiques ayant un impact sur les coquillages d'autant plus fort que leurs effectifs sont élevés mais aussi que leur proportion dans la population phytoplanctonique totale est importante (Lassus et Marcaillou-Le Baut, 2001), la figure 14 présente à la fois l'évolution des effectifs totaux de dinoflagellés et celle du rapport dinoflagellés/diatomées.

Les périodes de **toxicité atypique** correspondent toujours à une présence significative de dinoflagellés (supérieure à 10 000 cellules/L) (en 2003, 2004, 2005 et 2006, 2008).

⁴³ Ce genre avait été signalé auparavant mais jamais en quantité significative. Les raisons de cette modification apparente de l'écosystème mériteraient d'être approfondies, et peut être rapprochées de la régression de l'herbier de zostères observée ces dernières années, en particulier dans le secteur Sud-Est de la Baie (Dalloyau *et al.*, 2009).

Les périodes de **toxicité atypique** sont, quant à elles, occasionnellement accompagnées de concentrations assez élevées en dinoflagellés (30 000 cellules/L en 2009), et parfois présentent une proportion assez importante de cette classe d'algues par rapport aux diatomées, comparativement au reste de l'année (2005, 2007, 2009) (Figure 15). Cependant, ce n'est pas le cas en 2004, 2006 et 2008.

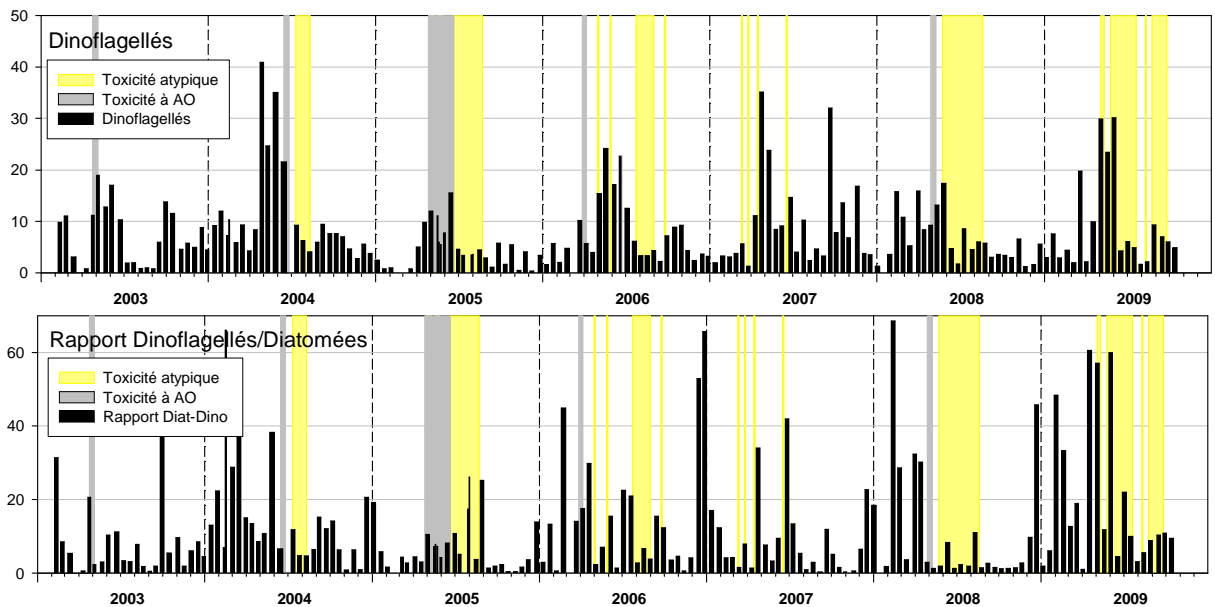


Figure 15. Evolution des effectifs des dinoflagellés (cellules/mL) et de la proportion dinoflagellés/diatomées (%) à la station Bouée 7 depuis 2003.

* Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

1.2.6.2. *Prorocentrum minimum*

L'espèce *Prorocentrum minimum* a fait l'objet d'une abondante littérature, récemment synthétisée par Heil *et al.* (2005). Ces auteurs indiquent que *P. minimum* est considéré comme sans danger pour la santé humaine mais que, dans certains sites, elle doit être considérée comme potentiellement toxique pour les souris, en particulier lorsqu'une toxicité non identifiée est associée à des blooms de cette espèce. C'est pourquoi nous nous sommes intéressées à ce taxon (LER Arcachon, 2006) et avons représenté l'évolution de ses effectifs dans le Bassin (Figure 16).

P. minimum est régulièrement recensé dans les eaux du Bassin d'Arcachon à des concentrations comprises entre quelques centaines et quelques milliers de cellules/L. Les maximums observés ne dépassent pas 10 000 cellules/L, abondance relativement faible pour cette espèce de petite taille⁴⁴ dont des développements de plusieurs millions de cellules/L sont couramment rapportés dans d'autres sites (Witek et Plinsky, 2000 ; Heil *et al.*, 2005).

En 2006, deux périodes de toxicité atypique sont concomitantes de son développement mais cette espèce n'est pas associée aux épisodes des années suivantes. De plus, un des seuls cas de toxicité cité dans la littérature comme étant relié à *P. minimum* se rapporte à un bloom très important (56 millions cellules/L) associé à des composés neurotoxiques

⁴⁴ 10 à 20 µm de longueur.

(Grzebyk *et al.*, 1997 ; Denardou-Queneherve *et al.*, 1999), ce qui ne correspond pas à la situation du Bassin d'Arcachon.

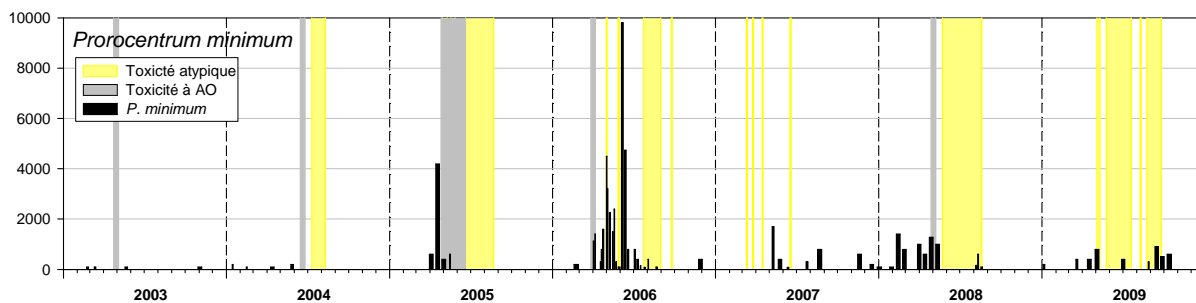


Figure 16. Evolution des effectifs de *Prorocentrum minimum* (cellules/L) à la station Bouée 7 depuis 2003. * Les périodes de toxicité présentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

1.2.6.3. Autres dinoflagellés de petite taille

Les petites formes de dinoflagellés, en particulier des genres *Gymnodinium* et *Gyrodinium*, sont répertoriées à Arcachon dans la famille des Gymnodiniacées⁴⁵. Certains autres genres appartenant à des familles proches, comme le genre ichthyotoxique⁴⁶ *Karlodinium* (Karlodiniaceae) (Kempton *et al.*, 2002 ; Stoecker *et al.*, 2008) ne peuvent être distingués en microscopie optique et sont donc dénombrés avec les Gymnodiniacées. C'est pourquoi nous avons représenté l'évolution des effectifs globaux de cette famille figure 17.

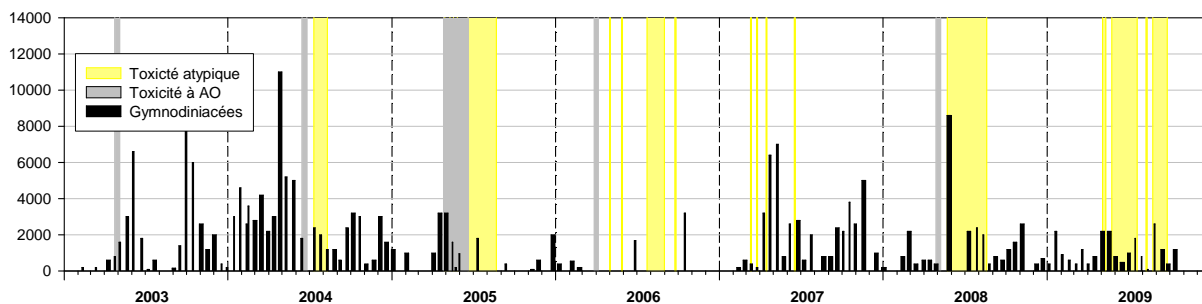


Figure 17. Evolution des effectifs des Gymnodiniaceae (cellules/L) à la station Bouée 7 depuis 2003. * Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

La juxtaposition des effectifs des Gymnodiniaceae et des périodes de toxicité ne permet pas de conclure quant à l'implication globale des petites formes de dinoflagellés dans les phénomènes étudiés (Figure 17). Il est certain que le niveau de détermination n'est pas suffisant pour permettre la mise en évidence d'un tel lien. Cependant les effectifs rencontrés dans le Bassin ne dépassent pas 15 000 cellules/L, valeur qui semble peu élevée pour induire une toxicité chez les mollusques. Si l'on se réfère à *Karlodinium veneficum*, le seuil provoquant des mortalités de poissons est de 5 à $10 \cdot 10^6$ cellules/L

⁴⁵ Appartenant à l'ordre de Gymnodiniales, c'est-à-dire des dinoflagellés nus.

⁴⁶ Produisant des toxines susceptibles de provoquer des mortalités de poissons ou de coquillages.

(Zhang *et al.*, 2008). Cette espèce est couramment présente dans les écosystèmes côtiers des Etats-Unis à des densités de 10^5 à 10^6 cellules/L et peut, sous certaines conditions, former des blooms de 10^7 à 10^8 cellules/L (Adolf *et al.*, 2008).

1.2.6.4. Genres hétérotrophes ou mixotrophes

Dans la recherche d'espèces susceptibles d'être à l'origine des toxicités atypiques, la piste de taxons hétérotrophes ou mixotrophes, non producteurs eux-mêmes de toxines mais pouvant consommer d'autres dinoflagellés qui pourraient l'être, a aussi été suivie.

Parmi les taxons recensés à Arcachon, le genre mixotrophe phagotrophe⁴⁷ *Fragilidium* (Jeong *et al.*, 1999 ; Skovgaard *et al.*, 2000 ; Nezan et Chomérat, 2009) a été ainsi suspecté en 2006, sa présence survenant en mai et en août lors de toxicités atypiques (Figure 18). De nouveau, en juin 2008, il apparaît en deux occasions. Cependant, les faibles effectifs rencontrés, la difficulté d'identification en microscopie optique⁴⁸ et la non concordance systématique avec les périodes de toxicité atypique au cours des différentes années (Figure 18), ne permettent pas de se prononcer sur son implication dans le phénomène étudié.

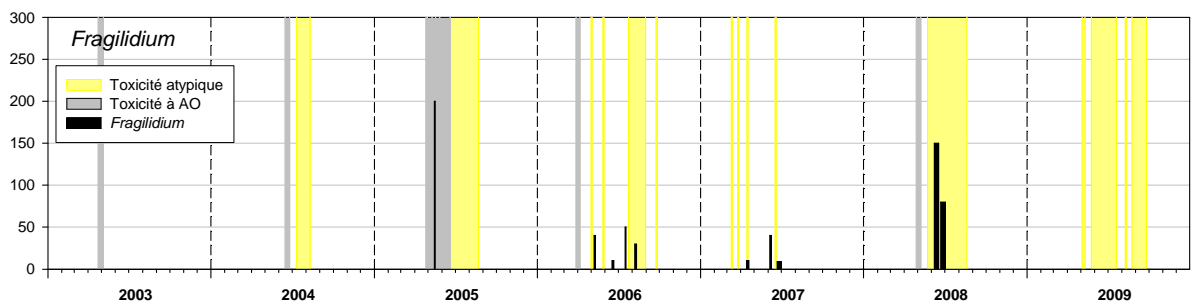


Figure 18. Evolution des effectifs de *Fragilidium* (cellules/L) à la station Bouée 7 depuis 2003.

* Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

On ne peut pas non plus mettre en évidence un lien entre la présence du genre mixotrophe *Gyrodinium* (Figure 19) et les toxicités d'origine inconnue. Cependant, les proies ingérées par *Gyrodinium* pouvant aussi bien être des diatomées que des silicoflagellés ou des dinoflagellés (et pas nécessairement toxiques) (Hansen, 1992), il semble impossible de mettre en évidence un tel lien uniquement à partir des abondances de ce genre.

⁴⁷ Qui ingère ses proies entières ou en parties.

⁴⁸ Impliquant un travail complémentaire de dissection des plaques pour le différencier en particulier d'*Alexandrium ostenfeldii*.

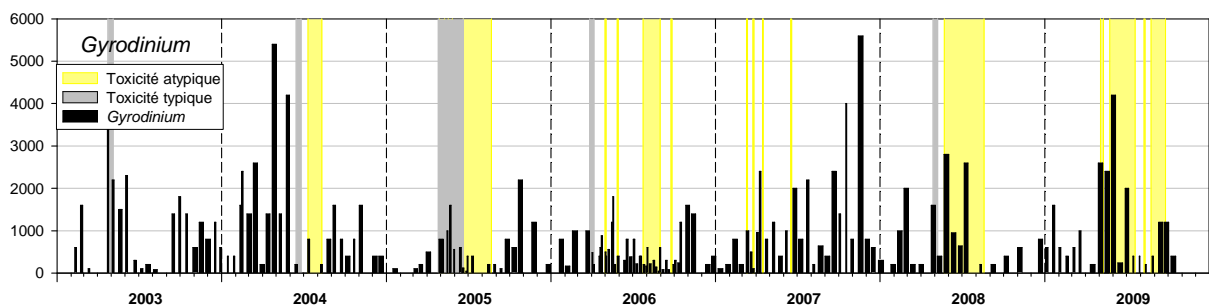


Figure 19. Evolution des effectifs de *Gyrodinium* (cellules/L) à la station Bouée 7 depuis 2003.

* Les périodes de toxicité représentées concernent les moules et les huîtres d'Arguin.

On ne peut pas non plus relier la présence du genre hétérotrophe *Protoperidinium* (Gribble, 2006 ; Gribble et Anderson, 2006) et les toxicités d'origine inconnue.

1.2.6.5. Conclusion

Les liens entre les espèces phytoplanctoniques observées dans le cadre du REPHY et les toxicités sont globalement cohérents pour l'acide okadaïque et les pecténotoxines mais ne sont pas clairement établis pour les autres toxines (spiroïdes et yessotoxines).

Par ailleurs, on ne peut mettre en évidence de relation entre les périodes de toxicité d'origine inconnue et les unités taxinomiques phytoplanctoniques observées dans le cadre du REPHY, quelques jours avant, au début ou pendant les épisodes.

1.3. Discussion

1.3.1. Rappel de la stratégie d'échantillonnage du phytoplancton mise en œuvre dans le cadre du REPHY du Bassin d'Arcachon

La station Bouée 7 sur laquelle a porté notre analyse, est échantillonnée à une fréquence bi-mensuelle pour l'observation des flores totales et hebdomadaire pendant la période à risque pour les flores indicatrices (Belin, 2009). Un volume de 4 L d'eau est prélevé à une profondeur de 1 m au moyen d'une bouteille NISKIN. Une partie aliquote de 1 L est recueillie dans un flacon contenant 1 mL de Lugol.

Au laboratoire, une cuve à sédimentation est remplie puis laissée reposer le temps nécessaire avant de procéder à l'identification et au dénombrement des cellules algales au microscope inversé (Grossel, 2006). Pour les flores totales, des cuves de 10 mL sont le plus couramment utilisées. Pour la flore toxique, et en particulier *Dinophysis*, des cuves de volume plus grand (de 20 à 100 mL) sont employées au laboratoire d'Arcachon. Selon la cuve utilisée, le dénombrement d'une seule cellule conduit à un résultat final de 100 cellules/L avec une cuve de 10 mL, de 40 cellules/L avec une cuve de 25 mL et 10 cellules/L avec une cuve de 100 mL, pour une même précision (qui dépend du nombre de cellules comptées, Grossel, 2006).

Sont recensées et dénombrées toutes les espèces microalgales pouvant être identifiées, c'est à dire globalement toutes les espèces dont la taille est supérieure à 20 µm

(microplancton), et celles dont la taille est inférieure mais qui sont en chaîne. Les algues plus petites (nanoplancton) sont dénombrées habituellement quand elles concernent des espèces potentiellement toxiques (ex : *Chrysochromulina*) (Grossel, 2006). Cependant, au laboratoire d’Arcachon, une attention particulière est portée aux organismes de petite taille lors des analyses de flores totales. Ainsi, le comptage des Cryptophycées, algues nanoplanctoniques, est systématiquement réalisé avec un objectif de grossissement x40, sur un diamètre de la cuve. Les petits dinoflagellés sont aussi dénombrés à cette occasion.

La liste de référence des espèces potentiellement identifiables se trouve dans le référentiel taxinomique de la base de données Quadrige. L’identification est faite au plus précis (espèce ou genre) si possible, sinon à un niveau taxinomique supérieur (genre, famille, voire ordre ou classe).

1.3.2. Cette stratégie est-elle adaptée pour expliquer les relations phytoplancton-toxicités dans le Bassin d'Arcachon ?

Trois aspects sont à considérer : **1.** la représentativité (de la colonne d’eau) du prélèvement fait à 1 m de profondeur, **2.** le recensement des taxons peu abondants et rares, **3.** le niveau d’identification des espèces.

1. Le Bassin d’Arcachon est un écosystème de faible profondeur, dans lequel la marée joue un rôle de « piston » poussant et aspirant tour à tour l’eau depuis le large vers le fond de la Baie (Plus *et al.*, 2006). Il en résulte des courants importants qui, associés aux vents, homogénéisent fortement la colonne d’eau qui présente peu à pas de stratification permanente⁴⁹.

Les travaux menés par Guillocheau (1985) et Bec (2008a) ont montré l’homogénéité des paramètres hydrologiques de la colonne d’eau ainsi que la similitude des populations microalgales à différents niveaux de profondeur allant de la sub-surface au fond. Il apparaît donc que, pour le Bassin d’Arcachon, le prélèvement unique à -1 m est représentatif de la colonne d’eau⁵⁰ ; les espèces benthiques ou épiphytiques abondantes (diatomées) sont d’ailleurs, à un moment ou à un autre, observées dans les échantillons. La comparaison des listes d’espèces observées lors des prélèvements du PIR avec celles du REPHY va aussi dans ce sens (cf. 1.2.5.5.).

2. La stratégie d’échantillonnage développée par le REPHY n’est pas faite pour recenser et identifier les taxons peu abondants ou rares. Nous avons vu ci-dessus que le réseau de surveillance permet de bien mettre en évidence les liens entre *Dinophysis* et les dinophysistoxines et pecténotoxines. Les effectifs correspondant sont de quelques centaines de cellules/L, valeurs qui s’avèrent significatives pour les dénombrements à Arcachon.

En revanche, pour les autres toxines, les liens ne sont pas mis en évidence ou alors presque fortuitement. Ainsi, dans le cas des épisodes à yessotoxines, les espèces supposées productrices ne sont pas observées dans l’eau (*Protoceratium reticulatum* ne l’a été que dans des concentrats de phytoplancton du PIR) ; pour les spirolides, ce n’est que pour de fortes concentrations dans les mollusques qu’*A. ostenfeldii* est signalé à de

⁴⁹ Il peut y avoir une stratification temporaire en surface, lors des périodes de crues de la Leyre.

⁵⁰ En revanche, à l’extérieur du Bassin, une forte stratification des eaux, surtout en été, est observée (Bec, 2008a).

très faibles densités de 10 à 50 cellules/L⁵¹, valeurs à la limite de détection de la méthode.

En conclusion, lorsque des espèces peu abondantes et rares sont à l'origine de toxicités, il faudrait mettre en œuvre d'autres stratégies pour les appréhender (pêches au filet, sondes moléculaires etc.). Si l'agent à l'origine des toxicités inconnues présentait ces caractéristiques, il ne pourrait vraisemblablement pas être identifié dans le cadre du REPHY.

3. L'identification des taxons dans le cadre du REPHY ne permet pas toujours de descendre au niveau de l'espèce, ni même du genre pour les petits organismes. Pour certains ordres, comme celui des Gymnodiniales, dans lequel de nombreuses espèces, dont des espèces toxiques⁵², sont régulièrement découvertes, cela pourrait s'avérer nécessaire. Cependant, rappelons qu'à Arcachon, le dénombrement effectué au niveau de la famille des Gymnodiniacées n'a jamais conduit à des effectifs suffisamment importants pour étayer l'hypothèse de leur implication éventuelle dans les toxicités d'origine inconnue.

1.3.3. Les toxicités d'origine inconnue pourraient-elles être dues à des espèces benthiques et/ou épiphytiques ?

Les dinoflagellés benthiques toxiques connus actuellement appartiennent principalement à l'ordre des Prorocentrales (comme *Prorocentrum lima*) et synthétisent, entre autres, des dinophysistoxines (Tableau 4), analysées dans le cadre du REPHY. Si ces dinoflagellés benthiques étaient responsables de la contamination des mollusques conduisant à des biotests positifs, on devrait donc retrouver ces toxines dans les hépatopancréas. Or, tel n'est pas le cas puisqu'il s'agit de toxicités atypiques.

Par ailleurs, si des espèces benthiques et/ou épiphytiques étaient impliquées dans ce phénomène, elles devraient se trouver, à un moment ou à un autre, en quantité suffisante dans la colonne d'eau pour contaminer les mollusques. En effet, Levasseur *et al.* (2001) observent que la contamination de moules n'est pas due à *P. lima*, très abondant sur les épibiontes de ces mollusques mais à *P. mexicanum*, observé sous certaines conditions environnementales, en fortes concentrations dans la colonne d'eau. Foden *et al.* (2005) observent la présence de *P. lima* sur les macrophytes de la lagune Fleet du Sud de l'Angleterre, dans lesquels de l'acide okadaïque et de la dTX-1 sont détectés, mais sans que les huîtres soient contaminées.

La piste de cyanobactéries benthiques a aussi été évoquée, leur toxicité en eau douce étant bien connue. En milieu marin, des cas auraient été rapportés dans le Pacifique. A Arcachon, cette piste ne semble pas cependant la plus plausible, quelques rares filaments du genre *Oscillatoria* n'ayant été trouvés qu'occasionnellement sur des coquilles de mollusques (Aquatox, 2009). Signalons par ailleurs que des développements récents importants du genre *Planktothrix* dans le lac marin d'Hossegor (depuis 2008) n'ont conduit à aucune toxicité des huîtres élevées dans cette lagune.

⁵¹ Ce qui implique que le comptage a été effectué sur des cuves de 50 ou 100 mL, ce qui n'est pas fait en routine.

⁵² Comme du genre ichthyotoxique *Karlodinium* (Kempton *et al.*, 2002).

Ainsi, la piste d'une origine microalgale benthique ou épiphytique de la toxicité inconnue dans le Bassin d'Arcachon ne semble pas la plus pertinente. Cependant, il serait intéressant de prélever et d'analyser régulièrement les flores benthiques et/ou épiphytiques pour étayer, ou non, cette présomption. Précisons que des nouveaux dinoflagellés benthiques sont régulièrement découverts (Chomérat *et al.*, 2009 ; Hoppenrath *et al.*, 2009⁵³ ; Chomérat *et al.*, 2010b), dont certains toxiques (Rhodes *et al.*, 2010)⁵⁴ ou suspectés de l'être comme *Prorocentrum consutum* (Chomérat *et al.*, 2010a).

En conclusion, l'homogénéité verticale des populations phytoplanctoniques dans le Bassin d'Arcachon, due à l'absence de stratification marquée, permet de penser que le prélèvement unique à 1 m de profondeur est représentatif de la colonne d'eau. Une espèce microalgale de taille supérieure à 20 µm, toxique ou risquant de l'être, aurait été observée dans le cadre du REPHY si elle avait été présente en quantité significative (une centaine de cellules/L).

Ce pourrait ne pas être le cas ponctuellement pour des espèces très peu abondantes et rares. Mais il faudrait pour cela qu'elles soient si peu représentées qu'elles n'apparaissent à aucun moment au cours de prélèvements réalisés sur plus de 20 ans, ce qui semble assez improbable.

Il en est de même pour les espèces benthiques ou épiphytiques qui, pour être accumulées par les coquillages, doivent se trouver dans la colonne d'eau à un moment ou à un autre. Les espèces de plus petite taille (< 20 µm), sous réserve que les cellules n'aient pas éclaté au Lugol, ne semblent pas non plus avoir pu échapper à l'observation, surtout si elles avaient été très abondantes. Cependant, ces deux derniers points nécessiteraient des investigations complémentaires pour être validés ou non.

1.4. Conclusion de la première partie

La série historique qui vient d'être étudiée comporte peu de données conjointes de tests, espèces microalgales et toxines pour réaliser une véritable analyse statistique d'autant plus que les bioessais et analyses chimiques ne sont pas réalisés systématiquement tout au long de l'année. En revanche, tel n'est pas le cas pour les données de phytoplancton qui constituent une longue série de données recueillies à pas de temps régulier, aussi bien dans les périodes de toxicité qu'en dehors de ces périodes.

C'est pourquoi, en l'absence de taxons microalgaux susceptibles d'être à l'origine des toxicités inexplicables, une deuxième approche a été développée.

Il s'agit d'analyser la structure des communautés phytoplanctoniques afin de déterminer si ses caractéristiques et son évolution peuvent être mises en relation avec les phénomènes de toxicité étudiés.

⁵³ Il s'agit d'*Amphidiniopsis aculeata*, nouvelle espèce hétérotrophe découverte par Hoppenrath *et al.* (2009) dans des prélèvements de sédiment sableux de 1994 du Bassin d'Arcachon (Cap Ferret).

⁵⁴ Il s'agit d'un dinoflagellé péridinoïde, producteur de pinnatoxines, isolé récemment en Nouvelle-Zélande.

2. Structure des populations phytoplanctoniques du Bassin d'Arcachon

Les analyses ont visé à rechercher les spécificités des populations phytoplanctoniques (toutes espèces confondues, toxiques, suspectes ou non toxiques) des années 2005 à 2008 au regard, d'une part, des années antérieures et, d'autre part, des résultats des bioessais sur les coquillages. La majorité du travail s'est concentrée sur la période récente (2003 à 2008) pour laquelle nous disposons de davantage de données.

2.1. Données phytoplanctoniques disponibles

Dans le cadre du REPHY, les données d'abondances phytoplanctoniques sont collectées dans le Bassin d'Arcachon aux stations Teychan et Bouée 7, respectivement depuis 1987 et 1995. L'analyse des données phytoplanctoniques a été effectuée sur les données de flores totales qui dénombrent de manière systématique toutes les espèces phytoplanctoniques reconnaissables dans les conditions d'observation (globalement les espèces dont la taille est supérieure à 20 μm). La fréquence de prélèvement est usuellement bimensuelle.

Pour chaque station, les bases de données initiales de flores totales sont composées de:

- **Station Teychan** (Tey): 544 dates de prélèvements (de 1987 à 2008) et 195 taxons phytoplanctoniques dénombrés
- **Station Bouée 7** (B7): 145 dates de prélèvements (de 2003 à 2008) et 175 taxons phytoplanctoniques dénombrés.

Dans un premier temps, ces deux bases de données ont été restructurées afin de constituer une base unique, composée de données homogènes regroupant l'ensemble des unités taxinomiques dénombrées (225 taxons).

Dans un second temps, des regroupements d'unités taxinomiques ont été effectués en fonction : **1.** de l'évolution des codages taxinomiques de la liste de référence des espèces identifiées par le REPHY (e.g. changement de codage pour une même espèce, intégration de nouveaux codes), **2.** du perfectionnement de l'identification spécifique faite par les observateurs (au nombre de 3 à Arcachon depuis 1987), et **3.** du nombre d'occurrence des espèces phytoplanctoniques. L'identification est faite généralement au plus précis (espèce ou genre), et sinon à un niveau taxinomique supérieur (genre, famille voire ordre ou classe). Les regroupements d'unités taxinomiques sont basés sur les documents de qualification des données REPHY (Gailhard et Belin, 2000 ; Belin, 2001).

Par exemple, 14 espèces du genre *Chaetoceros* ont été dénombrées entre 1987 et 2008 dans le Bassin d'Arcachon. La majorité des espèces ont été identifiées récemment (depuis 2003) alors que le genre *Chaetoceros* est dénombré depuis 1987. Dans la base de données constituée, les 14 espèces dénombrées sont regroupées sous l'unité taxinomique du genre *Chaetoceros* (code CHAE). D'autre part, certains taxons présentant de faibles occurrences et de faibles abondances ont été regroupés sous une unité taxinomique d'un niveau supérieur. Par exemple, *Gymnodinium chlorophorum* et

Gymnodinium breve observés deux et quatre fois entre 1987 et 2008 ont été regroupés sous l'unité taxinomique Famille Gymnodiniaceae (code FMGYMNO).

Ainsi les regroupements d'unités taxinomiques ont permis de réduire le nombre de taxons phytoplanctoniques dénombrés de 223 à 95 unités taxinomiques dont 51 diatomées, 36 dinoflagellés et 8 taxons d'autres classes (en particulier des flagellés Cryptophycées, Euglenophycées et Chrysophycées) (Annexe 1).

2.2. Traitements statistiques des données

Le traitement des données phytoplanctoniques a reposé sur des analyses multivariées visant à **1. étudier** les variations spatiales (entre stations) et temporelles (à long terme) des assemblages phytoplanctoniques du Bassin d'Arcachon, **2. déterminer** les saisons à partir de la structure des populations phytoplanctoniques de 2003 à 2008 et, pour chaque année, **3. caractériser et comparer** les assemblages phytoplanctoniques observés lors des phénomènes de toxicité (typique ou atypique) avec ceux observés en dehors de ces situations.

Ces analyses multivariées ont pour principal objectif d'effectuer des regroupements en fonction de la composition phytoplanctonique. Elles ont été appliquées aux matrices d'abondances des espèces phytoplanctoniques soumises à une transformation « racine carrée » afin d'atténuer l'importance des espèces phytoplanctoniques les plus abondantes (en général les diatomées). Les matrices d'abondances des espèces ont également été soumises à une transformation « Présence – Absence » afin de réduire les données quantitatives aux valeurs 1 (présence du taxon) et 0 (absence du taxon). Des matrices de similarité basées sur la distance de Bray-Curtis (Clark et Warwick 1994) (Annexe 2) ont été calculées à partir de ces deux types de matrices d'espèces phytoplanctoniques.

A partir des matrices de similarité, deux méthodes d'analyses multivariées ont été utilisées : une méthode de classification hiérarchique (cluster analysis, analyse de groupement) et une méthode d'ordination (MDS, Multidimensional Scaling, analyse de proximité).

La classification hiérarchique est destinée à produire des classes par agrégations successives des objets (en l'occurrence le plus souvent des dates d'échantillonnage), sur un critère de ressemblance de leurs populations phytoplanctoniques (indice de similarité de Bray-Curtis) et la distance moyenne entre tous les échantillons. La méthode de groupement utilisée est celle du lien complet. Les résultats sont présentés sous la forme d'un dendrogramme (ou arbre de classification). Le nombre de classes définies par l'analyse est fonction du niveau de similarité fixé par l'opérateur.

Le principe de la méthode MDS consiste à représenter au mieux dans un espace à un nombre de dimension réduit (en général 2), la dissimilarité des compositions phytoplanctoniques des différents échantillons. En pratique ceci revient à maximaliser la corrélation liant : (1) les dissimilarités par couple de dates calculées à partir de leur composition phytoplanctonique, et (2) les distances par couple de dates dans l'espace

réduit du MDS. En pratique, on utilise un critère appelé stress qui varie entre 0 et 1 et que l'analyse cherche à minimaliser :

- Stress < 0,05, la représentation entre les échantillons est excellente
- Stress < 0,1, la représentation entre les échantillons est bonne
- Stress < 0,2, la représentation entre les échantillons est correcte
- Stress > 0,2, la représentation est difficilement exploitable
- Stress > 0,5, la représentation est probablement aléatoire

Les limites des classes définies par l'analyse hiérarchique peuvent être reproduites sur les représentations MDS, en indiquant le niveau de similarité correspondant.

Ces analyses multivariées ont été suivies par une analyse de similarité (ANOSIM, analysis of similarities) qui permet de tester statistiquement la similarité (ou la dissimilarité) de la composition des communautés phytoplanctoniques entre des groupes de dates d'échantillonnage définis *a priori* (année, saison, mois) ou entre les deux stations Bouée 7 et Teychan. Les contributions de chaque unité taxinomique aux similarités intragroupes et aux dissimilarités intergroupes ont été estimées à l'aide d'une analyse SIMPER (Similarity Percentages - species contributions). L'ensemble des analyses a été réalisé à l'aide du logiciel PRIMER® 6.1.7.

Les échantillons phytoplanctoniques ont été labellisés dans les représentations graphiques des traitements statistiques selon différents critères : date, mois, saison ou année de prélèvement ; station (Teychan ou Bouée 7) ; résultats des bioessais sur souris, réalisés le même jour ou dans un délai ne dépassant pas 3 jours après le prélèvement phytoplanctonique (symptômes observés sur les souris avec les quatre niveaux de classement précisés en 1.2.4, caractère typique ou atypique de la toxicité).

2.3. Evolution à long terme des populations phytoplanctoniques

L'évolution à long terme de la structure des populations phytoplanctoniques du Bassin d'Arcachon a été étudiée afin de mettre en évidence d'éventuelles modifications, en termes de composition et d'abondances, depuis les premières observations effectuées en 1987. L'analyse a été réalisée à partir de la base de données des abondances d'espèces dénombrées à Teychan de 1987 à 2008.

Une méthode d'ordination de 2^{ème} ordre (MDS de 2^{ème} ordre) a été utilisée afin de pouvoir représenter en 2D la proximité entre les différentes années (chaque point de la représentation se rapportant aux assemblages phytoplanctoniques d'une année). Les fréquences d'acquisition de données ayant varié au cours du temps, il a tout d'abord été nécessaire de constituer un fichier des abondances phytoplanctoniques contenant le même nombre de prélèvements par année, répartis de façon homogène. Pour cela, une valeur a été attribuée à chaque mois de l'année, soit en moyennant les valeurs d'un même mois, soit en interpolant les rares valeurs manquantes. Puis, la matrice de similarité a été calculée pour chacune des 22 années étudiées avant de calculer la matrice de similarité de 2^{ème} ordre (à partir des 22 matrices de similarité de départ) permettant l'analyse et la représentation MDS.

La mesure du stress de 0,23 (Figure 20) traduit une représentation de qualité médiocre de la proximité entre les années (ajustement entre les distances dans le plan). Les résultats de la MDS de 2^{ème} ordre montrent que les années récentes (2000 à 2008) sont incluses dans la gamme de variabilité interannuelle observée lors des années précédentes.

On peut en déduire que la structure des populations phytoplanctoniques présentes dans le Bassin d’Arcachon ne s’est pas radicalement modifiée⁵⁵ au cours des 20 années de suivi, en particulier durant la période récente de 2003 à 2008 où les événements de toxicité atypique sont survenus.

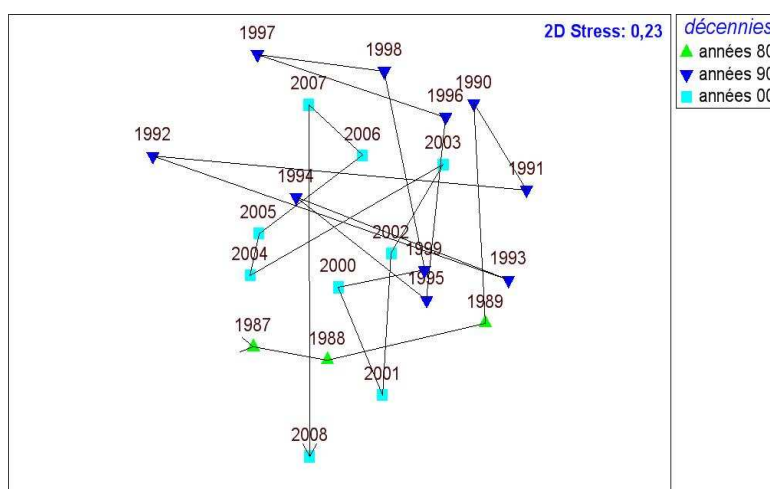


Figure 20. Représentation 2D de l’analyse MDS de 2^{ème} ordre réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Teychan de 1987 à 2008.

2.4. Variations spatiales des populations phytoplanctoniques

Les deux stations de suivi du phytoplancton, Teychan et Bouée 7, sont situées respectivement dans les eaux internes et dans les passes du Bassin d’Arcachon. A certaines périodes de l’année, ces deux masses d’eau se distinguent par leurs paramètres environnementaux (notamment salinité, température, nutriments) qui peuvent influencer sur la biomasse et la structure des populations phytoplanctoniques (Glé, 2007 ; Bec 2008a). Il est donc apparu nécessaire d’étudier l’évolution des structures des populations phytoplanctoniques des deux stations afin de déterminer si elles différaient ou non sur les 6 années communes de suivi (de 2003 à 2008).

Pour cela, une méthode de 2^{ème} ordre a été utilisée. Un fichier homogène des abondances phytoplanctoniques par année et par station a tout d’abord été constitué, contenant le même nombre de prélèvements par année (24) soit 2 par mois. Puis la matrice de similarité a été calculée pour chacune des 6 années par station étudiée (soit 12 matrices), avant de calculer la matrice de similarité de 2^{ème} ordre permettant l’analyse hiérarchique et la représentation MDS (chaque point de la représentation se rapportant aux assemblages phytoplanctoniques d’une année pour une station).

⁵⁵ En tous les cas, ne montre pas une tendance continue ni une cyclicité.

La classification hiérarchique permet de différencier plusieurs clusters regroupant systématiquement les matrices de similarité des deux stations d'une même année (Figure 21). La valeur de stress de 0,15 indique une représentation 2D correcte de l'analyse MDS de 2^{ème} ordre et différencie les populations phytoplanctoniques par année, confirmant les résultats de la classification hiérarchique. Ainsi, les variations interannuelles (sur les six années étudiées) de la structure des populations phytoplanctoniques sont davantage responsables de la différenciation entre les matrices de similarité que les variations spatiales (entre les deux stations).

Les résultats de ces analyses suggèrent que pour une année donnée, les assemblages phytoplanctoniques d'une station (Teychan ou Bouée 7) peuvent être considérés comme représentatifs des assemblages phytoplanctoniques du Bassin d'Arcachon.

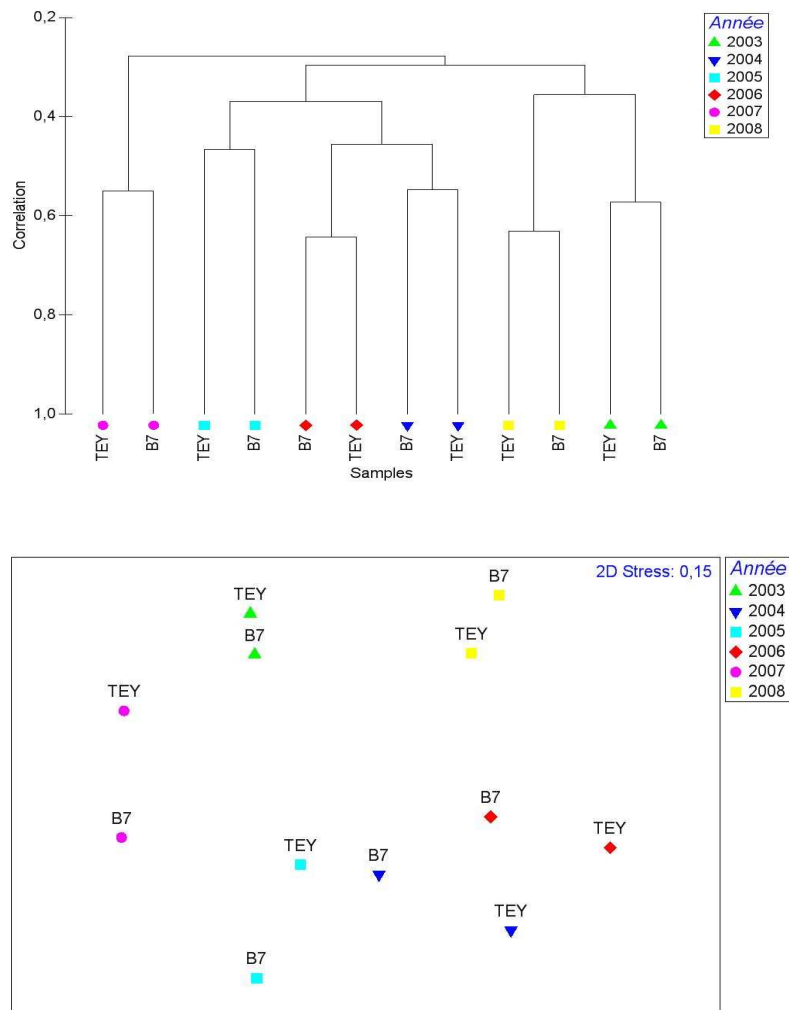


Figure 21. Dendrogramme et représentation 2D de l'analyse MDS de 2^{ème} ordre réalisés à partir des abondances des espèces phytoplanctoniques dénombrées à Teychan (Tey) et Bouée 7 (B7) de 2003 à 2008.

Compte tenu de ces résultats, les analyses multivariées visant à caractériser les périodes saisonnières en fonction de la composition phytoplanctonique ont été réalisées pour la station Bouée 7 uniquement. Le choix de cette station s'est fait au regard des données acquises sur les biotoxines et les bioessais sur souris plus abondantes pour Bouée 7 que pour Teychan.

2.5. Variations saisonnières des populations phytoplanctoniques

2.5.1. Détermination des "saisons phytoplanctoniques" et de leurs limites

Les analyses multivariées ont été effectuées à partir des données d'abondances d'espèces dénombrées à Bouée 7 de 2003 à 2008. En se basant sur un taux de similarité de 30 %, la classification hiérarchique permet alors d'identifier deux principaux clusters (I et II) et quatre échantillons distincts (Figure 22).

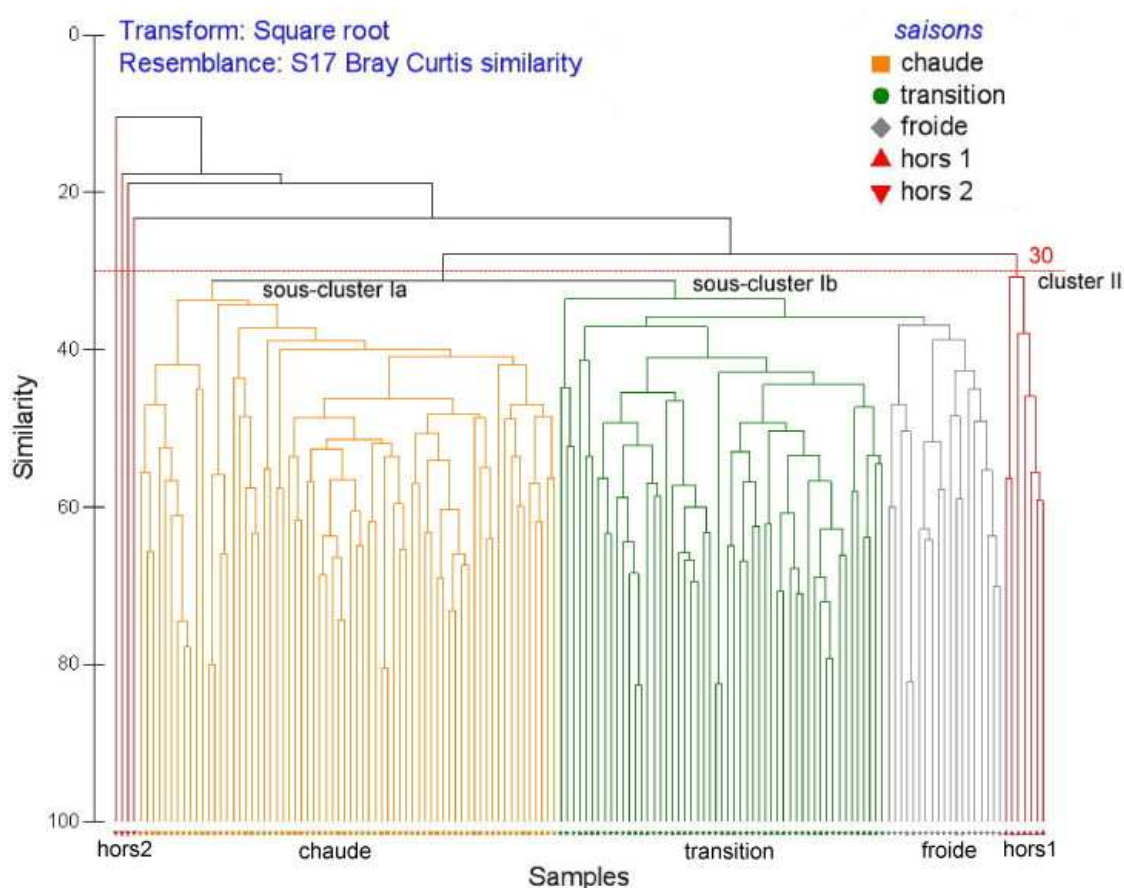


Figure 22. Dendrogramme réalisé à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Bouée 7 de 2003 à 2008 (données soumises à une transformation racine carrée).

La majorité des échantillons appartient au cluster I subdivisé en 2 sous-clusters (Ia et Ib). Le sous-cluster Ia (■) regroupe l'ensemble des échantillons phytoplanctoniques des mois de mai, juin et juillet ainsi que ceux des mois d'août 2005 à

2008. Selon les années, des prélèvements phytoplanctoniques d'autres mois (avril, septembre, octobre et novembre) peuvent également être associés à ce groupe, comme pour les années 2007 et 2008. Tous ces prélèvements qui se regroupent autour de l'été, permettent de définir une saison chaude dont les limites, différentes d'une année à l'autre, sont présentées Tableau 8.

Le sous-cluster Ib se divise lui-même en deux sous-groupes. L'un rassemble des prélèvements phytoplanctoniques printaniers et automnaux (au sens astronomique) qui ont pour cette raison été qualifiés de saison de transition (●). L'autre, réunissant la majorité des prélèvements de décembre et des prélèvements de janvier, février et mars, a été appelé groupe de saison froide (◆).

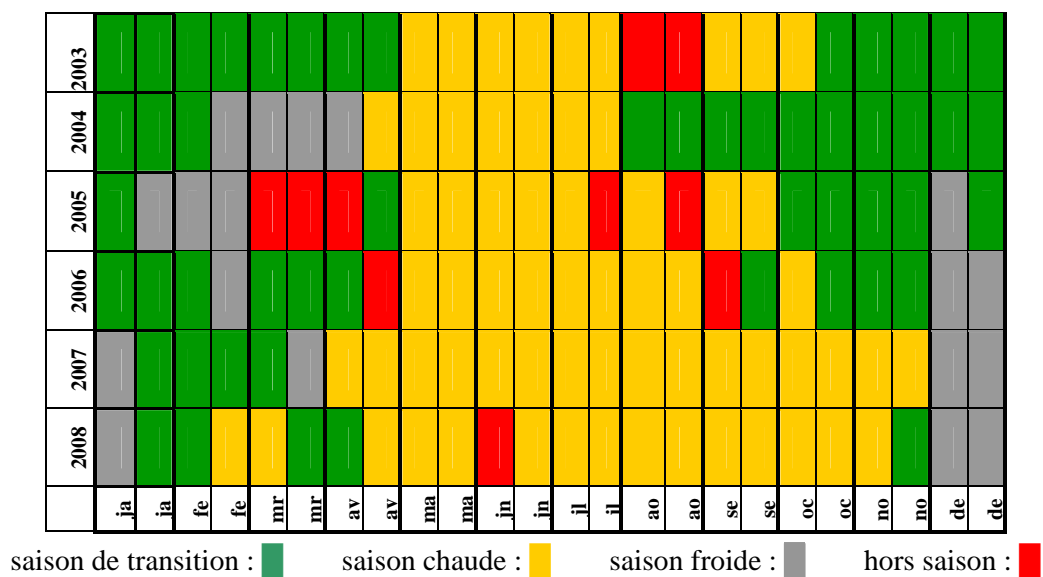


Tableau 8. Limites des saisons phytoplanctoniques définies en fonction de la similarité entre les populations phytoplanctoniques dénombrés à Bouée 7 de 2003 à 2008.

Le cluster II (▲) regroupe 7 prélèvements phytoplanctoniques de 2003 (7 et 20 août), de 2005 (29 juillet, 1 et 29 août) et de 2006 (20 avril et 14 septembre). Par ailleurs, quatre échantillons s'isolent complètement des autres groupes (▼) dont trois de 2005 (7 et 18 mars, 7 avril) et un de 2008 (12 juin). Tous ces prélèvements ont été qualifiés de hors saison (respectivement "hors 1" et "hors 2") car ne se rattachant à aucune des saisons phytoplanctoniques venant d'être définies.

Les limites annuelles des saisons phytoplanctoniques sont présentées Tableau 8. La saison froide est la saison la plus courte, absente en 2003 et maximale en 2005 (2 mois). La saison chaude est la saison la plus longue, avec un minimum de 3,5 mois en 2004 et un maximum de 8 mois consécutifs en 2007. Si le début de cette saison ne s'étale que sur un mois (de début avril à début mai), sa fin en revanche peut s'observer entre août (2004) et novembre (2007). Sa durée est ainsi plus importante les deux dernières années étudiées (2007 et 2008) tandis que la saison de transition est plus étendue les premières années d'étude, 2003 et 2004 (6,5 mois). Les prélèvements ne se rattachant à aucune de ces trois saisons phytoplanctoniques ("hors saison") peuvent s'observer au printemps ou

en été, sauf en 2004 et 2007 où ils n'apparaissent pas. Ainsi, les six années étudiées s'avèrent différentes l'une de l'autre du point de vue des dates de mise en place des structures phytoplanctoniques saisonnières et de leur étendue dans le temps. Il serait intéressant de relier ces observations aux paramètres de milieu, ce qui pourra être fait dans un travail ultérieur.

La qualification des structures des populations phytoplanctoniques en fonction des trois saisons phytoplanctoniques définies ci-dessus (froide, de transition et chaude) est confortée par la représentation 2D de l'analyse MDS. La distance entre les échantillons est représentative de la similarité entre ces échantillons : les échantillons phytoplanctoniques caractérisant la saison de transition se situent entre ceux des saisons chaude et froide (Figure 23). A l'inverse, il apparaît que les prélèvements de chaque année ne se regroupent pas.

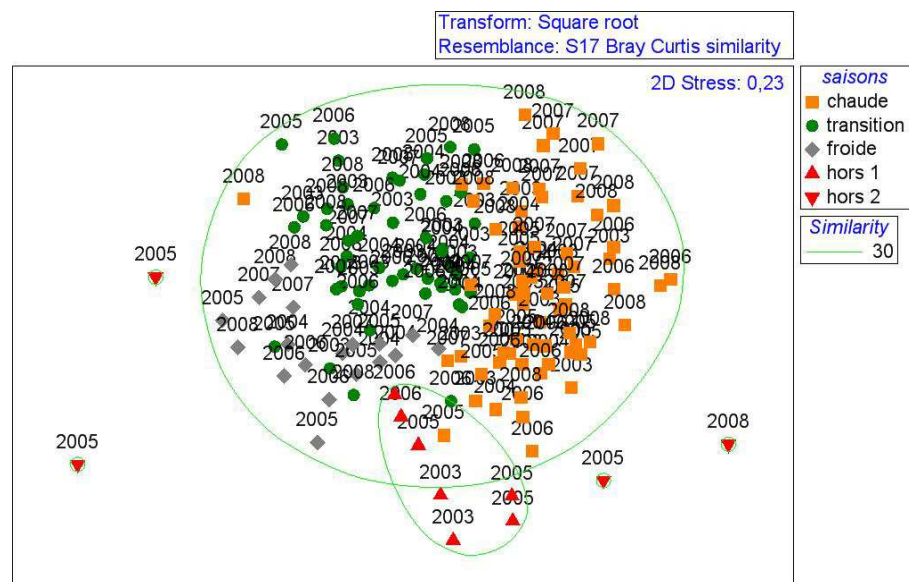


Figure 23. Analyse MDS réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Bouée 7 de 2003 à 2008 et labellisée en fonction des saisons phytoplanctoniques (données soumises à une transformation racine carrée).

Ainsi, à l'exclusion des prélèvements dits "hors saison", les analyses multivariées réalisées à partir de l'ensemble des données d'abondances des flores totales de Bouée 7 permettent de différencier les populations phytoplanctoniques principalement en trois saisons phytoplanctoniques (froide, de transition et chaude) sans distinction des six années étudiées.

2.5.2. Caractérisation des populations phytoplanctoniques selon les saisons phytoplanctoniques

D'un point structurel, les communautés phytoplanctoniques caractérisant la saison chaude présentent une richesse spécifique⁵⁶ comparable à celle observée au cours de la saison de transition ($S = 28 \pm 0,7$, Figure 24a) mais des abondances phytoplanctoniques moyennes beaucoup plus élevées ($N = 35 \times 10^4$ cellules/L) que celles des saisons de transition et froide (respectivement $16 \cdot 10^4$ cellules/L et $2,7 \cdot 10^4$ cellules/L, Figure 24b). Les taxons contribuant à la similarité intra saison (à plus de 5 %) sont les taxons les plus abondants au cours de l'année donc principalement les diatomées. Ce sont souvent les mêmes taxons pour les différentes saisons mais apparaissant à des abondances différentes (Annexe 3). Ainsi, *Chaetoceros* spp. contribue aux saisons froide, de transition et chaude de même que *Pseudonitzschia* spp. Ceci peut être dû au fait que les déterminations sont limitées au genre. L'espèce *Asterionellopsis glacialis* contribue aux saisons hivernale et de transition (beaucoup plus fortement à cette dernière) de même que *Paralia marina* et *Nitzschia longissima*. Les deux espèces du genre *Leptocylindrus*, *L. danicus* et *L. minimus*, s'avèrent plus caractéristiques de la saison chaude.

Les prélèvements des périodes "hors saison" (1 et 2) sont caractérisés par des abondances phytoplanctoniques encore plus faible (Fig. 24), en particulier des taxons de diatomées dominant au cours des autres saisons. Ceci entraîne une augmentation de la contribution des taxons de dinoflagellés à la similarité intragroupe (Annexe 3).

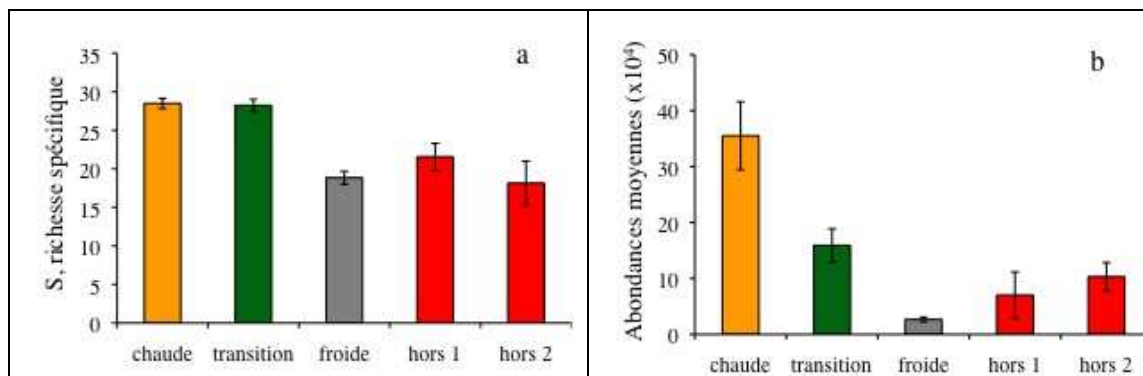


Figure 24. Richesse spécifique (a) et abondances moyennes (b) des flores totales simplifiées pour les différentes saisons phytoplanctoniques définies à Bouée 7 de 2003 à 2008.

Au sein de la classe des dinoflagellés, la richesse spécifique ($S = 12,3 \pm 0,5$, Figure 25a) et les abondances moyennes ($N = 11 \times 10^3$ cellules/L, Figure 25b) sont maximales durant la saison chaude. Ces deux variables diminuent en période de transition pour atteindre des valeurs minimales durant la saison froide ($S = 7,3 \pm 0,7$ et $N = 3,8 \cdot 10^3$ cellules/L). La saison chaude est associée aux plus fortes abondances de dinoflagellés, de petite taille appartenant majoritairement aux unités taxinomiques Gymnodiniaceae et *Scrippsiella*, et de grande taille comme *Gyrodinium spirale* et plusieurs espèces appartenant aux genres *Ceratium* et *Protoperdinium*.

⁵⁶ Richesse spécifique S = nombre de taxons constituant les communautés phytoplanctoniques.

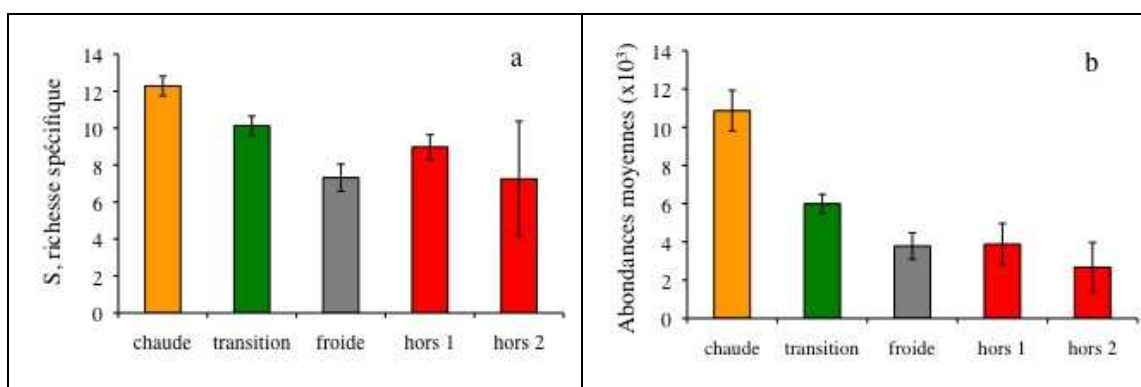


Figure 25. Richesse spécifique (a) et abondances moyennes (b) des flores de dinoflagellés pour les différentes saisons phytoplanktoniques définies à Bouée 7 de 2003 à 2008.

2.6. Saisons phytoplanktoniques et périodes de toxicité

2.6.1. Niveaux de toxicité et assemblages phytoplanktoniques

La labellisation des prélèvements a été faite en fonction des quatre niveaux de toxicité observés sur les souris⁵⁷ (cf. 1.2.4.). Rappelons que tous les prélèvements ne peuvent être labellisés ainsi car les bio-essais ne sont pas effectués régulièrement tout au long de l'année. Ainsi, le pourcentage d'échantillons phytoplanktoniques pouvant être associés à des bioessais est de 79,4 % pour la saison chaude, 67,9 % pour la saison de transition et 47,4 % pour la saison froide.

Le nombre de bioessais de niveaux 1 et 2 est comparable pour la saison chaude (Ia) et les saisons froide et de transition (Ib) (Tableau 9). Par contre, le niveau 3 est associé majoritairement à la saison chaude (Ia) (12 bioessais). Il apparaît aussi en saison de transition (Ib) et hors saison (cluster II) (2 bioessais dans chaque groupe). Le niveau 4 est observé cinq fois dont 3 fois en saison chaude (Ia), une fois en saison de transition (Ib) et une fois hors saison (en 2008).

Saisons phytoplanktoniques	chaude	transition	froide	Hors saison	
Clusters	Ia (■)	Ib (●)	Ib (◆)	II (▲)	(▼)
Niveau 1	26	21	7	3	3
Niveau 2	13	12	2	/	/
Niveau 3	12	2	/	2	/
Niveau 4	3	1	/	/	1

Tableau 9. Nombre de bio-essais sur souris correspondant à chaque niveau de toxicité, en fonction des saisons phytoplanktoniques.

⁵⁷

Niveau 1 : aucun symptôme observé sur les souris et aucune souris morte

Niveau 2 : présence de symptômes sur les souris et/ou une souris morte

Niveau 3 : 2 ou 3 souris mortes en plus de 5 h

Niveau 4 : 2 ou 3 souris mortes en moins de 5 h

Pour les six années étudiées, les résultats de la MDS montrent que les populations phytoplanctoniques ne se différencient pas en fonction des quatre niveaux de toxicité (Figure 26). Ainsi la structure des populations phytoplanctoniques, en termes de composition et d'abondances, est indépendante des niveaux de toxicité observés sur les souris.

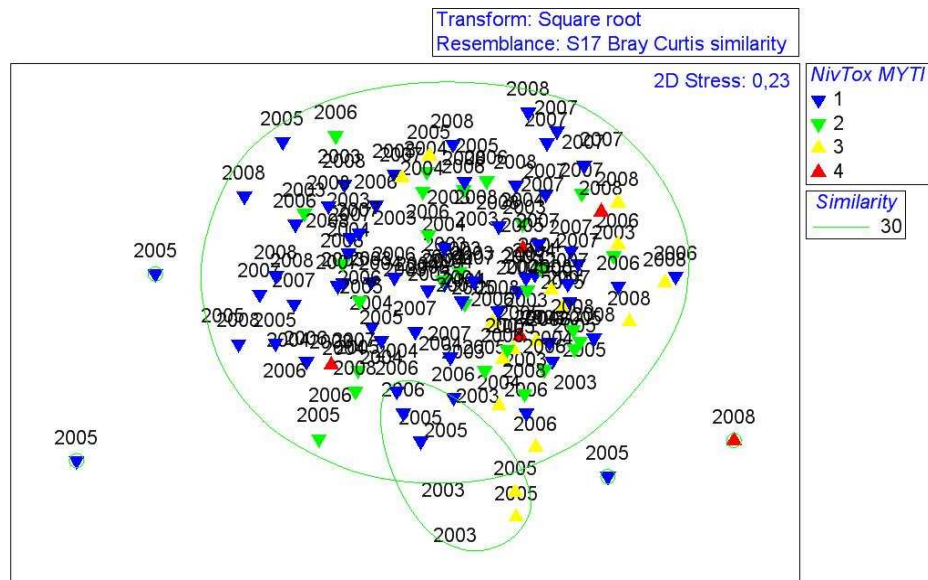


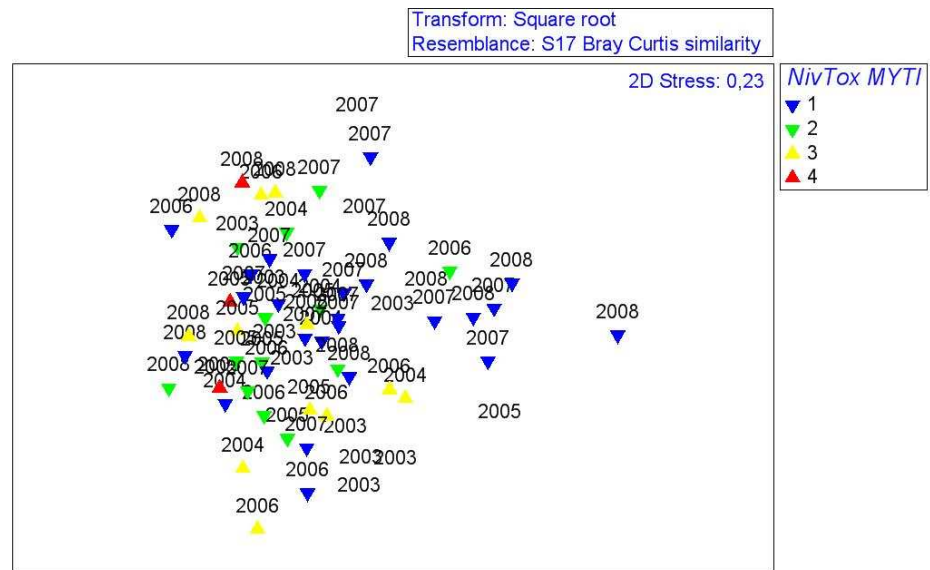
Figure 26. Analyse MDS réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Bouée 7 de 2003 à 2008 et labellisée en fonction des niveaux de toxicité observés sur les souris (données soumises à une transformation racine carrée).

2.6.2. Nature des toxicités et assemblages phytoplanctoniques

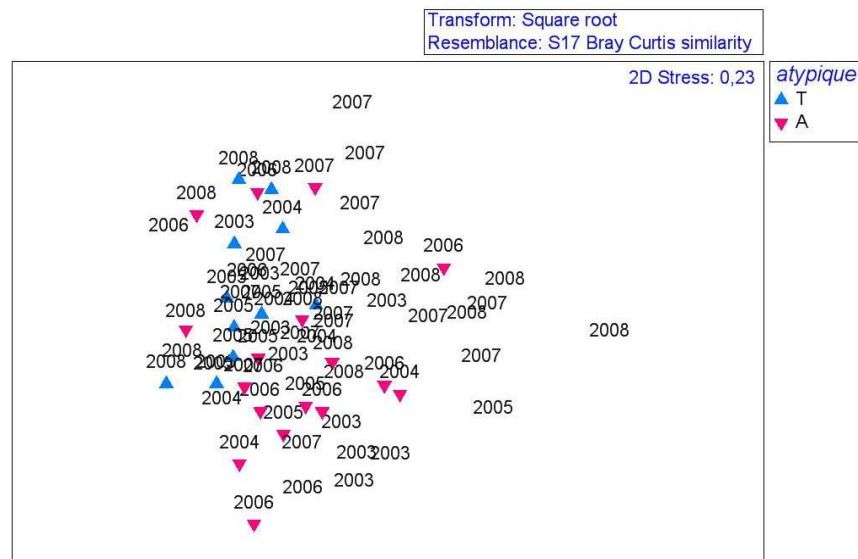
Les différentes périodes de toxicité identifiées (cf. 1.2.4 et 1.2.5) ont été juxtaposées à celles des saisons phytoplanctoniques dans le tableau 10.

Les événements de toxicité typique (dinophysistoxines) sont associés majoritairement (70 %) aux assemblages phytoplanctoniques de la saison chaude et secondairement (30 %) à ceux de la saison de transition. Les événements de toxicité atypique se produisent à 75 % lors de la saison chaude et à 19 % lors des périodes dites "hors saison" (Tableaux 10 et 11).

Dans les deux cas, les épisodes ne surviennent pas systématiquement lors d'un changement de structure de populations phytoplanctoniques puisqu'ils peuvent apparaître au début, pendant ou à la fin des saisons (Tableaux 10 et 11).



a



b

Figure 27. Analyse MDS réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées durant la saison chaude à Bouée 7 de 2003 à 2008 (données soumises à une transformation racine carrée). Prélèvements labellisés en fonction des niveaux de toxicité observés sur les souris (a) et du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités (b). La période à YTXs (Y) est indiquée.

En réalisant les analyses à partir uniquement des données d'abondances des dinoflagellés, la mesure du stress de l'analyse 2D de la MDS est de 0,25 indiquant que la représentation (non montrée) de la proximité entre échantillons phytoplanctoniques est difficilement exploitable, et ceci quelque soit la labellisation effectuée (année, saison, niveaux de toxicité et périodes a-typiques).

En conclusion, les analyses réalisées sur l'ensemble des 6 années, puis sur la seule saison chaude de ces 6 années, n'a pas permis de mettre en évidence d'assemblage phytoplanctonique caractéristique des toxicités observées sur l'ensemble de la période.

La même démarche a ensuite été poursuivie, en réalisant les analyses année par année, afin de rechercher si de tels assemblages pouvaient apparaître à l'échelle annuelle.

2.7. Structure des populations phytoplanctoniques à l'échelle annuelle

L'évolution annuelle de la structure des communautés phytoplanctoniques a été étudiée en lien avec le caractère typique ou atypique des toxicités observées de 2003 à 2008. Chaque cycle annuel est constitué au minimum de 24 dates (2 par mois), plus certaines années pour lesquelles des prélèvements phytoplanctoniques ont été effectués à la station Bouée 7. Les résultats des bioessais, lorsqu'ils ont été réalisés⁵⁸, ont été associés aux dates correspondantes.

Dans un premier temps, les analyses multivariées ont été effectuées à partir des flores totales (diatomées, dinoflagellés et autres classes dénombrées) et dans un second temps, en considérant uniquement les flores de dinoflagellés. Les transformations racine carrée et présence-absence ont été appliquées aux données d'abondances.

2.7.1. Année 2003

Les saisons phytoplanctoniques de l'année 2003, définies à partir de l'ensemble des années étudiées (cf. 2.6.2), sont rappelées tableau 12.

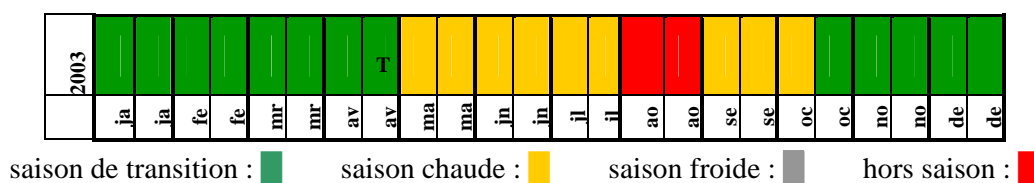


Tableau 12. Périodes de toxicité typique (T) et atypique (A) pour les moules d'Arguin et saisons phytoplanctoniques à Bouée 7 en 2003.

En 2003, la structure des assemblages phytoplanctoniques s'est caractérisée par deux principaux groupes correspondant à la saison de transition du début de l'année jusqu'à fin avril (cluster I) et à la saison chaude (mai à octobre) associée à la saison de transition de fin d'année (de fin octobre à fin décembre) (cluster II). Les prélèvements d'août se situent "hors saison" (Tableau 12 et Figure 28).

⁵⁸ Sur des moules du Banc d'Arguin, le même jour ou dans un délai ne dépassant pas 3 jours après le prélèvement phytoplanctonique.

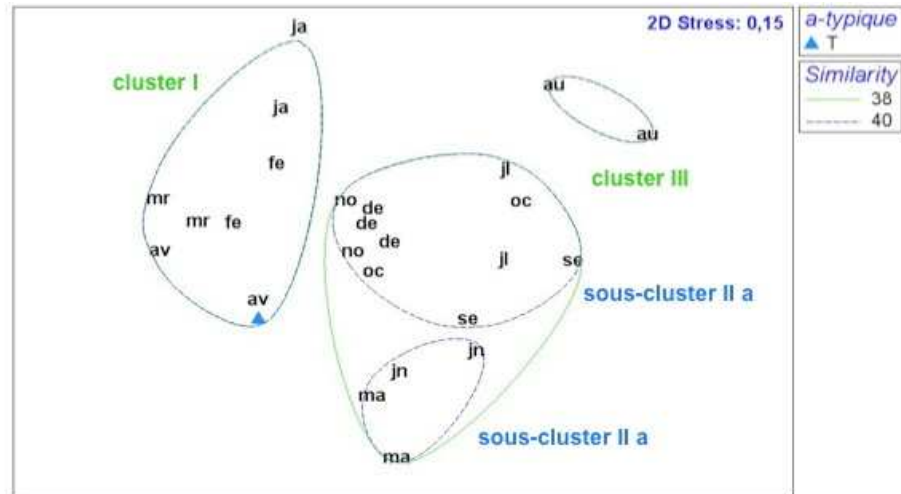


Figure 28. Analyse MDS réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Bouée 7 en 2003 (données soumises à une transformation racine carrée). Prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités.

Une période de toxicité typique est observée fin avril, à la fin de la saison de transition (cluster I).

L'analyse de la contribution des différents taxons à la similarité intragroupe (SIMPER) montre que les taxons de diatomées contribuent majoritairement à la similarité des différents groupes (Annexe 4). Le passage de la saison de transition (cluster I), dominée par *Asterionellopsis glacialis*, à la saison chaude (cluster II) dominée par différentes espèces de *Chaetoceros* (Annexe 4) se produit en mai. Ces diatomées sont représentatives de la dynamique saisonnière des communautés phytoplanctoniques dans le Bassin d'Arcachon. Les valeurs maximales des abondances moyennes et la diversité spécifique des dinoflagellés ($N = 14,8 \times 10^3$ cellules/L et $S = 15$, respectivement) sont observées pour les assemblages phytoplanctoniques des mois de mai et juin (sous-cluster IIa) (Figure 28).

En traitant uniquement les flores de dinoflagellés, l'événement de toxicité typique de fin avril est associé à des assemblages de dinoflagellés caractérisés par la présence majeure de *Dinophysis* spp. avec une contribution à la similarité du groupe élevée (cluster II) (Figure 29).

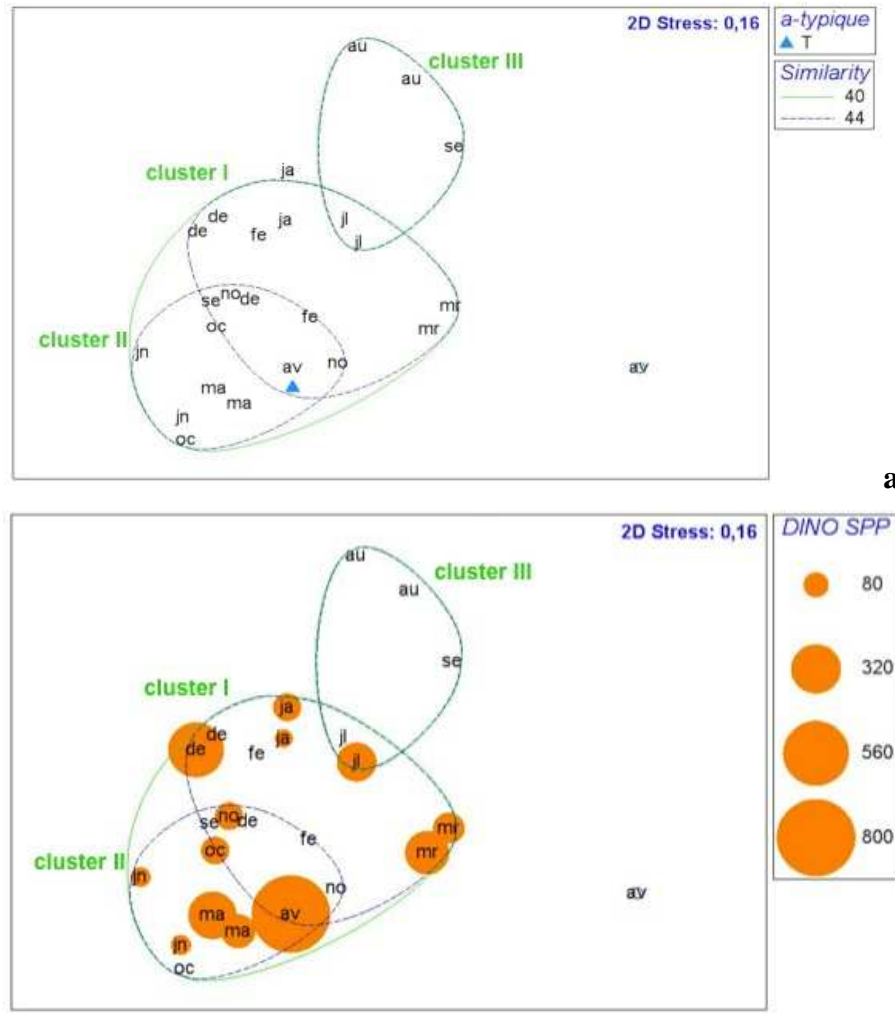


Figure 29. Analyse MDS réalisée à partir des abondances de dinoflagellés dénombrés à Bouée 7 en 2003 (données soumises à une transformation racine carrée). (a) prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités; (b) Abondances de *Dinophysis* spp. (cellules/L) reportées sur l'analyse MDS.

2.7.2. Année 2004

Durant l'année 2004, deux périodes d'accumulation de toxines lipophiles ont été observées dans les moule, sous la forme principalement d'AO et DTXs en juin, puis de PTXs de mi-novembre à mi-décembre (Tableau 13).

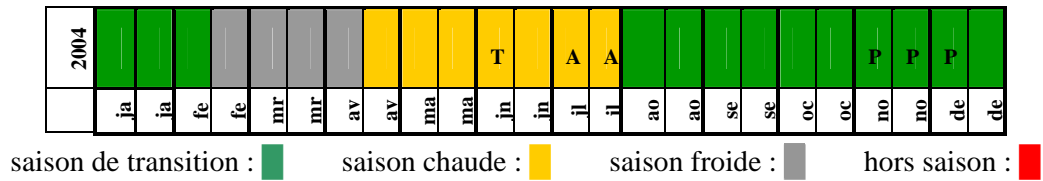


Tableau 13. Périodes de toxicité typique (T) et atypique (A) pour les moules d'Arguin et saisons phytoplanctoniques à Bouée 7 en 2004 (définies à partir de l'ensemble des années étudiées, cf. 2.6.2).

Les périodes à YTXs (Y) et PTXs (P) sont indiquées.

Les bioessais effectués durant la période de mai à juillet se sont caractérisés par l'observation de nombreux symptômes (léthargie, crampes, difficultés respiratoires) et par des mortalités observées au-delà de 24 h. Les deux bioessais de juillet, de niveau 3 en termes de toxicité, ont été réalisés en différé car hors de la période de surveillance obligatoire (ce qui explique la non fermeture de la commercialisation des moules à cette date).

Les analyses réalisées sur les flores totales permettent de distinguer deux clusters principaux, l'un de saisons froide et de transition (I), l'autre de saison chaude (II). Les phénomènes de toxicité observés de mai à juillet correspondent à des assemblages phytoplanctoniques de saison chaude (cluster II). Une différenciation entre la période de toxicité typique de juin (sous-cluster IIa) et la période de toxicité atypique de juillet (sous-cluster IIb) est observée (Figure 30 et tableau 13).

Les analyses SIMPER réalisées à partir des flores totales révèlent que les taxons contribuant le plus à la similarité des différents groupes appartiennent majoritairement à la classe des diatomées comme en 2003. Les prélèvements de fin avril à juin, associés à la toxicité typique (cluster IIa), sont caractérisés par *Chaetoceros* spp. et les deux espèces de *Leptocylindrus*, *L. danicus* et *L. minimus* (Annexe 5). Le passage à la communauté de juillet, associée à une toxicité atypique, se produit avec la disparition de *Asterionellopsis glacialis*, la diminution marquée des effectifs de *L. danicus* et *Chaetoceros* spp., et à l'apparition en quantité importante de *Rhizosolenia fragilissima* (Annexe 6).

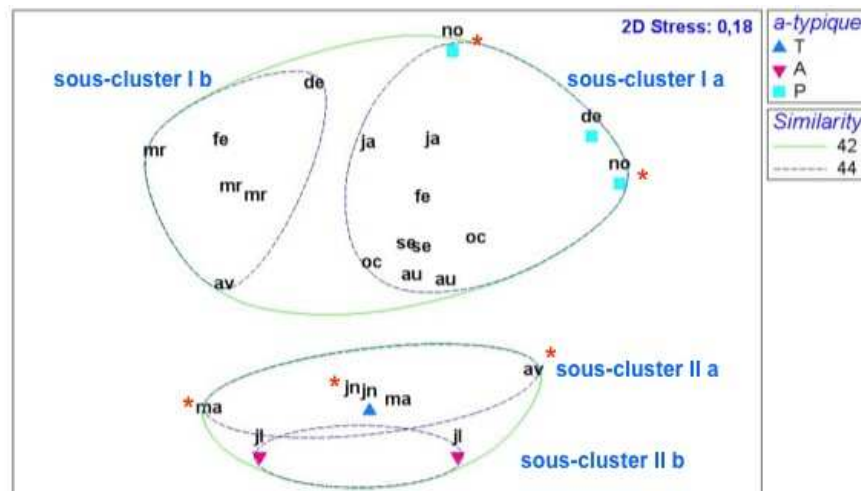


Figure 30. Analyse MDS réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Bouée 7 en 2004 (données soumises à une transformation racine carrée). Prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités.

La période à PTXs (P) est indiquée. *: mortalités observées à plus de 24 h.

En réalisant les analyses multivariées uniquement à partir des abondances des flores de dinoflagellés, la classification hiérarchique permet de séparer deux groupes (à un taux de similarité de 50 %) (Figure 31), l'un incluant les prélèvements associés à la toxicité typique (cluster II), l'autre incluant ceux associés à la toxicité atypique (cluster I). L'évolution de la nature de la toxicité coïncide avec un changement important de structure des assemblages de dinoflagellés entre fin juin et début juillet.

La dissimilarité entre les deux groupes est due aux abondances moyennes des dinoflagellés de la période avril à juin (cluster II incluant les prélèvements associés à la toxicité typique) supérieures à celles du reste de l'année (cluster I incluant les prélèvements associés à la toxicité atypique) (Annexe 7). Sur les 26 taxons identifiés en 2004, 18 taxons ont présenté des abondances plus fortes au cours de cette première période.

Huit principaux taxons de dinoflagellés (dont la contribution relative à la similarité est supérieure à 5 %) expliquent 77 % de la similarité intragroupe du cluster II (incluant les prélèvements associés à la toxicité typique) (Annexe 8). Ils sont représentés par des dinoflagellés nus, les Gymnodiniaceae, *Gymnodinium nagasakiense*, *Torodinium*, *Gyrodinium spirale* et des dinoflagellés à thèque de taille variable *Scropsiella*, *Protoperidimim bipes* et *Ceratium fusus*. Les assemblages de dinoflagellés du cluster I (incluant les prélèvements associés à la toxicité atypique) sont dominés par des dinoflagellés nus, Gymnodiniaceae, *Torodinium* et *Gyrodinium spirale*, qui expliquent 67 % de la similarité intragroupe. La contribution relative du genre *Dinophysis* au cluster II est supérieure (4,75 %) à celle estimée pour le cluster I (2,23 %).

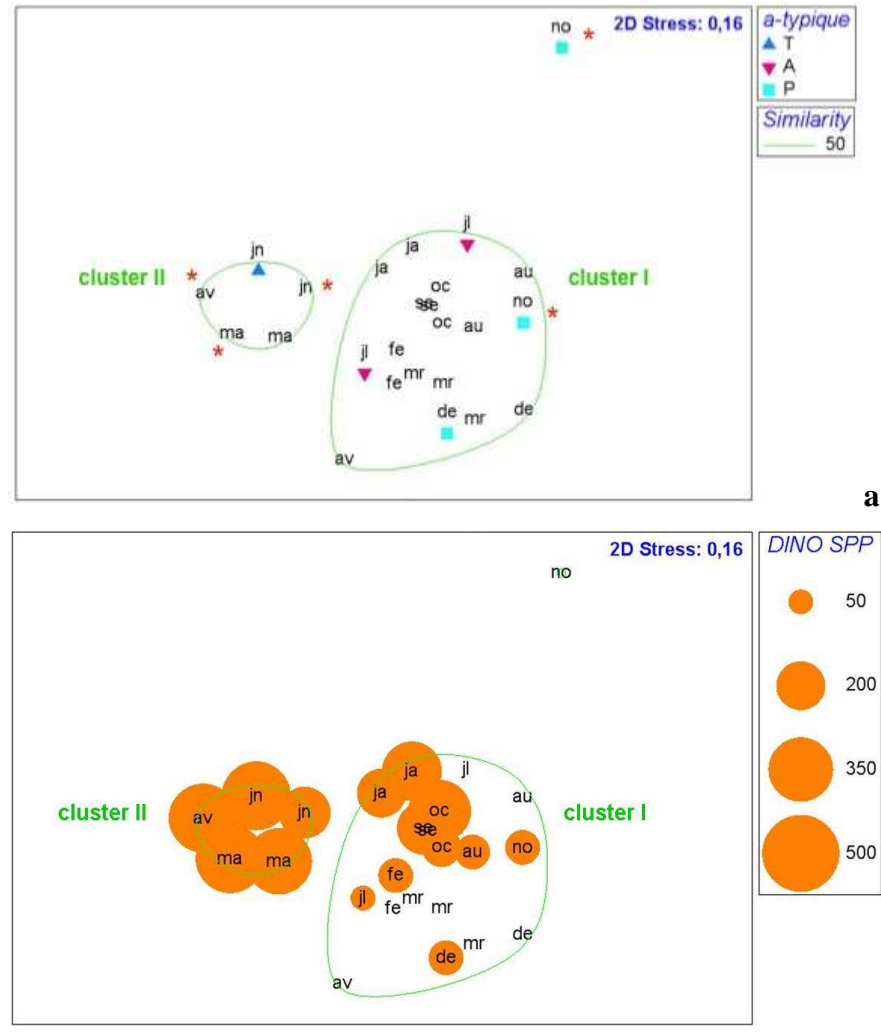


Figure 31. Analyse MDS réalisée à partir des abondances de dinoflagellés dénombrés à Bouée 7 en 2004 (données soumises à une transformation racine carrée). (a) prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités; (b) Abondances de *Dinophysis* spp. (cellules/L) reportées sur l'analyse MDS. La période à PTXs (P) est indiquée. *: mortalités observées à plus de 24 h.

Le traitement des données en présence/absence révèle la présence de *Dinophysis acuminata* principalement associée au cluster II alors que celle de *Dinophysis caudata* est associée au cluster I, en particulier pendant les mois automnaux et hivernaux. Ce changement de dominance d'espèce au sein du genre *Dinophysis* est concordant avec le changement du profil toxinique (cf. 1.2.5.1.).

En conclusion, les analyses multivariées permettent d'individualiser les périodes de toxicité. L'évolution de la qualification de toxicité typique à atypique correspond à un changement de structure des communautés de diatomées et de dinoflagellés, ces derniers devenant moins abondants et moins diversifiés. Cependant si l'analyse des flores de dinoflagellés permet de distinguer les assemblages phytoplanctoniques associés aux phénomènes de toxicité typique de ceux associés aux phénomènes atypiques, elle ne permet pas de caractériser spécifiquement les assemblages de toxicité atypique. En effet,

Le début de la période de toxicité typique (18/04) est associé au cluster II, correspondant à la saison de transition tandis que la majorité des toxicités suivantes est associée aux assemblages phytoplanctoniques de la saison chaude (Figure 32). Une modification importante des assemblages phytoplanctoniques est donc observée entre fin avril et début mai (Figure 32). En revanche, le passage de la toxicité typique à la toxicité atypique fin juin ne coïncide pas avec un changement de structure des assemblages phytoplanctoniques puisque ces prélèvements sont regroupés dans un même sous-cluster (IIIa). Les analyses SIMPER réalisées à partir des flores totales révèlent que les taxons de diatomées contribuent majoritairement à la similarité intragroupe. La saison de transition est caractérisée par *A. glacialis* tandis que la saison chaude l'est par *Leptocylindrus* (Annexe 9).

En réalisant les analyses multivariées à partir des flores de dinoflagellés (Figure 33), la majorité des échantillons associés à des périodes de toxicité (mai à août) est regroupée dans un même cluster (II) au sein duquel se différencient les échantillons associés aux toxicités typique (mai-juin) (IIa) et atypique (juin-août) (IIb). Le début de la période de toxicité (18/04) reste dissocié de ces assemblages phytoplanctoniques. Le prélèvement phytoplanctonique correspondant présente une diversité spécifique en dinoflagellés inférieure ($S = 8$) aux dates précédente et suivante ($S = 14$).

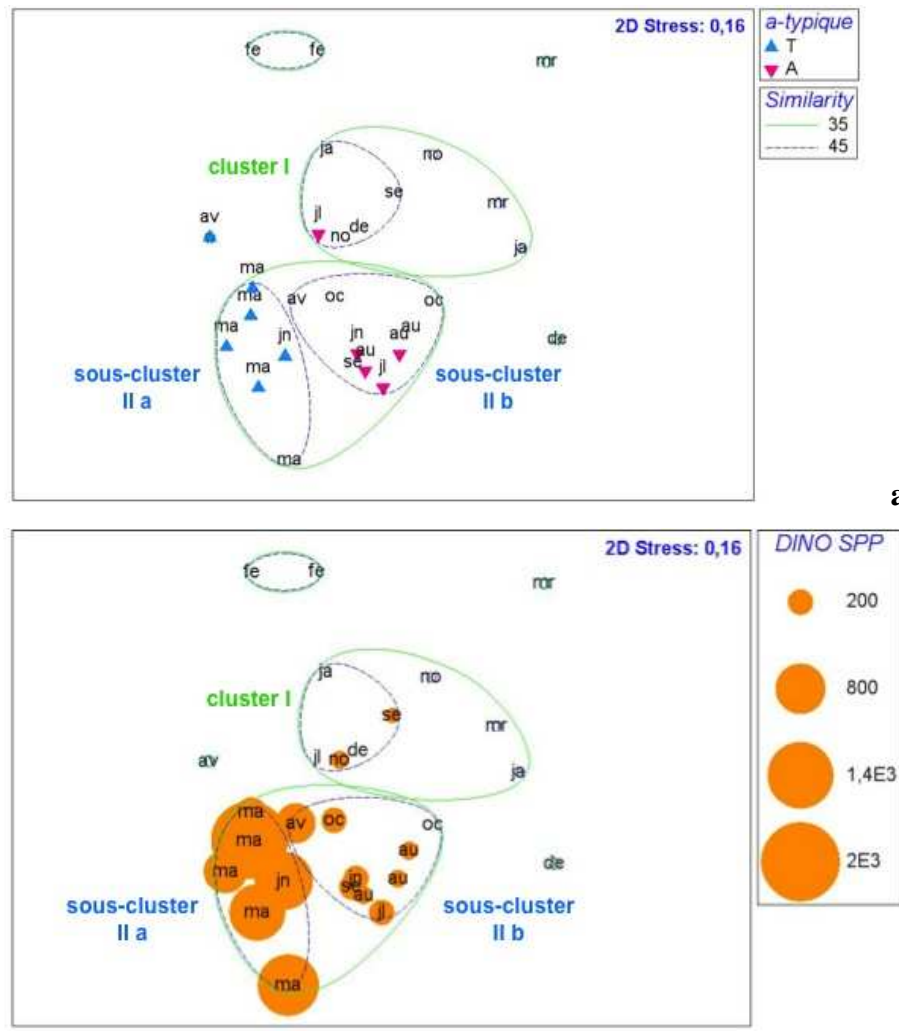


Figure 33. Analyse MDS réalisée à partir des abondances de dinoflagellés dénombrés à Bouée 7 en 2005 (données soumises à une transformation racine carrée). (a) Prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités ; (b) Abondances de *Dinophysis* spp. (cellules/L) reportées sur l'analyse MDS.

Les abondances maximales de *Dinophysis* spp. s'observent majoritairement pendant la saison chaude. Les plus fortes valeurs (jusqu'à 1 900 cellules/L) sont associées au sous-cluster IIa, regroupant les prélèvements de la période de toxicité typique (mai et début juin). Sept taxons de dinoflagellés (dont la contribution relative à la similarité est supérieure à 5 %) expliquent plus de 80 % de la similarité des prélèvements de ce sous-groupe (IIa) (Annexe 10) dont en premier l'espèce *Ceratium fusus* (16,24 %) puis le genre *Dinophysis* (16,17 %).

L'évolution de la qualification de toxicité typique (début juin) à atypique (fin juin) a coïncidé avec un changement de structure des populations de dinoflagellés. Les assemblages de dinoflagellés du sous-cluster IIb, auquel est associée la période atypique, sont représentés majoritairement par les taxons Péridiniales et *Torodinium* expliquant 46 % de la similarité intragroupe du sous-cluster (Annexe 11). A ces principaux taxons sont associés des taxons de petits dinoflagellés (*Scropsiella*) et des taxons de plus grande taille (*Gyrodinium spirale*, *Dinophysis* et *Ceratium*).

Le changement de structure phytoplanctonique entre les périodes typique et atypique correspond à une diminution globale des abondances des taxons de dinoflagellés. Sur les 26 taxons recensés sur les deux périodes, 20 taxons ont présenté des abondances plus faibles au cours de la période associée aux toxicités atypiques (Annexe 11). Les principaux taxons responsables de la dissimilarité entre ces deux périodes sont les Gymnodyniaceae, *Ceratium fusus*, *Ceratium lineatum*, *Dinophysis*, et les Peridinales et *Torodinium* qui sont les seuls dont les abondances sont plus élevées lors de la période associée aux toxicités atypiques.

Le traitement des données en présence/absence révèle la contribution des espèces *D. acuminata* et *D. caudata* associées au sous-cluster IIa, puis uniquement de *D. caudata* à la fin de la saison chaude (sous-cluster IIb).

En conclusion, seules les analyses multivariées de flores de dinoflagellés permettent d'individualiser la période de toxicité typique de mai et début juin, caractérisée par des abondances moyennes et une diversité spécifique de dinoflagellés élevées, ainsi qu'une contribution relative notable de *Dinophysis* spp. à la similarité du groupe.

L'évolution de la qualification de toxicité typique à atypique correspond à un changement de structure des assemblages de dinoflagellés qui deviennent moins abondants et moins diversifiés. Cependant cette caractéristique n'est pas propre aux prélèvements des toxicités atypiques car ils se trouvent regroupés avec des prélèvements phytoplanctoniques non associés à des phénomènes toxiques (Figure 33).

2.7.4. Année 2006

Les saisons phytoplanctoniques de l'année 2006, définies à partir de l'ensemble des années étudiées (cf. 2.6.2), sont rappelées tableau 15.

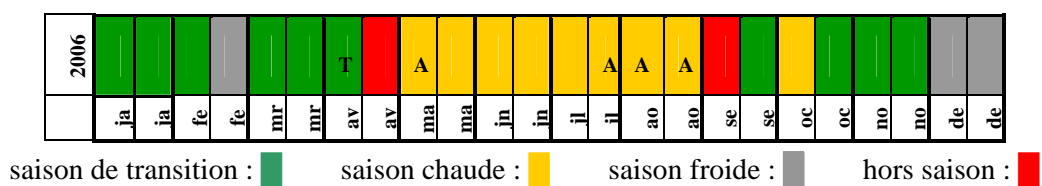


Tableau 15 : Périodes de toxicité typique (T) et atypique (A) pour les moules d'Arguin et saisons phytoplanctoniques à Bouée 7 en 2006.

Signalons que la toxicité typique de début avril a pu être qualifiée à partir d'analyses de flore partielle (recherche en particulier de *Dinophysis*) mais qu'il n'y a pas eu de dénombrement de flore totale. C'est pourquoi cette toxicité n'apparaît pas dans les analyses ci-dessous qui ne font donc état que de toxicités atypiques.

En 2006, la structure des populations phytoplanctoniques permet de différencier deux clusters correspondant aux saisons froide et de transition (cluster I) et à la saison chaude (cluster II) comme en 2004. Au sein de chaque saison, les assemblages phytoplanctoniques se séparent en deux sous-clusters (Figure 34).

Les analyses de la contribution des taxons à la similarité intragroupe (SIMPER) de ces sous-clusters mettent en évidence que les taxons contribuant le plus à la similarité appartiennent majoritairement à la classe des diatomées. Les assemblages de mai-juin correspondent à des effectifs élevés de *L. danicus* et *Pseudonitzschia* qui diminuent fortement en juillet-août tandis que *Chaetoceros* et *Bacteriastrum* se maintiennent (Annexe 12). Ce bloom printanier de mai-juin est aussi associé aux valeurs maximales d'abondances moyennes et de diversité spécifique des dinoflagellés, observées au cours de l'année.

Les prélèvements correspondant aux toxicités atypiques ne s'individualisent pas dans cette analyse. Ils se trouvent de plus associés à des prélèvements sans aucune toxicité.

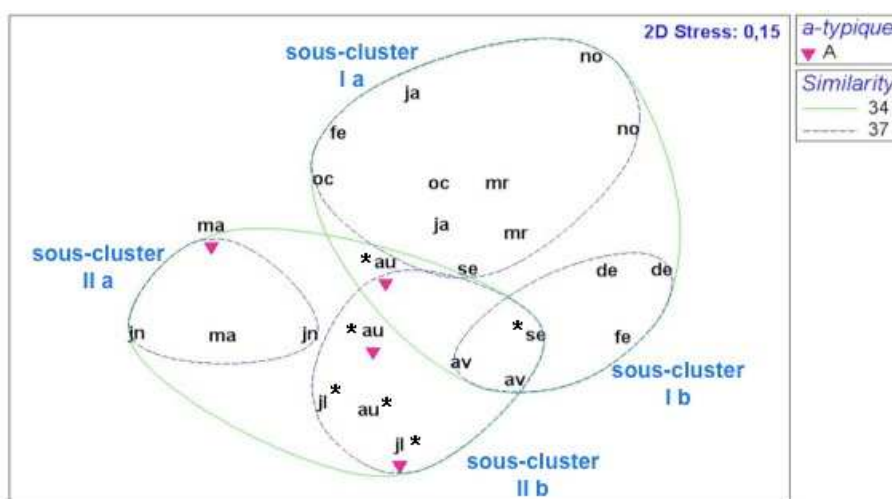


Figure 34. Analyse MDS réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Bouée 7 en 2006 (données soumises à une transformation racine carrée). Prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités. (NB : Seuls les échantillons avec * appartiennent au sous-cluster IIb).

En réalisant les analyses à partir des données transformées en présence/absence, les diatomées restent les principaux taxons contribuant à la similarité.

Les analyses multivariées réalisées à partir des flores de dinoflagellés confortent les résultats obtenus à partir des flores complètes, en différenciant les taxons de dinoflagellés de la période de mai et juin de ceux de la période de juillet et août (Figure 35). Ainsi, les phénomènes de toxicité observés en mai sont associés à des assemblages phytoplanctoniques différents de ceux associés aux phénomènes de toxicité observés en juillet et août. Cependant, aucun assemblage n'apparaît spécifique de la toxicité puisque correspondant aussi à des périodes de non toxicité.

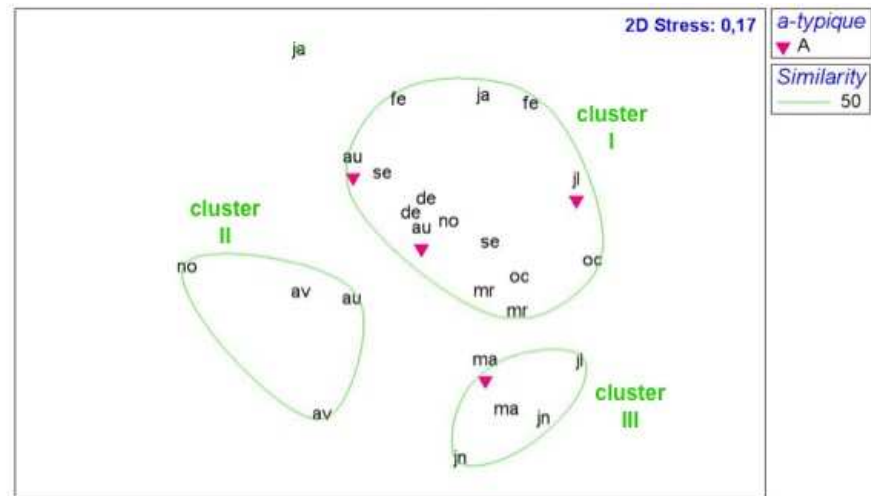


Figure 35. Analyse MDS réalisée à partir des abondances de dinoflagellés à Bouée 7 en 2006 (données soumises à une transformation racine carrée). Prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités.

2.7.5. Année 2007

Les saisons phytoplanctoniques de l'année 2007, définies à partir de l'ensemble des années étudiées (cf. 2.6.2), sont rappelées tableau 16.

2007	ja	ja	fe	fe	mr	mr	av	av	ma	ma	jn	jn	il	il	ao	ao	se	se	oc	oc	no	no	de	de
					A			A				A												

saison de transition : ■ saison chaude : ■ saison froide : ■ hors saison : ■

Tableau 16 : Périodes de toxicité typique (T) et atypique (A) pour les moules d'Arguin et saisons phytoplanctoniques à Bouée 7 en 2007.

Signalons que la toxicité atypique de juin n'a pu être associée à une analyse de flore ; c'est pourquoi elle n'apparaît pas dans les analyses ci-dessous qui ne font donc état que de deux toxicités atypiques.

En 2007, la structure des populations phytoplanctoniques permet de différencier, comme en 2004 et en 2006, deux clusters l'un correspondant aux saisons froide et de transition (cluster I), l'autre à la saison chaude (cluster II) (Figure 37).

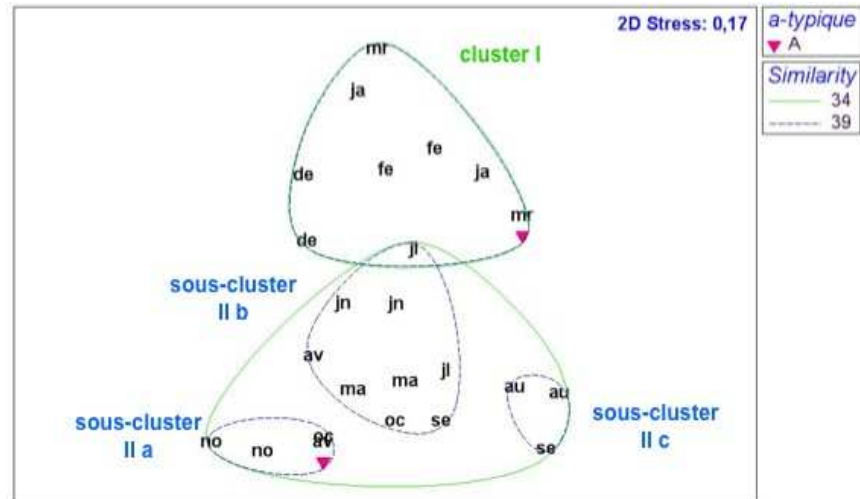


Figure 36. Analyse MDS réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Bouée 7 en 2007 (données soumises à une transformation racine carrée). Prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités. (NB : L'échantillon de juillet (jl) appartient au sous-cluster IIb).

Les deux phénomènes de toxicité atypique labellisés appartiennent à des clusters distincts. De plus, ils sont groupés avec des prélèvements phytoplanctoniques non associés à des phénomènes toxiques (Figure 36).

L'analyse des données à partir des abondances de dinoflagellés montre que les assemblages phytoplanctoniques des événements de toxicité appartiennent à un même sous-cluster (Figure 37). Ce groupe est caractérisé par une diversité de dinoflagellés nettement supérieure à celle des autres clusters. Vingt-deux taxons de dinoflagellés contribuent à la similarité intragroupe du sous-cluster IIa contre 5 taxons pour les autres groupes d'assemblages phytoplanctoniques.

Cinq principaux taxons (dont la contribution relative à la similarité est supérieure à 5 %) expliquent 79 % de la similarité intragroupe du sous-cluster IIa. Ces taxons regroupent des dinoflagellés nus (*Gymnodiniaceae*, *Torodinium*, *Gyrodinium spirale*) et des dinoflagellés à thèque de taille variable (*Scropsiella*, *Protoperidinium*) (Annexe 13).

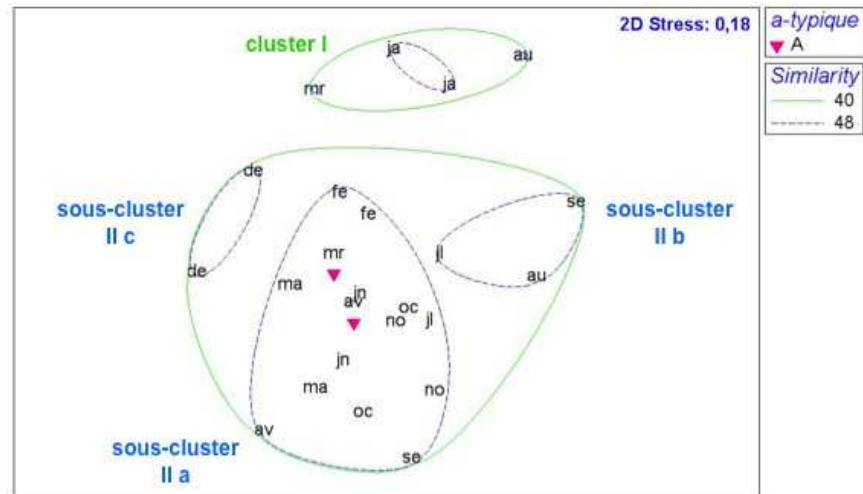


Figure 37. Analyse MDS réalisée à partir des abondances de dinoflagellés dénombrés à Bouée 7 en 2007 (données soumises à une transformation racine carrée). (a) Prélèvements labellisés en fonction du caractère toxique (T) ou atypique (A) des toxicités.

Cependant, comme en 2004, 2005 et 2006, les toxicités atypiques sont groupées avec des prélèvements phytoplanctoniques non associés à des phénomènes toxiques (Figure 37). Elles ne sont donc pas caractérisées par des assemblages spécifiques de dinoflagellés.

2.7.6. Année 2008

Les saisons phytoplanctoniques de l'année 2008, définies à partir de l'ensemble des années étudiées (cf. 2.6.2), sont rappelées tableau 17.

2008	ja	ja	fe	fe	mr	mr	av	av	ma	ma	ju	ju	il	il	ao	ao	se	se	oc	oc	no	no	de	de
------	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

saison de transition : ■ saison chaude : ■ saison froide : ■ hors saison : ■

Tableau 17 : Périodes de toxicité typique (T) et atypique (A) pour les moules d'Arguin et saisons phytoplanctoniques à Bouée 7 en 2008.

Les périodes à YTXs (Y) sont indiquées.

La structure des populations phytoplanctoniques est caractérisée en 2008, comme les années précédentes, par la différenciation de deux clusters principaux, chacun étant divisé en deux sous-clusters (Figure 39). Les sous-clusters Ia et Ib correspondent respectivement aux assemblages phytoplanctoniques de la saison froide et de la saison de transition. Le cluster II réunit les assemblages de la saison chaude ; il est différencié en deux sous-clusters, le premier (IIa) correspondant à la période mi-mars à mi-août, et le second (IIb) à la période fin août à mi-novembre.

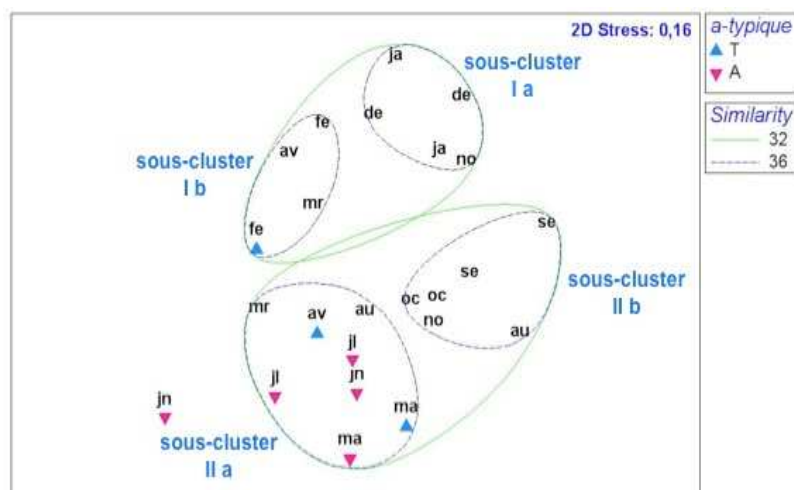


Figure 38 : Analyse MDS réalisée à partir des abondances phytoplanctoniques dénombrées à Bouée 7 en 2008 (données soumises à une transformation racine carrée). Prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités.

La plupart des périodes de toxicité, qu'elles soient typiques ou atypiques, sont regroupées dans le même sous-cluster (IIa), associées aussi à des périodes de non toxicité (Figure 38).

En réalisant les analyses multivariées uniquement à partir des abondances des flores de dinoflagellés, la classification hiérarchique permet de séparer deux groupes (Figure 39), l'un incluant les prélèvements associés à la toxicité typique (cluster I), l'autre incluant ceux associés à la toxicité atypique (cluster II). L'évolution de la nature de la toxicité a coïncidé avec un changement important de structure des assemblages de dinoflagellés entre fin avril et début mai.

L'analyse des données à partir des abondances de dinoflagellés montre que les assemblages de dinoflagellés caractérisant le cluster I (incluant la toxicité typique) sont représentés par *Ceratium lineatum*, les Gymnodiniaceae, *Protoperidinium* spp., *P. bipes* et deux espèces de *Prorocentrum* (*P. minimum* et *P. micans*, Annexe 14). Le groupe incluant les toxicités atypique (Figure 39) est représenté majoritairement par des dinoflagellés nus (de l'ordre de 40 % et 10 % pour les Gymnodiniacées et *Torodinium* respectivement), responsables en partie la dissimilarité entre les deux groupes.

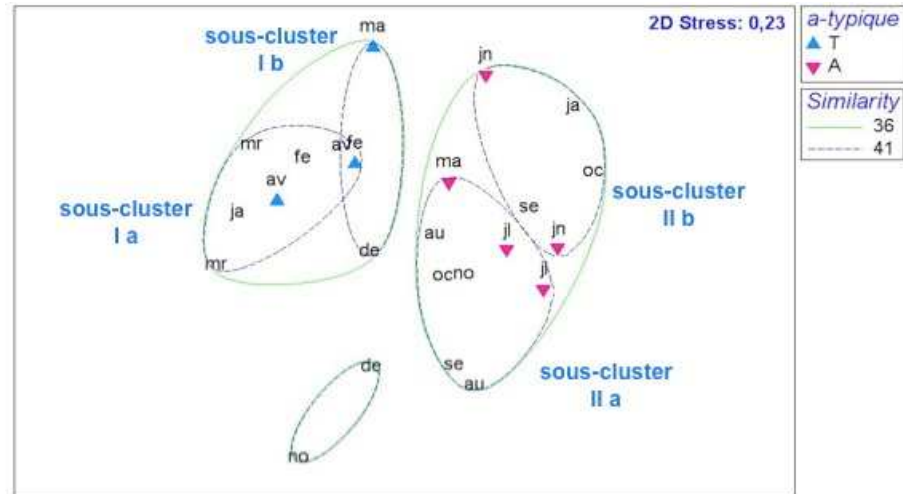


Figure 39. Analyse MDS réalisée à partir des abondances de dinoflagellés dénombrés à Bouée 7 en 2008 (données soumises à une transformation racine carrée). Prélèvements labellisés en fonction du caractère typique (T) ou atypique (A) des toxicités. (NB : Les échantillons de février (fev) et avril (av) appartiennent au sous-cluster Ia).

A l'échelle annuelle, les analyses multivariées montrent une présence de *Dinophysis* spp. principalement entre février et avril (sous-cluster Ia, Figure 40), précédant en partie la période d'accumulation de DSP dans les moules (de fin avril à début juin). Les abondances maximales coïncident avec le début de cette accumulation de DSP. La contribution relative de *Dinophysis* spp. à la similarité intragroupe du sous-cluster Ia est de 4,78 %. Elle est supérieure à celle de *Dinophysis* spp. pour les autres sous-clusters.

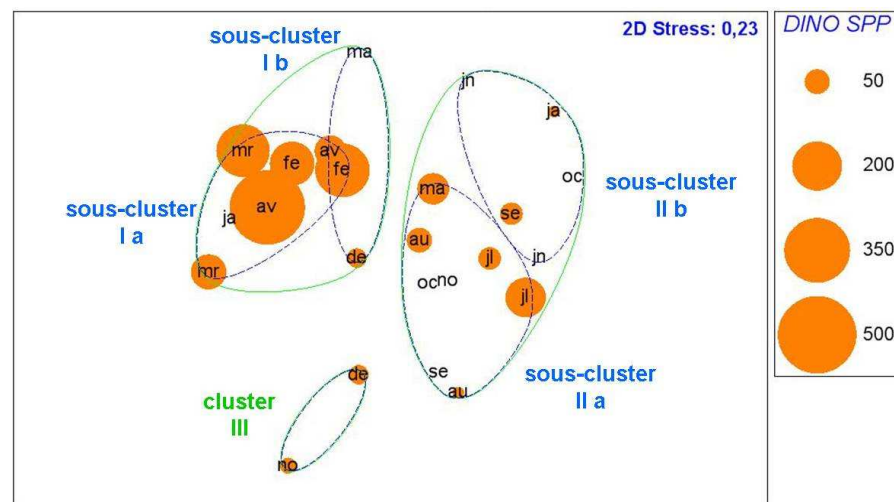


Figure 40. Abondances de *Dinophysis* spp. (cellules/L) reportées sur l'analyse MDS réalisée à partir des abondances des taxons de dinoflagellés dénombrés à Bouée 7 en 2008 (données soumises à une transformation racine carrée).

Le traitement des données en présence/absence met en évidence la dominance de *D. acuminata* durant la période de février à avril (sous-cluster Ia) puis de l'espèce *D. caudata* durant l'été et l'automne (sous-clusters IIa et IIb).

En conclusion, la différenciation des assemblages phytoplanctoniques en fonction des toxicités n'apparaît qu'à partir des flores de dinoflagellés. Le changement de qualification de la toxicité observé en mai est associé à une modification de la structure des assemblages de dinoflagellés qui ne s'avère cependant pas spécifique.

Au sein des différents assemblages de dinoflagellés associés aux épisodes toxiques, la plus forte contribution relative de *Dinophysis* spp. (4,78 %) est observée lors de l'épisode de toxicité typique. Au cours de cet épisode, le genre *Dinophysis* est représenté par *D. acuminata* tandis qu'au cours de l'été et de l'automne *D. caudata* domine.

2.7.7. Conclusion

Les analyses multivariées réalisées par année ne permettent pas de décrire des assemblages phytoplanctoniques caractéristiques des toxicités atypiques. En effet, les prélèvements correspondant aux périodes de toxicité atypique sont groupés avec des prélèvements de périodes non toxiques et/ou de toxicité typique. Les traitements effectués en présence/absence conduisent aux mêmes résultats.

En revanche, les analyses permettent de mettre en évidence la contribution particulière du genre *Dinophysis* aux périodes de toxicité typique. Le rôle joué par deux espèces de *Dinophysis* lors ces toxicités, *D. acuminata* et *D. caudata*, ressortent des analyses en présence/absence.

Par ailleurs, le contexte de survenue des épisodes atypique s'avère différent d'une année à l'autre.

En 2004, 2005 et 2008, ils font suite à une période de toxicité typique. Ce changement de toxicité typique en toxicité atypique n'est cependant jamais comparable ; en effet :

- en 2004, il s'accompagne d'une modification de la structure de la population totale (disparition de *Asterionellopsis glacialis*, diminution marquée des effectifs de *L. danicus* et *Chaetoceros* spp. et apparition en quantité importante de *Rhizosolenia fragilissima*) et de celle des dinoflagellés (diminution des effectifs sans apparition ou disparition de taxons) ;
- en 2005, seule la population de dinoflagellés est modifiée avec une diminution des effectifs de la plupart des taxons sauf *Torodinium* et les Péridiniales ;
- en 2008, de même seule la population de dinoflagellés est modifiée avec une diminution des effectifs de la plupart des taxons sauf les Gymnodiniaceae et *Torodinium*.

En 2006 et 2007, seuls des épisodes de toxicité atypique se produisent. Ils ne correspondent pas à des structures de population phytoplanctoniques comparables. En 2007, les prélèvements des périodes de toxicité atypique sont regroupés avec des prélèvements de périodes non toxiques, présentant une population de dinoflagellés caractérisée par les Gymnodiniacées, *Gyrodinium spirale* et *Scripsiella*.

2.8. Conclusion de la deuxième partie

Les principaux résultats obtenus par les analyses multivariées effectuées, sont les suivants.

- La structure des populations phytoplanctoniques étudiées depuis 1987 dans le Bassin d'Arcachon (station Teychan) ne présente pas de changements marqués au cours des 22 années de suivi, en particulier depuis 2004, année au cours de laquelle les premiers événements de toxicité atypique ont été observés.

- Les deux stations faisant l'objet d'un suivi de flore totale dans le Bassin d'Arcachon, Teychan et Bouée 7, montrent une évolution inter annuelle comparable permettant de ne retenir qu'une seule des deux stations pour la suite des analyses (Bouée 7).

- Les résultats des analyses des populations microalgales de la station Bouée 7, de 2003 à 2008, conduisent à définir trois saisons phytoplanctoniques (saisons froide, de transition et chaude) dont les limites temporelles pour chaque année peuvent être précisées. La saison chaude est caractérisée par les abondances phytoplanctoniques les plus élevées aussi bien pour les diatomées que pour les dinoflagellés ; c'est la période des blooms algaux qui peuvent se produire au printemps, en été ou parfois à l'automne. Ces blooms sont toujours très nettement dominés par les diatomées. Les toxicités atypiques surviennent toujours pendant la saison chaude. Une analyse multivariée réalisée pour cette seule saison ne permet cependant pas de mettre en évidence de populations phytoplanctoniques spécifiques aux épisodes de toxicité d'origine inconnue.

- Il en est de même pour les analyses réalisées par année, aussi bien sur les populations phytoplanctoniques totales que sur les seuls dinoflagellés, quelle que soit la transformation appliquée aux données d'abondance (racine carrée ou présence/absence)

- En revanche, les analyses permettent de mettre en évidence la contribution particulière du genre *Dinophysis*, et en particulier de *D. acuminata* (en traitement présence/absence), aux périodes de toxicité typique.

Les analyses effectuées ne permettent donc pas de décrire des assemblages de populations phytoplanctoniques liés aux toxicités atypiques. Elles montrent par ailleurs que le contexte phytoplanctonique des périodes de toxicité atypique n'est pas le même d'une période à l'autre.

Conclusion générale

Entre 1993 et 2009, 7 épisodes à *Dinophysis* ou à acide okadaïque (AO) ont été identifiés (en 1995, chaque année de 2002 à 2006, puis en 2008). Les premiers évènements de toxicité atypique sont apparus en 2004 sur les moules. Ils ont ensuite pris rapidement de l'ampleur, 17 épisodes de toxicité d'origine inconnue ayant été répertoriés entre 2004 et 2009, ceux des deux dernières années atteignant une durée de 4 mois. Il s'agit d'évènements bien installés, survenant toujours au cours des saisons printanières et estivales, entre les mois de mai et septembre. Le contexte de ces épisodes ne semble pas identique d'une année à l'autre. En 2004, 2005 et 2008, ils se produisent pendant -ou font suite à- la présence de dinophysistoxines ou de yessotoxines dans les coquillages. En 2006 et 2009, ils surviennent en l'absence de toute toxine connue.

Rappelons que les nombreux bio-essais réalisés de 1993 à 2009 à partir des hépatopancreas d'huîtres, ont pour une large part conduit à des résultats négatifs (86 %), y compris au cours des printemps et étés et qu'il est donc erroné de penser que la positivité des tests sur les huîtres soit apparue en même temps que l'augmentation de leur fréquence.

Globalement, les résultats des bio-essais montrent que les moules sont plus souvent et plus fortement toxiques pour les souris que les huîtres, aussi bien lors des épisodes de toxicité d'origine connue qu'inconnue. Par ailleurs, les périodes de toxicité atypique des huîtres sont en général incluses dans celles concernant les moules.

Ainsi, les résultats de bio-essais présentent une cohérence globale, confirmant la réalité d'un phénomène intéressant la colonne d'eau, susceptible d'atteindre l'hépatopancreas de différents types de mollusques, à des intensités plus ou moins fortes. Ces observations conduisent à émettre l'hypothèse d'une origine particulière de la toxicité inconnue. Son origine semblerait aussi être océanique (ce point est cependant à confirmer) comme dans le cas des toxicités typiques dues à *Dinophysis*.

De même, Belin *et al.* (2009) et Hess et Gentien (2009) concluent que les divergences obtenues entre les résultats des test souris et les analyses chimiques sont significatives et ne relèvent pas des incertitudes propres à chaque test. Il existe bien dans le milieu un agent producteur de toxines. Il faut rappeler que le Bassin d'Arcachon n'est pas le seul site à être atteint par des phénomènes de toxicité atypique, aussi bien en France qu'en Europe, même si ces évènements n'ont pas tous nécessairement la même origine.

Les liens entre les espèces phytoplanctoniques observées dans le cadre du REPHY et les toxicités sont globalement cohérents pour l'acide okadaïque et les pecténotoxines mais ne sont pas clairement établis pour les autres toxines (spiroïdes et yessotoxines).

On ne peut mettre en évidence de relation entre les périodes de toxicité d'origine inconnue et les unités taxinomiques phytoplanctoniques observées dans le cadre du REPHY, quelques jours avant, au début ou pendant ces épisodes.

Par ailleurs, il semble improbable que la stratégie d'échantillonnage ainsi que les techniques de dénombrement et d'identification développées dans le cadre du REPHY depuis plus de 20 ans, n'aient pas permis de repérer un taxon phytoplanctonique de taille supérieure à 20 µm dont la présence soit susceptible d'être liée aux toxicités d'origine inconnue. Il en est de même pour les espèces benthiques ou épiphytiques qui, pour être accumulées par les coquillages, doivent se trouver dans la colonne d'eau à un

moment ou à un autre. Les espèces de plus petite taille ($< 20 \mu\text{m}$), sous réserve que les cellules n'aient pas éclaté au Lugol, ne semblent pas non plus avoir pu échapper à l'observation, surtout si elles avaient été très abondantes. Cependant, ces deux derniers points nécessitent des investigations complémentaires pour être validés ou non.

Une seconde approche des relations entre phytoplancton et toxicité atypique des mollusques a donc été développée, consistant à étudier l'ensemble des populations phytoplanctoniques et l'évolution de leur structure au cours des différents épisodes caractérisés. Les principaux résultats sont les suivants.

- La structure des populations phytoplanctoniques étudiées depuis dans le Bassin d'Arcachon ne présente pas de changements marqués au cours des 22 années de suivi, en particulier depuis 2004, année au cours de laquelle les premiers événements de toxicité atypique ont été observés.
- Les résultats des analyses des populations microalgales de la station Bouée 7, de 2003 à 2008, conduisent à définir trois saisons phytoplanctoniques (saisons froide, de transition et chaude) dont les limites temporelles pour chaque année peuvent être précisées. La saison chaude est caractérisée par les abondances phytoplanctoniques les plus élevées aussi bien pour les diatomées que pour les dinoflagellés ; c'est la période des blooms algaux qui peuvent se produire au printemps, en été ou parfois à l'automne. Ces blooms sont toujours très nettement dominés par les diatomées. Les toxicités atypiques surviennent toujours pendant la saison chaude. Une analyse multivariée réalisée pour cette seule saison ne permet cependant pas de mettre en évidence de populations phytoplanctoniques spécifiques aux épisodes de toxicité d'origine inconnue.
- Il en est de même pour les analyses réalisées par année, aussi bien sur les populations phytoplanctoniques totales et que sur les seuls dinoflagellés. Les traitements effectués en présence/absence conduisent aux mêmes résultats.
- En revanche, les analyses statistiques effectuées permettent de mettre en évidence la contribution particulière du genre *Dinophysis* aux périodes de toxicité typique.

Les premières conclusions obtenues dans le cadre des autres tâches du PNA sont les suivantes.

- L'hypothèse d'une synergie entre contaminants chimiques persistants et toxines n'est pas retenue (Hess et Gentien, 2009).
- L'hypothèse de la toxicité d'esters de toxines connues ou de la synergie entre les toxines détectées est aussi éliminée par Dubois et Amzil (2009) (tâche T3a du PNA).
- L'hypothèse d'une interférence des bio-essais avec les acides gras n'a pas été non plus retenue par l'AFSSA (2009) (tâche T3f du PNA) ni celle d'un lien entre acides gras libres et abondance des diatomées (ce travail).

En ce qui concerne le phytoplancton, nous avons vu qu'aucun élément ne permet de relier les toxicités d'origine inconnue avec les unités taxinomiques ou la structure des populations phytoplanctoniques suivies dans le cadre du REPHY. Le réseau de surveillance REPHY ne répertorie pas toutes les espèces et, en particulier, donnant peu d'indications sur le nanoplancton (par exemple de la famille des Gymnodiniacées), et aucune sur le picoplancton (taille $> 2-3 \mu\text{m}$) ni sur les micromycètes, ce sont des pistes qui pourront être suivies lors des prochaines études.

Références bibliographiques

- Adolf J. E., Bachvaroff T., Place A. R. (2008). Can cryptophyte abundance trigger toxic *Karodinium veneficum* blooms in eutrophic estuaries ? *Harmful Algae*, **8** (1) : 119-128.
- AFSSA (2009). Programme de recherche « Arcachon » - Recherche des causes possibles des mortalités des souris intervenues dans le cadre de la surveillance des toxines lipophiles dans le Bassin d'Arcachon en 2005 et 2006. Rapport d'avancement des travaux n°6 : 31 p.
- Amzil Z. (2006). Guide d'information. Complexe des toxines lipophiles : diarrhéiques (DSP) et associées. Publication IFREMER : 16 p.
- Amzil Z., Sibat M., Royer F., Masson N., Abadie E. (2007). Report on the first detection of pectenotoxin-2, spirolide-A and their derivatives in french shellfish. *Mar. Drugs*, **5**, 168-179.
- Amzil Z., Sibat M., Royer F., Savar V. (2008). First report on azaspiracids and yessotoxins groups detection in french shellfish. *Toxicon*, **52**, 39-48.
- Amzil Z, Dubois N., Lassus P. (2009). Plan d'intervention rapide (PIR) – Toxicité atypique des coquillages d'Arcachon. IFREMER, Laboratoire Phycotoxines (EMP/PHYC). Rapport IFREMER : 11 p.
- Aquatox (2009). Recherches de Cyanobactéries dans les parcs à huîtres du Bassin d'Arcachon. Rapport d'analyses : 5 p.
- Auby I. (2006). Phytoplancton et phycotoxines. Bilan des connaissances générales. La surveillance dans le Bassin d'Arcachon. Note IFREMER : 13 p.
- Aune T, Larsen S., Aasen J., Rehmann N., Satake M. and Hess P. (2007). Relative toxicity of dinophysistoxin-2 (DTX-2) compared with okadaic acid, based on acute intraperitoneal toxicity in mice. *Toxicon*, **49** : 1-7.
- Bec B. (2008a). Identification et répartition spatio-temporelle du phytoplancton potentiellement toxique dans le Bassin d'Arcachon et sur le proche plateau continental. 70 p.
- Bec B. (2008b). Addendum - Identification et répartition spatio-temporelle du phytoplancton potentiellement toxique dans le Bassin d'Arcachon et sur le proche plateau continental. 28 p.
- Belin C., Raffin B. (1998). Les espèce phytoplanctoniques toxiques et nuisibles sur le littoral français de 1984 à 1995, résultats du REPHY (réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines). Rapport IFREMER RST.DEL/MP-AO 98-16, tome 1, 1-125.
- Belin C. (2001). Qualification des données REPHY dans QUADRIGE. Données phytoplancton 1987-2001. Septembre 2001.
- Belin C. (2002). Historique des méthodes associées aux tests souris DSP effectués à l'IFREMER depuis la création du REPHY (1984). Note interne IFREMER : 3 p.
- Belin C. (2004). Bilan sur 20 ans des interdictions administratives de vente et de ramassage des coquillages, pour présence de phycotoxines, sur le littoral français 1984-2003. IFREMER. Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral (DEL) : 84 p.
- Belin C. (2006). Document de prescription. Cahier de procédures et de programmation REPHY 2006. Rapport IFREMER : 80 p.
- Belin C. (2006). Tableau de synthèse de certains évènements de toxicité « atypique » recensés dans les données REPHY de 1992 à 2006. Document de travail IFREMER : 5 p.

- Belin C. (2009). Document de prescription. Cahier de procédures et de programmation REPHY 2009. Rapport IFREMER : 70 p.
- Belin C., Soudant D., Amzil Z. (2009). Surveillance des toxines lipophiles dans les coquillages. Analyse statistique et comparaison des résultats obtenus par deux méthodes d'analyse : les bio-essais sur souris et les analyses chimiques par CL-SM/SM. Rapport IFREMER dans le cadre de la Convention Etudes DGAL/IFREMER, Programme 206 : 94 p.
- Chapela M.J., Reboreda A., Vieites J.M., Cabado A.G. (2008). Lipophilic toxins analysed by liquid chromatography-mass spectrometry and comparison with mouse bioassay in fresh, frozen and processed molluscs. *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 8979-8986.
- Chomérat, N., Nézan, E. (2009). *Cabra reticulata* sp. nov. (Dinophyceae), a new sand-dwelling dinoflagellate from the Atlantic Ocean. *European Journal of Phycology*, **44** (3): 415-423.
- Chomérat N., Loir M., Nézan, E. (2009). *Sinophysis verruculosa* sp. nov. (Dinophysiales, Dinophyceae), a new sand-dwelling dinoflagellate from South Brittany, northwestern France. *Botanica Marina*, **52** (1) : 69-79.
- Chomérat N., Sellos D.Y., Zentz F., Nézan E. (2010a). Morphology and molecular phylogeny of *Prorocentrum consutum* sp. nov. (Dinophyceae), a new benthic dinoflagellate from South Brittany (northwestern France). *Journal of Phycology*, **46** (1) : 183 – 194.
- Chomérat N., Couté A., Nézan E. (2010b): Further investigations on the sand-dwelling genus *Cabra* (Dinophyceae, Peridiniales) in South Brittany (northwestern France), including the description of *C. aremorica* sp. nov. *Marine Biodiversity* **40**: in press.
- Dalloyau S., Trut G., Plus M., Auby I., Emery E. (2009). Caractérisation de la qualité biologique des Masses d'Eau Côtières : Cartographie des herbiers de *Zostera noltii* et *Zostera marina* du Bassin d'Arcachon. Rapport Ifremer RST /LER/AR/09-003, 52 p.
- Denardou-Queneherve A., Grzybk D., Pouchus Y.F., Sauviat M.P., Alliot E., Biard J.F., Berland B., Verbist J.F. (1999). Toxicity of French strains of the dinoflagellate *Prorocentrum minimum* in experimental and natural contaminations of mussels. *Toxicon*, **37** : 1711-1719.
- Dubois N., Amzil Z. (2009). Toxicité atypique des coquillages due à la synergie entre toxines et/ou à la présence d'esters de ces toxines (spirolides et pecténotoxines). Programme National Arcachon, tâche T3a. Bilan des travaux. Note IFREMER : 3 p.
- Edebo L., Langes S., Li X.P., Allenmark S., Lindgren K., Thompson R. (1988). Seasonal, geographic and individual variation of okadaic acid content in cultivated mussel in Sweden. *APMIS*, **96** : 1036-1042.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2008). Marine biotoxins in shellfish – Okadaic Acid and analogues, Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain, adopted on 27 November 2007. *EFSA Journal*, **589** : 1-62.
- IOC Taxonomic Reference List of Toxic Algae, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO 2004 (<http://www.bi.ku.dk/ioc/>).
- FAO/IOC/WHO (2005). *In*: report of the joint FAO/IOC/WHO and ad hoc expert consultation on biotoxins in bivalve molluscs. Oslo, Norway, Sep. 26-30, 2004 : 40 p.
- Foden J., Purdie D.A., Morris S., Nascimento S. (2005). Epiphytic abundance and toxicity of *Prorocentrum lima* populations in the Fleet Lagoon, UK. *Harmful algae*, **4** (6) : 1063.-1074.
- Gailhard I., Belin C. (2000). Données REPHY - Phytoplankton. Document de synthèse sur les codages taxinomiques des données REPHY dans la base Quadrigé. DEL/AO – DEL/MP, 14 p.
- Gentien P., Maurer D., Bechemin C. (2008). Plan d'intervention rapide en cas de toxicité atypique dans le Bassin d'Arcachon. Note interne IFREMER : 6 p + annexes.

- Glé C. (2007). Structure et dynamique des communautés microbiennes autotrophes et production primaire planctonique dans une lagune côtière macrotidale, le Bassin d'Arcachon. Facteurs de contrôle de type bottom-up. Thèse de l'Université Bordeaux 1, 309 p.
- Grzebyk D., Denardou A., Berland B., Pouchus F.Y. (1997). Evidence of a new toxin in the red-tide dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. *Journal of Plankton Research*, **19** (8) : 1111-1124.
- Gribble K. E. (2006). The ecology, life history and phylogeny of the marine thecate heterotrophic dinoflagellates *Protoperidinium* and *Diplopsalidaceae* (Dinophyceae), Ph. D. thesis, Massachusetts Institute of Technology/Woods Hole Oceanographic Institution : 295 pp.
- Gribble K. E., Anderson D. M. (2006). Molecular phylogeny of the heterotrophic dinoflagellates, *Protoperidinium*, *Diplopsalis* and *Preperidinium* (Dinophyceae), inferred from large subunit rDNA. *Journal of Phycology*, **42**: 1081-1095.
- Grossel H. (2006). Manuel d'observation et de dénombrement du phytoplancton marin - Document de méthode REPHY. Rapport IFREMER : 46 p.
- Guillocheau N. (1988). Répartition spatio-temporelle du phytoplancton du Bassin d'Arcachon. *Thèse Doctorat Université*, Université Aix-Marseille II, 156 pp.
- Hansen P.J. (1992). Prey size selection, feeding rates and growth dynamics of heterotrophic dinoflagellates with special emphasis on *Gyrodinium spirale*. *Marine Biology*, **114** : 327-334.
- Heil C.A., Glibert P.M., Fan C. (2005). *Prorocentrum minimum* (Pavillard) Schiller: A review of a harmful algal bloom species of growing worldwide importance. *Harmful Algae*, **4** : 449-470.
- Hess P. (2009). Of mice and mussels: performance of the EU harmonized mouse bioassay for azaspiracides and case studies of atypical toxicities. Keynote presentation at the 7th Intl. Conf. *Molluscan Shellfish Safety*, 14 – 19th June 2009, Nantes, France.
- Hess P. (2010). Requirements for screening and confirmatory methods for the detection and quantification of marine biotoxins in end-product and official control. *Anal. Bioanal. Chem.* DOI 10.1007/s00216-009-3444-y.
- Hess P., Gentien P. Les toxicités inexplicées du Bassin d'Arcachon. Programme Océan et Santé. Note interne IFREMER. Septembre 2009 : 2 p.
- Hoppenrath M., Koeman R.P.T., Leander B.S. (2009). Morphology and taxonomy of a new marine sand-dwelling *Amphidiniopsis* species (Dinophyceae, Peridinales), *A. aculeata* sp. nov., from Cap Feret, France. *Mar. Biol.*, **39** : 1-7.
- Howard M., Silver M., Kudela R.M. (2008). Yessotoxin detected in mussel (*Mytilus californicus*) and phytoplankton samples from the U.S. west coast. *Harmful Algae*. In press.
- Jeong H.J., Shim J.H., Kim J.S., Park J.Y., Lee C.W., Lee Y. (1999). Feeding by the mixotrophic thecate dinoflagellate *Fragilidium* cf. *mexicanum* on red-tide and toxic dinoflagellates. *MEPS*, **176** : 263-277.
- de la Iglesia, Canete E., Caillaud A., Fernandez M., Campas M., Diogene J. (2009). Evaluation of DSP mouse bioassay positive mussel samples (*Mytilus Edulis*) from the NW mediterranean with LC-MS/MS, cell based assays and phosphatase inhibition assay. Abstract ICMSS, IFREMER Nantes, juin 2009.
- ITERG (2007). Rapport d'essais. Dosage en acides gras libres et acides gras totaux sur hépatopancreas d'huîtres. CPN/07/06/016 : 9 p.

ITERG (2008). Rapport d'étude de l'influence du lieu de culture et de la saison de pêche sur la composition en acides gras libres d'hépatopancréas d'huîtres du Bassin d'Arcachon (Programme AFSSA). CPN/08/03/06 : 12 p.

Kempton J.W., Lewitus A.J., Deeds J.R., Law J.M., A.R. Place (2002). Toxicity of *Karlodinium micrum* (Dinophyceae) associated with a fish kill in a South Carolina brackish retention pond. *Harmful Algae*, **1** : 233-241.

Koike K., Horie Y., Suzuki T., Kobiyama A., Kurihara K., Takagi K., Kaga S.N., Oshima Y. (2005). *Protoceratium reticulatum* in northern Japan : environmental factors associated with seasonal occurrence and related contamination of yessotoxins in scallops. *Journal of Plankton Research*, **28** (1) : 103-112.

Lassus P, Marcaillou-Le Baut C. (2001). Contamination, transformation et détoxification des produits marins. In : Toxines algales dans l'alimentation. Frémy J.-M. & Lassus P. (coord.). Ed. Ifremer, 401-446.

Lassus P., Bardouil M., Beliaeff B., Bougrier S., Gubbins M., Masselin P., Mornet F., Thébaud O., Truquet P. (2002). Coquillages contaminés par des phycotoxines paralysantes : vers une procédure de détoxification. Bilans et Perspectives. Ed. Ifremer, 47 p.

LER Arcachon (2005). Bilan de la crise phycotoxines sur le Bassin d'Arcachon en 2005. Note IFREMER : 27 p.

LER Arcachon (2006). Bilan de la crise phycotoxines sur le Bassin d'Arcachon en 2006. Note IFREMER : 35 p.

LER Arcachon (2007). Bilan de la crise phycotoxines sur le Bassin d'Arcachon en 2007. Note IFREMER : 5 p.

LER Arcachon (2008). Bilan de la crise phycotoxines sur le Bassin d'Arcachon en 2008. Note IFREMER : 9 p.

LER Arcachon (2009). Bilan de la crise phycotoxines sur le Bassin d'Arcachon en 2009. Note IFREMER : 9 p.

Levasseur M., Couture J.Y., SAUVÉ G., Michaud S. (2001). Contamination des mollusques du Québec par les phycotoxines diarrhéiques (DSP) et amnestiques (ASP) et recherche des sources potentielles de phycotoxines DSP. Rapp. tech. can. sci. halieut. aquat., 2350, 41 p.

Marcaillou-Le Baut C. (2006). The toxins of marine microalgae. *Biofutur* (Lavoisier), **272** : 35-39.

Nézan E., Chomérat N. (2009). *Fragilidium duplocampanaeforme* sp. Nov. (Dinophyceae) : A new phagotrophic dinoflagellate from the French Atlantic coast. *European Journal of Protistology*, **45** (1) : 2-12.

Plus M., Maurer D., Stanisière J.Y., Dumas F. (2006). Caractérisation des composantes hydrodynamiques d'une lagune mésotidale, le Bassin d'Arcachon. PNEC Chantier Littoral Atlantique. Rapport IFREMER RST/LER/AR/06.007 : 54 p.

Rhodes L., McNabb P., de Salas M., Briggs L., Beuzenberg V., Gladstone M. (2006). Yessotoxin production by *Gonyaulax spinifera*. *Harmful Algae*, **5** : 148-155.

Rhodes L., Smith K., Selwood A., McNabb P., van Ginkel R., Holland P., Munday R. (2010). Production of pinnatoxins by a peridinoid dinoflagellate isolated from Northland, New Zealand. *Harmful Algae*. Article sous presse : 6 p.

Roeder K., Dressler N., Gerdt G., Luckas B. (2009). Accumulation and metabolism of yessotoxins produced by *Protoceratium reticulatum* in blue mussel (*Mytilus edulis*) and pacific oyster (*Crassostrea gigas*). Abstract ICMSS, IFREMER Nantes, juin 2009.

- Skovgaard A., Hansen P.J., Stoecker D.K. (2000). Physiology of the mixotrophic dinoflagellate *Fragilidium subglobusum*. I. Effects of phagotrophy and irradiance on photosynthesis and carbon content. *Marine Ecology Progress Series*, **201** : 129-136.
- Stoecker D.K., Adolf J.E., Place A.R., Glibert P.M., Meritt D.W. (2008). Effects of the dinoflagellate *Karlodinium veneficum* and *Prorocentrum minimum* on early life history stages of the eastern oyster (*Crassostrea virginica*). *Mar. Biol.*, **154** : 81-90.
- Tillmann U., Elbrächter M., Krock B., John U., Cembella A. (2009). *Azadinium spinosum* gen. et sp. nov. (Dinophyceae) identified as a primary producer of azaspiracid toxins. *European Journal of Phycology*, **44** : 63-79.
- Wilkins A.L., Rehmann N., Torgersen T., Rundberget T., Keogh M., Petersen D., Hess P., Rise F., Miles C. O. (2006). Identification of fatty acid esters of pectenotoxin-2 seco acid in blue mussels (*Mytilus edulis*) from Ireland. *J. Agric. Food Chem.*, **54** : 5672-5678.
- Witek B., Plinsky M. (2000). The first recorded bloom of *Prorocentrum minimum* (Pavillard) Schiller in the coastal zone of the Gulf of Gdańsk. *Oceanologia*, **42** (1) : 29-36.
- Yasumoto T., Murata M., Oshima Y., Matsumoto G.K., Clardy J., 1984. Diarrhetic Shellfish Poisoning. In: *Sea Food Toxins*, Ragelis E.P. (ed). ACS symposium series, n° 262 : 208-214.
- Zhang H., Litaker W., Vandersea M. W., Tester P., Lin S. (2008). Geographic distribution of *Karlodinium veneficum* in the US east coast as detected by ITS-ferredoxin real-time PCR assay. *Journal of Plankton Research*, **30** (8) : 905-922.

ANNEXES

Annexe 1. Liste des 95 taxons retenus pour l'analyse de la structure des populations phytoplanctoniques

ACHN	DIAT	Achnanthes
ALEX SPP	DINO	Alexandrium spp.
ASTE SPP	DIAT	Asterionellopsis spp.
ASTEGLA	DIAT	Asterionellopsis glacialis
BACT	DIAT	Bacteriastrium
BIDD SPP	DIAT	Biddulphia spp.
CERAPEL	DIAT	Cerataulina pelagica
CERI SPP	DINO	Ceratium spp.
CERIFUR	DINO	Ceratium furca
CERIFUS	DINO	Ceratium fusus
CERILIN	DINO	Ceratium lineatum + minutum
CERITRP	DINO	Ceratium tripos + Ceratium à cornes recourbées
CHAE SPP	DIAT	Chaetoceros spp.
CLCHLOR	CHLOR	Classe Chlorophycées
CLCHRYS	CHRYS	Classe Chrysophycées
CLEUGLE	EUGLE	Classe Euglenophycées
COCC	DIAT	Cocconeis
COCO	DINO	Cochlodinium
CORE SPP	DIAT	Corethron spp.
COSC	DIAT	Coscinodiscus + Stellarima
CYCLICLO	DIAT	Cylindrotheca closterium
DICT	CHRYS	Dictyocha
DINO SPP	DINO	Dinophysis spp.
DIPO	DINO	Diplopsalis+Diplopelta+Diplopsalopsis+Zygabikodinium+Oblea
DISS	DINO	Dissodinium + Pyrocystis
DITYBRI	DIAT	Ditylum brighwellii
EUCPZOD	DIAT	Eucampia zoodiacus
FMBIDDU	DIAT	Famille Biddul
FMGYMNO	DINO	Famille Gymnodiniaceae
FMNAVIC	DIAT	Famille Naviculaceae
FMNITZS	DIAT	Famille Gymnodiniaceae
FMOXYTA	DINO	Famille Gymnodiniaceae
FRAI	DINO	Fragilidium
GONIPOL	DINO	Goniodoma polyedricum
GONY	DINO	Gonyaulax
GONYSPI	DINO	Gonyaulax spinifera
GRAM SPP	DIAT	Grammatophora spp.
GUINFLA	DIAT	Guinardia flaccida
GYMNNAG	DINO	Gymnodinium nagasakiense
GYROSPI	DINO	Gyrodinium spirale
HEMI	DIAT	Hemiaulus
HETC SPP	DINO	Heterocapsa spp.
HETGCAR	RAPHI	Heterosigma akashiwo
LAUD	DIAT	Lauderia + Schroederella
LEPT	DIAT	Leptocylindrus
LEPTDAN	DIAT	Leptocylindrus danicus + curvatus
LEPTMIN	DIAT	Leptocylindrus minimus

LICM	DIAT	Licmophora
LINGPOL	DINO	Lingulodinium polyedrum
LITH	DIAT	Lithodesmium
MELO SPP	DIAT	Melosira
MESORUB	CILIE	Mesodinium rubrum
MICN	DINO	Micracanthodinium
NITZLON	DIAT	Nitzschia longissima
ODON SPP	DIAT	Odontella spp.
ORCENTR	DIAT	Ordre des Centrales
ORCOCCO	PRYMN	Ordre des Coccolithophorides
ORCRYPT	CRYPT	Ordre Cryptomonadales
ORNOCTI	DINO	Ordre des Noctilucales
ORPENNA	DIAT	Ordre Pennales
ORPERID	DINO	Ordre Peridinales
OXYP	DINO	Oxyphysis
PARAMAR	DIAT	Paralia marina
PLESGYR	DIAT	Pleurosigma + Gyrosigma
POLY	DINO	Polykrikos
PROBALA	DIAT	Proboscia alata var. alata
PROI SPP	DINO	Protoperidinium spp.
PROIBIP	DINO	Protoperidinium bipes
PROR SPP	DINO	Prorocentrum spp.
PRORMIC	DINO	Prorocentrum micans + arcuatum + gibbosum
PRORMIN	DINO	Prorocentrum minimum + balticum + cordatum
PROTRET	DINO	Gonyaulax grindleyi
PSEL	DINO	Pselodinium
PSNZ SPP	DIAT	Pseudonitzschia spp.
PYRP	DINO	Pyrophacus
RHIZ SPP	DIAT	Rhizosolenia spp.
RHIZDEL	DIAT	Rizosolenia delicatula
RHIZFRA	DIAT	Rizosolenia fragilissima
RHIZIMB	DIAT	Rhizosolenia imbricata + styloformis
RHIZIND	DIAT	Proboscia alata var. alata
RHIZROB	DIAT	Rhizosolenia robusta
RHIZSET	DIAT	Rhizosolenia setigera + pungens
RHIZSTO	DIAT	Rhizosolenia sstolterfothii
SCRI	DINO	Scripsiella + Ensiculifera + Pentapharsodinium + Bysmatrum
SKELCOS	DIAT	Skeletonema costatum
STAUMEM	DIAT	Stauropsis membranacea
STEX	DIAT	Stephanopyxis
STRE	DIAT	Helicotheca
STRI	DIAT	Striatella
THAA	DIAT	Thalassionema + Thalassiothrix + Lioloma
THAANIT	DIAT	Thalassionema nitzschioides
THAL SPP	DIAT	Thalassiosira spp.
TORO	DINO	Torodinium
TRIC	DIAT	Triceratium
WARN	DINO	Warnowia + Nematodinium + Nematopsides

DIAT	Diatomées	51 taxons
DINO	Dinoflagellés	36 taxons
CRYPT	Cryptophycées	8 taxons
EUGLE	Euglénophycées	
CHRY	Chrysophycées	
PRYMN	Prymnémiophycées	
RAPHI	Raphidophycées	
CHLOR	Chlorophycées	
CILIE	Ciliés	

Annexe 2. Indice de similarité de Bray-Curtis

$$S_{jk} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^p |y_{ij} - y_{ik}|}{\sum_{i=1}^p (y_{ij} + y_{ik})}$$

Similarité S entre deux prélèvements j et k où :

- chaque prélèvement contient p taxons
- y_{ij} est l'effectif du taxon i dans le prélèvement j, y_{ik} dans le prélèvement k

L'indice de Bray-Curtis conduit à un résultat dominé par les taxons les plus abondants. La transformation des données (par exemple racine carrée) permet de diminuer cette importance en redonnant plus de poids aux espèces rares.

2003

Annexe 3. Contribution et contribution cumulée des taxons de flores totales (> 5 %) à la similarité intragroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 de 2003 à 2008 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores totales phytoplanctoniques						
Saison	Similarité intragroupe	Taxon	Classe	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
Été	40,3	CHAE SPP	Diat.	154,98	15,90	15,90
		LEPTDAN	Diat.	177,08	12,44	28,34
		LEPTMIN	Diat.	119,89	9,66	38,00
		PSNZ SPP	Diat.	160,52	8,46	46,46
Transition	43,3	ASTEGLA	Diat.	210,61	19,82	19,82
		CHAE SPP	Diat.	83,79	7,84	27,66
		NITZLON	Diat.	52,34	7,47	35,13
		PARAMAR	Diat.	42,04	5,88	41,01
		PSNZ SPP	Diat.	48,26	4,65	45,66
Hiver	41,7	PARAMAR	Diat.	51,78	16,20	16,20
		NITZLON	Diat.	44,32	12,52	28,72
		FMGYMNO	Dino.	31,64	8,62	37,33
		CHAE SPP	Diat.	43,49	7,74	45,07
		ASTEGLA	Diat.	32,64	7,63	52,70
		PSNZ SPP	Diat.	37,12	6,64	59,34
		ORCENTR	Diat.	21,85	5,15	64,49
Hors saison	39,3	CHAE SPP	Diat.	59,89	21,37	21,37
		NITZLON	Diat.	27,43	10,55	31,92
		TORO	Dino.	21,76	8,87	40,80
		ORPERID	Dino.	21,10	6,22	47,01
		CERITRP	Dino.	14,53	5,76	52,77
		PROBALA	Diat.	14,23	5,16	57,93

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

Annexe 4. Contribution et contribution cumulée des taxons de flores totales (> 4 %) à la similarité intragroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2003 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores totales phytoplanctoniques						
Cluster	Similarité intragroupe	Taxon	Classe	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
I saison de transition	48,9	ASTE GLA	Diat.	175,58	22,02	22,02
		NITZLON	Diat.	52,58	8,75	30,77
		PARAMAR	Diat.	47,76	7,77	38,54
		RHIZDEL	Diat.	44,48	7,05	45,60
		THAANIT	Diat.	44,46	6,01	51,61
		THAL SPP	Diat.	57,57	5,15	56,76
II saison chaude puis de transition	45,9	CHAE SPP	Diat.	147,00	16,42	16,42
		NITZLON	Diat.	59,33	6,10	22,51
		RHIZ STO	Diat.	69,88	5,72	28,23
		PSNZ SPP	Diat.	59,88	5,40	33,64
		ASTE GLA	Diat.	106,87	5,40	39,04

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

2004

Annexe 5. Contribution et contribution cumulée des taxons de flores totales (> 5 %) à la similarité intragroupe des clusters IIa et IIb définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2004 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores totales phytoplanctoniques							
Mois	Cluster	Similarité intragroupe	Taxon	Classe	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
fin avril à juin	IIa toxicité typique	58,81	CHAE SPP	Diat.	267,16	13,50	13,50
			LEPTDAN	Diat.	256,81	13,39	26,89
			LEPTMIN	Diat.	118,57	7,50	34,39
			FMGYMN	Dino.	82,86	6,00	40,39
juillet	IIb toxicité atypique	57,62	RHIZFRA	Diat.	233,89	33,99	33,99
			CHAE SPP	Diat.	149,42	14,53	48,51
			NITZLON	Diat.	67,08	11,05	59,57
			FMGYMN	Dino.	53,78	8,50	68,06

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

Annexe 6. Contribution et contribution cumulée des taxons de flores totales (> 5 %) à la dissimilarité intragroupe des clusters IIa et IIb définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2004 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores totales phytoplanctoniques							
Cluster	Dissimilarité intragroupe	Taxon	Classe	Abondance* moyenne cluster IIa toxicité typique	Abondance* moyenne cluster IIb toxicité atypique	Contribution %	Contribution cumulée %
IIa vs IIb	57,17	LEPTDAN	Diat.	256,81	20,00	13,24	13,24
		RHIZFRA	Diat.	28,84	233,89	12,18	25,42
		CHAE SPP	Diat.	267,16	149,42	9,88	35,30
		ASTE GLA	Diat.	99,85	0,00	5,35	40,65
		LEPTMIN	Diat.	118,57	72,46	4,92	45,56

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

2004 (suite)

Annexe 7. Contribution et contribution cumulée des taxons de dinoflagellés (> 5 %) à la dissimilarité intergroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2004 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores de dinoflagellés						
Cluster	Dissimilarité intergroupe	Taxon	Abondance* moyenne	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
I vs. II	52,59		Cluster II (incluant toxicité typique)	Cluster I (incluant toxicité atypique)		
		CERIFUS	50,23	4,47	11,53	11,53
		SCRI	67,39	21,04	11,47	23,00
		PROIBIP	51,60	10,98	10,44	33,44
		GYMNNAG	37,81	4,86	8,39	41,83
		FMGYMNO	82,86	52,18	7,88	49,71
		GYROSPI	42,44	27,88	5,87	55,58
		ORNOCTI	23,59	2,98	5,17	60,75
		ALEX SPP	19,70	0,00	5,02	65,77

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

Annexe 8. Contribution et contribution cumulée des taxons de dinoflagellés à la similarité (> 5 %) intragroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2004 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores de dinoflagellés					
Cluster	Similarité intragroupe	Taxon	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
I incluant toxicité atypique	60,93	FMGYMNO	52,18	33,30	33,30
		TORO	32,70	18,42	51,72
		GYROSPI	27,88	15,26	66,98
		SCRI	21,04	11,02	78,00
		PROI SPP	16,21	7,22	85,22
		PROIBIP	10,98	3,74	88,96
		CERIFUR	9,22	2,64	91,60
		DINO SPP	7,11	2,23	93,83
II incluant toxicité typique	70,17	FMGYMNO	82,86	17,92	17,92
		SCRI	67,39	14,51	32,43
		PROIBIP	51,60	9,52	41,95
		CERIFUS	50,23	8,70	50,66
		GYMNNAG	37,81	7,68	58,34
		TORO	31,28	7,04	65,38
		GYROSPI	42,44	6,91	72,28
		ORNOCTI	23,59	5,43	77,71
		DINO SPP	18,85	4,75	82,46

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

2005

Annexe 9. Contribution et contribution cumulée des taxons de flores totales (> 5 %) à la similarité intragroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2005 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores totales phytoplanctoniques						
Cluster	Similarité intragroupe	Taxon	Classe	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
II saison de transition	46,69	ASTEGLA	Diat.	496,17	42,31	42,31
		SKELCOS	Diat.	239,08	17,05	59,36
		CHAE SPP	Diat.	148,15	10,59	69,95
		NITZLON	Diat.	57,36	5,08	75,03
III saison chaude	47,93	LEPTMIN	Diat.	140,55	16,01	16,01
		CHAE SPP	Diat.	99,34	13,39	29,39
		LEPTDAN	Diat.	123,82	12,69	42,08
		PSNZ SPP	Diat.	98,44	11,16	53,25
		NITZLON	Diat.	40,47	5,68	58,93

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

Annexe 10. Contribution et contribution cumulée des taxons de dinoflagellés à la similarité (> 5 %) intragroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2005 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores de dinoflagellés					
Cluster	Similarité intragroupe	Taxon	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
IIa incluant toxicité typique	52,30	CERIFUS	32,58	16,24	16,24
		DINO SPP	30,66	16,17	32,41
		SCRI	30,23	12,81	45,22
		FMGYMNO	30,71	10,46	55,69
		GYROSPI	24,68	10,16	65,84
		CERILIN	22,66	9,69	75,54
		PROI SPP	23,34	7,64	83,17
IIb incluant toxicité atypique	58,49	ORPERID	30,16	24,84	24,84
		TORO	25,42	21,17	46,01
		PROI SPP	17,47	13,13	59,14
		GYROSPI	18,93	10,41	69,55
		SCRI	19,06	10,06	79,61
		DINO SPP	12,10	8,38	88,00
		CERITRP	12,15	7,04	95,04
I incluant toxicité atypique	52,78	FMGYMNO	33,26	41,62	41,62
		TORO	23,48	29,24	70,86
		GYROSPI	15,76	11,20	82,06
		PROI SPP	10,49	10,48	92,54

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

2005 (suite)

Annexe 11. Contribution et contribution cumulée des taxons de dinoflagellés à la dissimilarité (> 5 %) intergroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2005 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores de dinoflagellés						
Cluster	Dissimilarité intergroupe	Taxon	Abondance* moyenne	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
IIa vs. IIb	57,59		Cluster IIa (incluant toxicité typique)	Cluster IIb (incluant toxicité atypique)		
		FMGYMNO	30,71	6,24	9,77	9,77
		CERIFUS	32,58	7,40	9,70	19,47
		ORPERID	20,90	30,16	8,74	28,21
		CERILIN	22,66	1,11	8,66	36,86
		DINO SPP	30,66	12,10	7,24	44,10
		TORO	10,16	25,42	6,69	50,79
		SCRI	30,23	19,06	6,64	57,43
		GYROSPI	24,68	18,93	6,06	63,50
		PROI SPP	23,34	17,47	5,48	68,97

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

2006

Annexe 12. Contribution et contribution cumulée des taxons de flores totales (> 5 %) à la similarité intragroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2006 (données soumises à une transformation racine carrée). * : taxons appartenant à la classe des dinoflagellés.

Flores totales phytoplanctoniques						
Saison	Cluster	Similarité intragroupe	Taxons	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
saison de transition	Ia	43,43	ASTEGLA	234,69	20,45	20,45
			CHAE SPP	97,17	9,41	29,86
			NITZLON	48,33	7,39	37,25
			THAL SPP	103,59	6,47	43,72
			PARAMAR	45,85	6,18	49,90
			ORPERID*	36,77	5,41	55,31
saison de transition	Ib	46,38	PARAMAR	38,65	11,80	11,80
			PSNZ SPP	40,48	10,50	22,31
			NITZLON	25,37	10,09	32,40
			ORPERID*	27,99	9,62	42,02
			TORO*	22,51	8,53	50,55
			GYROSPI	20,88	7,41	57,96
			ASTEGLA	27,60	7,17	65,13
			PLESGYR	14,49	5,53	70,66
			FMGYMNO*	17,73	5,45	76,11
			SCRI*	18,44	5,10	81,21
saison chaude mai-juin	IIa incluant toxicité atypique	52,28	LEPTDAN	417,85	23,43	23,43
			PSNZ SPP	234,17	16,22	39,66
			CHAE SPP	145,64	9,63	49,28
			BACT	81,25	6,68	55,96
saison chaude juillet-août	IIb incluant toxicité atypique	46,60	CHAE SPP	135,13	23,58	23,58
			BACT	82,38	7,14	30,72
			CERAPEL	57,52	6,92	37,64
			LEPTDAN	52,05	5,99	43,62
			LEPTMIN	58,42	5,69	49,31
			NITZLON	28,51	5,52	54,83

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.

2007

Annexe 13. Contribution et contribution cumulée des taxons de dinoflagellés (> 5 %) à la similarité intragroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2007 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores de dinoflagellés					
Cluster	Similarité intragroupe	Taxon	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
I	45,99	TORO	28,50	44,84	44,84
		GYROSPI	12,07	24,26	69,10
		FMGYMNO	15,61	17,21	86,31
		ORPERID	14,14	9,30	95,60
IIa incluant toxicité atypique	57,79	FMGYMNO	59,81	25,35	25,35
		SCRI	52,95	20,65	45,99
		GYROSPI	38,80	17,13	63,13
		TORO	21,60	9,95	73,07
		PROI SPP	18,55	6,54	79,61

* $\sqrt{\text{des effectifs exprimés en cellules/L.}}$

2008

Annexe 14. Contribution et contribution cumulée des taxons de dinoflagellés (> 4 %) à la similarité intragroupe des clusters définis par la classification hiérarchique à partir des abondances dénombrées à Bouée 7 en 2008 (données soumises à une transformation racine carrée).

Flores de dinoflagellés					
Cluster	Similarité intragroupe	Taxon	Abondance* moyenne	Contribution %	Contribution cumulée %
I incluant toxicité typique	47,68	CERILIN	43,09	18,84	18,84
		FMGYMNO	32,03	18,52	37,36
		SCRI	36,38	16,25	53,61
		PROI SPP	20,97	10,40	64,01
		PRORMIN	22,14	9,38	73,39
		PRORMIC	13,98	5,05	78,44
		DINO SPP	9,91	4,04	82,47
II incluant toxicité atypique	45,27	FMGYMNO	45,44	43,63	43,63
		PROI SPP	17,42	12,53	56,16
		TORO	14,66	11,70	67,86
		SCRI	14,06	7,05	74,91
		HETC SPP	12,56	6,74	81,65

* √ des effectifs exprimés en cellules/L.