

H500H201-RAP-R

67861
H500H201
RAP.
R.

IFREMER
BIBLIOTHEQUE
LA TREMBLADE

**RAPPORT SUR LES CAUSES DES MORTALITES D'HUITRES
CREUSES OBSERVEES EN JUIN 1992 SUR LE BANC DE
RONCE LES BAINS (BASSIN DE MARENNES-OLERON)**

IFREMER Bibliothèque de la Tremblade



OLR 02788

Document préparé par les laboratoires et unités de recherche de la station IFREMER de La Tremblade, avec le concours des laboratoires de La Trinité sur Mer, de Palavas et de Nantes (écotoxicologie), sur la réquisition des services de Gendarmerie.

Septembre 1992



IFREMER

**RAPPORT SUR LES MORTALITES D'HUITRES OBSERVEES DANS LA
PREMIERE SEMAINE DU MOIS DE JUIN 1992, SUR LE BANC DE
RONCE LES BAINS (COMMUNE DE LA TREMBLADE)**

Dès le 4 JUIN 1992, un ostréiculteur digne de confiance avait signalé aux services d'IFREMER, une situation anormale sur le banc de Ronce les Bains. Un premier prélèvement a été effectué le jour même. En effet, ce secteur avait déjà été le lieu de mortalités d'huîtres estimées à 7 000 tonnes, au printemps 1988, et s'est révélé par le passé comme étant un endroit sensible. Pour information, figure en annexe le rapport établi en 1988, à destination du Préfet de la Charente-Maritime. Ces mortalités ayant rapidement pris de l'ampleur, un dépôt de plainte contre X a été effectué par la Section Régionale de la Conchyliculture. A la suite de quoi, les services d'IFREMER ont été requis par la Gendarmerie Nationale (Brigade de Marennes) le 10 juin 1992, pour procéder, en présence des officiers de police judiciaire, aux prélèvements nécessaires d'huîtres, de sol, et d'eaux et aux analyses afin de déterminer la cause de la mortalité.

I - METHODOLOGIES

L'état des connaissances et l'expérience des services d'IFREMER en matière de mortalités d'huîtres, conduisent à examiner cinq causes principales pouvant être à l'origine du sinistre. Il s'agit de l'action d'événements climatiques, de maladies contagieuses propres aux mollusques, de perturbations physiologiques d'origine naturelle ou de l'action de substances toxiques pour les mollusques, d'origine humaine (polluants) ou de l'action de substances toxiques d'origine naturelle (par exemple, espèces du phytoplancton comme *Gyrodinium s.s.p.*).

La détermination a posteriori de facteurs de mortalités nécessite donc d'effectuer les analyses nécessaires, mais aussi de rechercher l'existence de conditions pouvant entraîner la mort des mollusques, ou y avoir contribué. La possibilité d'exploiter des données environnementales a donc été utilisée. De même, les suivis de population effectués régulièrement permettent de comparer, sur le plan des caractéristiques saisonnières, des populations indemnes, et les populations affectées par les mortalités, ayant fait l'objet d'analyses spécifiques.

Les observations effectuées sur le terrain et les données météorologiques permettent d'éliminer d'emblée deux des facteurs mentionnés, à savoir les conditions climatiques et la présence d'espèces phytoplanctoniques toxiques. En effet, d'une part aucune tempête, aucune pluie anormale, n'ont été signalées dans les semaines précédant l'épisode de mortalité. On notera que des réseaux d'observation signalent une température de l'air supérieure à la moyenne de 2 à 3 degré sur la deuxième partie du mois de juin, sans que cela puisse être considéré comme anormal. D'autre part, aucune espèce de phytoplancton toxique pour les mollusques en concentration suffisante, n'a été décelée par les réseaux d'observation (REPHY).

Sur le terrain (banc de Ronce les Bains), les observations effectuées lors des constats de gendarmerie, ainsi qu'ultérieurement en diverses occasions, étaient les suivantes. Les mortalités différaient très largement d'un secteur à l'autre, deux parcs voisins pouvant être l'un indemne, et l'autre touché à 50%. Le maximum observé a été de 60% de mortalité. La répartition géographique des mortalités présentait un caractère aléatoire. Aucun lien avec le sens du courant dominant, la proximité du rivage, ou même le niveau bathymétrique n'a été établi. Aucun gradient géographique n'a pu donc être observé.

Par contre, deux faits sont apparus très clairement : tout d'abord seul l'élevage à plat était concerné. L'élevage en surélévation, sur table ostréicole, ne faisait l'objet d'aucune mortalité anormale. D'autre part, parmi les différentes classes d'âge en élevage, de 1 à 4 ans, seules les plus jeunes huîtres, nées en 1991 si l'on en juge par leur taille, ont été concernées par des mortalités anormales. Les huîtres plus âgées ne présentaient que des taux de mortalités habituelles (0 à 5% depuis la mise en place).

Une deuxième observation pourrait être faite : les mortalités récentes se présentaient par tâches dont on a vu la distribution aléatoire. L'existence de ces tâches est fréquemment observée au début d'une mortalité sur l'élevage au sol. Elle semble liée au fait que les matières organiques en décomposition ont tendance à stagner, et donc à gêner considérablement les huîtres alentour, par ailleurs souvent aussi stressées que les huîtres mortes.

En fonction de ces observations préliminaires, trois hypothèses ont été examinées. Elles concernent l'apparition d'une maladie infectieuse, pouvant être d'origine parasitaire, bactérienne ou virale, l'action de substances toxiques pour les mollusques (certains polluants), les conditions physiologiques concernant les cheptels ostréicoles.

Les méthodes employées en pathologie sont celles de l'anatomie, et de l'histologie, en microscopie optique et électronique. La fixation des chairs a été effectuée sur une partie des huîtres récoltées lors du constat.

La recherche de substances toxiques a été réalisée aussi bien sur l'eau et le sol, que sur les chairs. En effet, en plus des analyses d'usage, il est maintenant possible d'établir si un organisme a été mis ou non en contact avec certains polluants organiques, même si ceux-ci ne sont plus retrouvés dans l'eau ou le sol au moment des prélèvements, du fait des courants dominants et du brassage dû aux vagues. Les perturbations des systèmes enzymatiques sélectifs peuvent alors être mesurées, par rapport à des animaux indemnes (voir annexe 1 pour la méthodologie).

Enfin, les conditions physiologiques des huîtres sont mises en évidence par les variations de certaines classes de composés biochimiques, comme le glycogène qui sert à la fois de réserve énergétique et de précurseur pour la

biosynthèse d'acides gras. Les teneurs de ce composé résultent des disponibilités nutritives et de la consommation métabolique. De même l'analyse des lipides permet de confirmer les observations faites à partir du glycogène.

II - ANALYSES PATHOLOGIQUES

Les deux comptes rendus d'analyses présentés en annexe 2 et 3 par l'unité de recherche en pathologie concernent la recherche des agents infectieux actuellement connus ou supposés pour l'huître creuse japonaise. Les anomalies nucléaires, présentes sur 10% des individus d'un lot ont fait l'objet d'un examen approfondi en microscopie électronique, de façon à pouvoir identifier, le cas échéant, des particules virales. Cet examen s'est révélé négatif. Ces lésions sont donc attribuées par les spécialistes au fait que les huîtres étaient mortes au moment du prélèvement.

Le nombre élevé d'observations effectuées, grâce au concours des spécialistes des laboratoires d'IFREMER de La Trinité sur Mer et de Palavas, permet de conclure que les mortalités observées sur le banc de Ronces les Bains ne sont pas dues à l'action d'un agent infectieux.

III - RECHERCHES DE SUBSTANCES TOXIQUES (POLLUANTS)

Ces recherches sont présentées dans le document inclus ci-après, préparé par le laboratoire IFREMER spécialisé en environnement littoral de La Tremblade. Elles concernent l'exploitation des réseaux d'observation habituels, les analyses effectuées sur les prélèvements d'eaux, de sédiments et d'huîtres effectués sur le banc de Ronces les Bains. Par ailleurs, la station d'épuration des eaux de La Tremblade a communiqué les produits de traitements et les doses qu'elle utilise en cette période de l'année. Enfin, des prélèvements d'huîtres supplémentaires ont été effectués pour la recherche de l'action de polluants organophosphorés, fortement toxiques. La méthodologie est présentée en annexe. Les analyses ont été effectuées par le laboratoire d'Ecotoxicologie d'IFREMER à Nantes.

Mortalités d'huîtres sur le banc de Ronce les Bains en Juin 1992 – Aspects environnementaux

1) Conditions climatiques :

Le mois de mai 1992 a été caractérisé par des températures (air et eau) plus élevées que la normale (données Service Climatologique Départemental pour la température de l'eau).

La température de l'eau mesurée lors des opérations de suivi de la reproduction est légèrement supérieure à celle mesurée en 1991, autour de 17°C sur Les Doux et Perquis. Par contre, le 27 mai 1992 on note 23°C sur le banc de Ronce, le plus élevé du bassin.

En matière atmosphérique, le mois de mai est décrit comme plus chaud et ensoleillé que la normale (ensoleillement de 29% supérieur à la normale) et le nombre de "jours chauds" exceptionnel (9 jours contre 2,5 en moyenne – Données Météorologie Nationale).

2) Qualité bactériologique des eaux de rejets

Le réseau pluvial de Ronce les Bains ayant son exutoire en face des zones de parcs, une contamination bactérienne de ces eaux a été recherchée les 9 et 10 juin au poste de relèvement de la Place Brochard.

Les résultats sont les suivants (pour 100 ml d'eau) :

09.06.92 : 9 200 coliformes totaux, 420 coliformes fécaux

10.06.92 : 48 000 coliformes totaux, 22 000 coliformes fécaux.

Par ailleurs le 16 juin une analyse des eaux de la lagune de finition de la station d'épuration de La Tremblade a été réalisée.

Le niveau de germes en entrée de lagune est de 4 800 coliformes totaux et de 920 coliformes fécaux. En sortie on trouve 2 200 coliformes totaux et 42 coliformes fécaux. Il n'y a pas de salmonelle.

Des prélèvements sur le sédiment de la lagune montrent des niveaux de germes plus importants (9 200 coliformes totaux et 1 440 coliformes fécaux).

3) Recherche des pesticides

Les pesticides susceptibles de provoquer une mortalité de mollusques sont essentiellement les insecticides organophosphorés. On peut mettre en évidence leur action sur la physiologie des coquillages en recherchant une enzyme dans les tissus de ceux-ci, l'acétylcholinestérase, qui si elle est inhibée, apporte la preuve que l'animal a été en contact avec des produits organophosphorés.

Cette recherche menée au centre IFREMER de Nantes (laboratoire de M. Galgani) a été négative. On ne peut donc incriminer ces produits.

4) Niveau d'oxygénation

Il n'a pas été constaté d'anomalie dans les taux d'oxygène dissous mesurés dans le bassin au cours des prélèvements hydrologiques ou des pêches de larves.

Les taux varient entre 80 et 100% de la saturation, voire plus (117 % le 25 mai sur le banc de Perquis, contigu au banc de Ronce).

5) Pollution par les hydrocarbures

Aucune évidence de pollution par hydrocarbures n'a été constatée. De plus il faut de fortes concentrations en hydrocarbures pour entraîner des mortalités d'huîtres (cf. travaux sur les marées noires en Bretagne).

CONCLUSION

Même si le niveau élevé de germes peut provoquer une contamination temporaire des coquillages, il ne peut être responsable de mortalités. Si l'on considère que le réseau pluvial de Ronce les Bains véhicule des eaux-vannes (le niveau de germes le prouve) la teneur en matières organiques pourrait expliquer une désoxygénation des eaux entraînant la mortalité de la flore et de la faune

autour du rejet, selon les aires concentriques. La mortalité constatée (tâches semées au hasard) ne permet pas de retenir cette hypothèse.

Les analyses faites sur la lagune n'apportent pas davantage d'explication puisque l'on ne constate pas de mortalités à la sortie de celle-ci en Seudre. Il n'a pas été mis en évidence de pesticides ou d'hydrocarbures. Le seul facteur environnemental défavorable reste la forte chaleur du mois de mai qui peut avoir influé sur certaines catégories de coquillages, sur un site sujet à des exondations plus prolongées et à une irrigation moins efficace qu'ailleurs.

IV – CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES DU CHEPTEL OSTREICOLE (Unité de recherche régionale en Aquaculture)

Cette condition physiologique est donc estimée mensuellement sur cinq sites du bassin de Marennes–Oléron, pour les paramètres qui ont été mentionnés plus haut. Elle concerne des huîtres âgées de 16 mois en début d'année civile, et les lots expérimentaux sont renouvelés chaque année.

Des analyses biochimiques supplémentaires ont été effectuées sur des huîtres âgées de 11 mois, prélevées sur le banc de Ronce les Bains lors des constats de gendarmerie. Sur tous les graphes présentés en fin de texte, le prélèvement correspondant est le quatrième. Il est repéré par la lettre C, pour Ronce les Bains. Les autres points correspondent aux analyses effectuées sur le lot expérimental de Ronce les Bains avant et après la période de mortalité.

On constate une évolution normale, sur les courbes des poids totaux et du poids de la chair pour le lot expérimental de Ronce les Bains. Le prélèvement effectué au moment de la mortalité montre des huîtres de plus petite taille, puisqu'elles ne sont âgées que de 10 mois. Le rapport entre le lot expérimental, âgé de 22 mois, et les jeunes huîtres atteintes par la mortalité est de l'ordre de 2.

Un même ordre de grandeur peut être observé pour les teneurs en lipides. Par contre, pour les teneurs en carbohydrates (sucres totaux) et bien plus encore pour le glycogène, on observe une teneur extrêmement faible, voir même nulle, pour les huîtres concernées par la mortalité. Il y a ainsi corrélation entre l'âge des huîtres atteintes et les teneurs en glycogène.

Le rôle du glycogène est celui, on l'a vu, de réserves énergétiques, ainsi que de précurseur métabolique des lipides. Ceux-ci présentant des teneurs normales, on peut avancer l'élément d'explication suivant : le glycogène des plus jeunes huîtres s'est trouvé épuisé parce qu'il a été au moins partiellement consommé pour fabriquer des lipides. La période printanière est celle de la maturation des produits génitaux, très riches en lipides, qui sont quantitativement très importants chez les mollusques à fécondation externe. L'effort de reproduction est considérable, et représente jusqu'à 50 % du poids de la chair pour une huître adulte. La maturation s'effectue dès la première année, de manière limitée il est vrai, chez l'huître japonaise. Mais cette maturation, en conditions nutritionnelles favorables, peut prendre le pas sur la croissance, l'activité physiologique des huîtres les plus jeunes étant proportionnellement supérieure à celle des adultes. Si le métabolisme est exacerbé sous l'action de la température de l'eau, cette maturation précoce des plus jeunes huîtres aboutit à un déséquilibre physiologique signé par l'absence de glycogène, et des teneurs normales en lipides.

Ce phénomène a été décrit en plusieurs circonstances, dans divers pays. Il a par ailleurs fait l'objet d'observations détaillées pour le bassin d'Arcachon, atteint depuis des années par des mortalités similaires (rapport en annexe 4). Les caractéristiques suivantes sont mentionnées par les auteurs *"les mortalités affectent principalement les huîtres de 1 an, à des taux variables. Elles sont généralisées à l'ensemble de la baie, certains secteurs s'avérant toutefois plus sensibles"*. A cet égard, on mentionnera que des mortalités tout à fait similaires ont été observées courant juillet, plus au nord dans le bassin, dans les secteurs des Traires, de la Mortane et des Doux.

L'assainissement de la commune du Château d'Oléron et les rejets avaient alors été mis en cause. *"Elles se produisent pendant une partie de la période de reproduction et sont associées à des températures élevées. Elles ne présentent pas de caractère contagieux et aucun agent pathogène n'a pu être mis en évidence"*. On notera que cette année, ces mortalités ont atteint 70% dans le bassin d'Arcachon. Pour ce qui concerne les températures élevées, on a vu que celles de l'air étaient supérieures à la moyenne pendant la période précédant les mortalités. La température de l'eau a été plus fluctuante. Cependant une observation très intéressante a été observée lors d'expérimentations en milieu naturel, conduites par IFREMER en amont du banc de Ronce, au sens hydraulique, avant la période de mortalité (ancien appontement Chapus). Les relevés de température indiquent que le 27 mai 1992 soit 8 jours avant les bancs ne découvrent et que la mortalité

soit observée, la température de l'eau de surface a atteint 23°C. Cette valeur n'est pas toujours atteinte au plus fort de l'été ; elle est donc exceptionnelle pour cette date.

Ces fluctuations élevées de température conduisent généralement à une accélération du métabolisme et à un épuisement très rapide des réserves glycogéniques des jeunes huîtres, à une période du cycle biologique où elles sont déjà fortement sollicitées pour assurer la reproduction. Ceci explique que les huîtres très jeunes en pleine croissance lors d'une période de vive-eaux, soient retrouvées atteintes par des mortalités à la période de vives-eaux suivante. Enfin, il faut mentionner que le banc de Ronce les Bains est particulièrement sensible. Des mortalités atteignant 7 000 tonnes, mais de caractère différent, ont été constatées en juin 1988. On trouvera dans l'annexe 5 concernant ces mortalités, les raisons de cette sensibilité.

V - CONCLUSION GENERALE

Les éléments d'enquête ont permis d'exclure l'action des phénomènes naturels (tempête, conditions hydrologiques anormales) ou des substances toxiques d'origine naturelle (phytoplancton), qui auraient nécessairement atteint toutes les classes d'âge, ainsi que les populations naturelles non cultivées de mollusques.

L'hypothèse d'une maladie infectieuse peut être écartée, après examen détaillé des échantillons. La mortalité a d'ailleurs été considérée comme stoppée à la fin du mois de juin, pour le banc de Ronce les Bains.

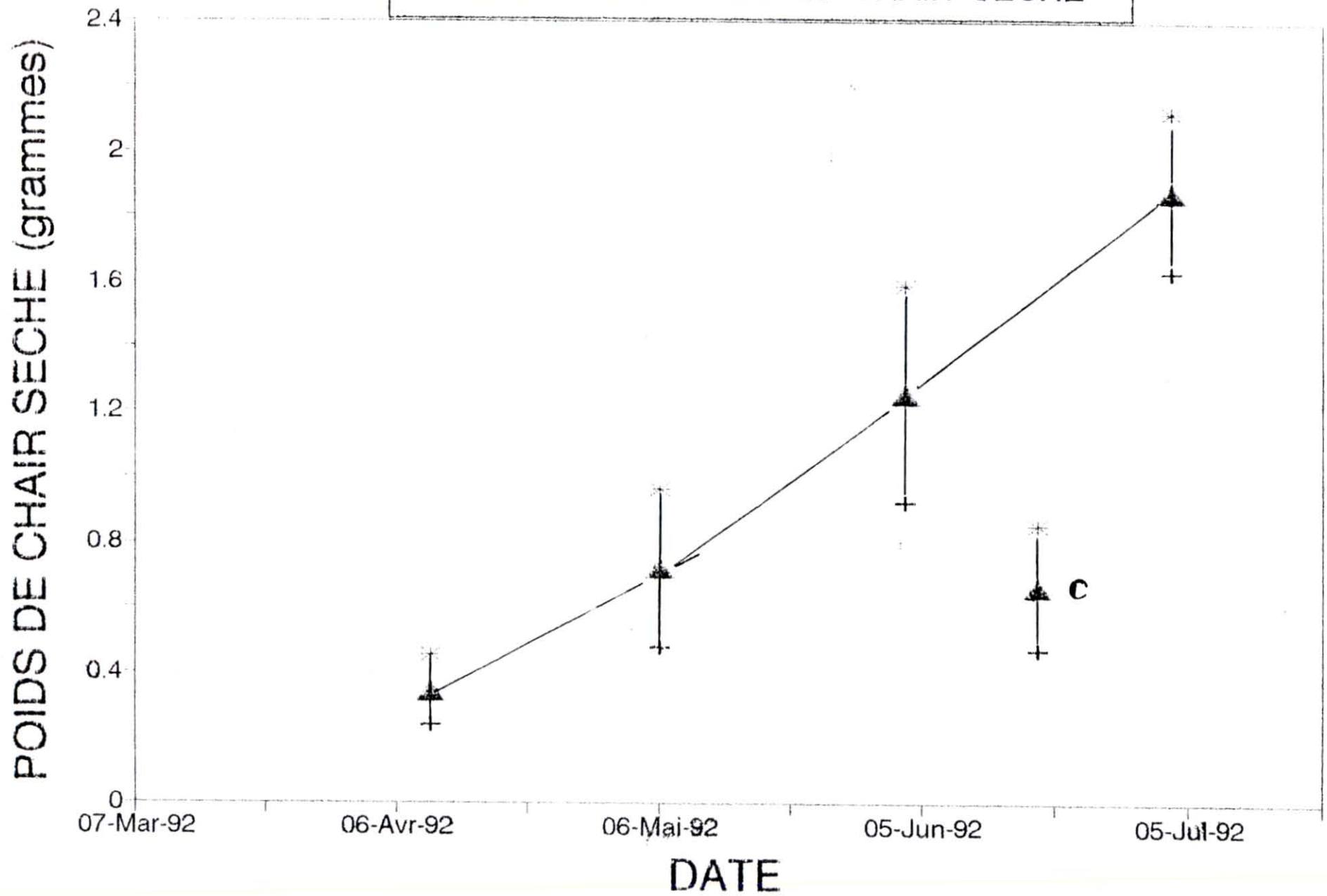
Les analyses de polluants effectuées sur les divers prélèvements, n'ont pas montré de résultats positifs. Dans le cas des pesticides, particulièrement toxiques, l'emploi d'une méthode extrêmement fine d'analyse n'a pas permis de montrer que les huîtres en question avaient pu être en contact avec de tels polluants. De plus, le caractère aléatoire de la distribution géographique des parcs atteints et le fait que seule, la plus jeune classe d'âge ait été atteinte, ne sont pas des éléments caractéristiques d'un cas de pollution aiguë et localisée.

On ne peut donc conclure qu'une pollution aiguë ait été à l'origine des mortalités constatées, ou y ait contribué.

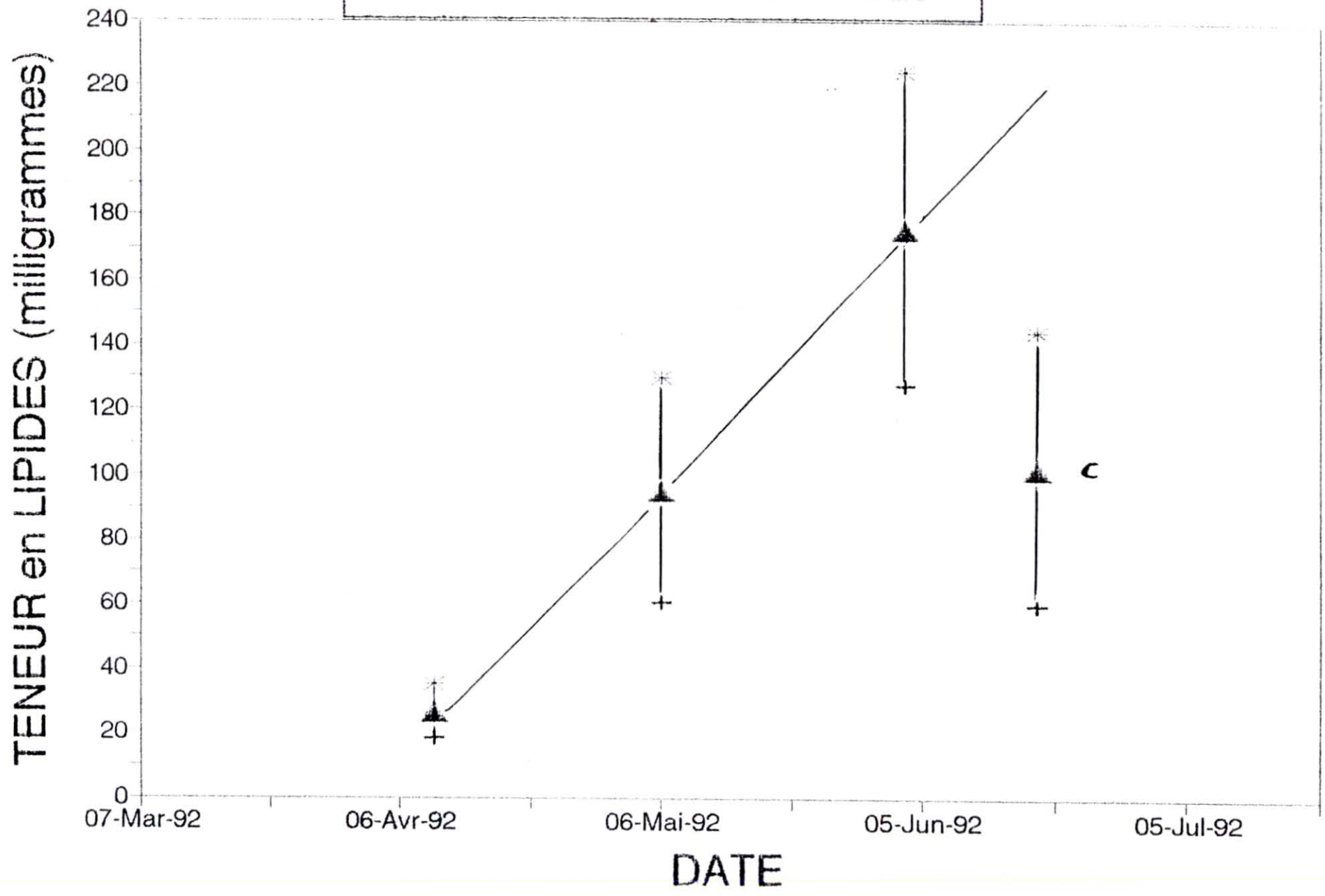
Enfin l'examen de la condition physiologique des huîtres concernées, a montré que par rapport à des huîtres âgées d'un an de plus, celles-ci se caractérisaient par des teneurs en glycogène extrêmement faibles, voire nulles, et des teneurs en lipides normales. L'accélération du métabolisme par une période de températures élevées, au moment où ces huîtres élaborent leur produit génitaux et ont donc besoin de toutes leurs réserves glycogéniques, a présenté un caractère extrême pour la plus jeune classe d'âge, qui possède par essence un niveau métabolique plus élevé que celui des adultes.

La cause de la mortalité observée se trouve donc dans les conséquences d'une augmentation brutale et anormale de température, à une période particulièrement sensible dans le cycle biologique des jeunes huîtres. Les mêmes phénomènes ont également provoqué à des périodes voisines des mortalités dans l'autres secteurs du bassin ainsi que dans le bassin d'Arcachon.

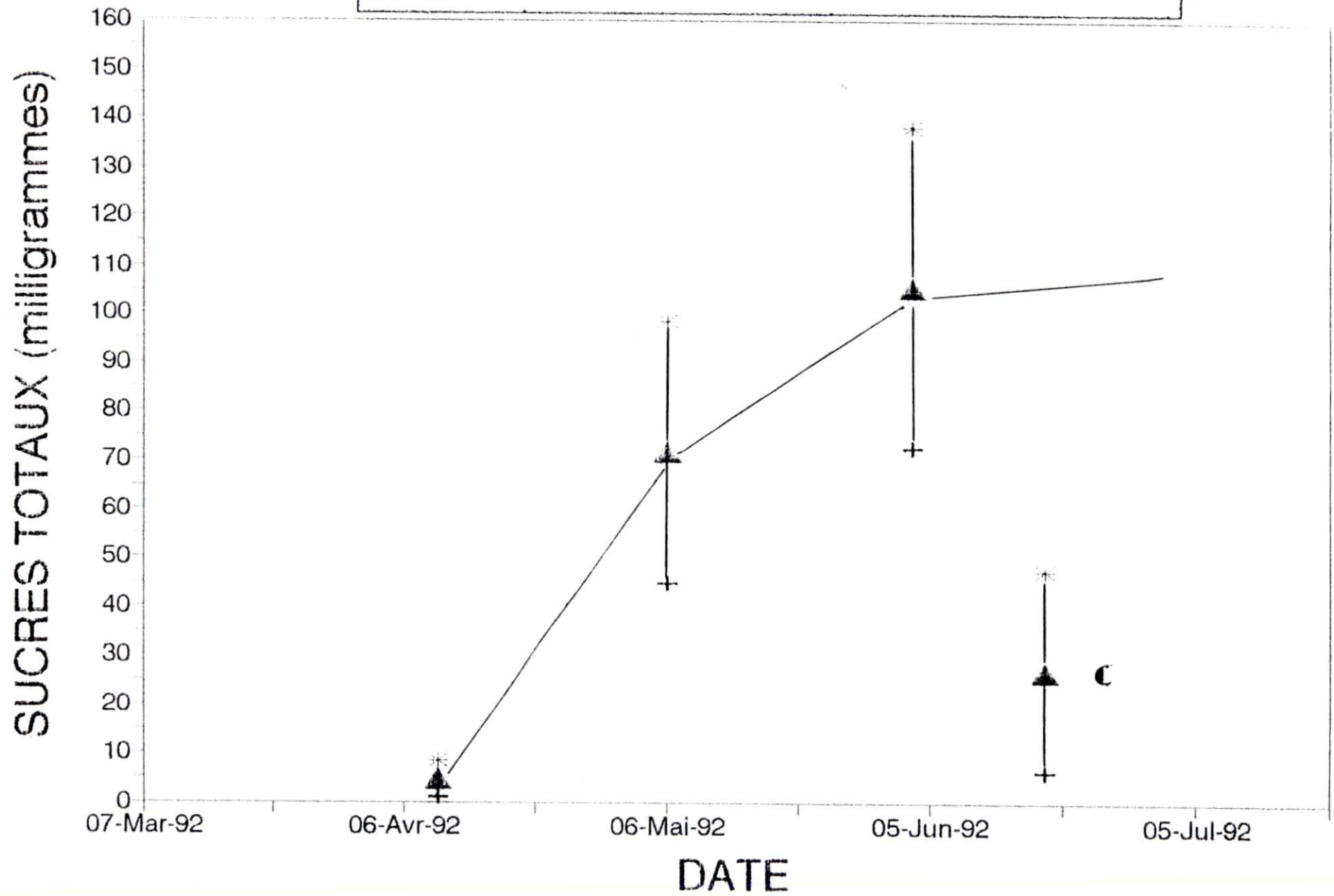
RONCE 1992 POIDS de CHAIR SECHE



RONCE 1992 TENEUR en LIPIDES

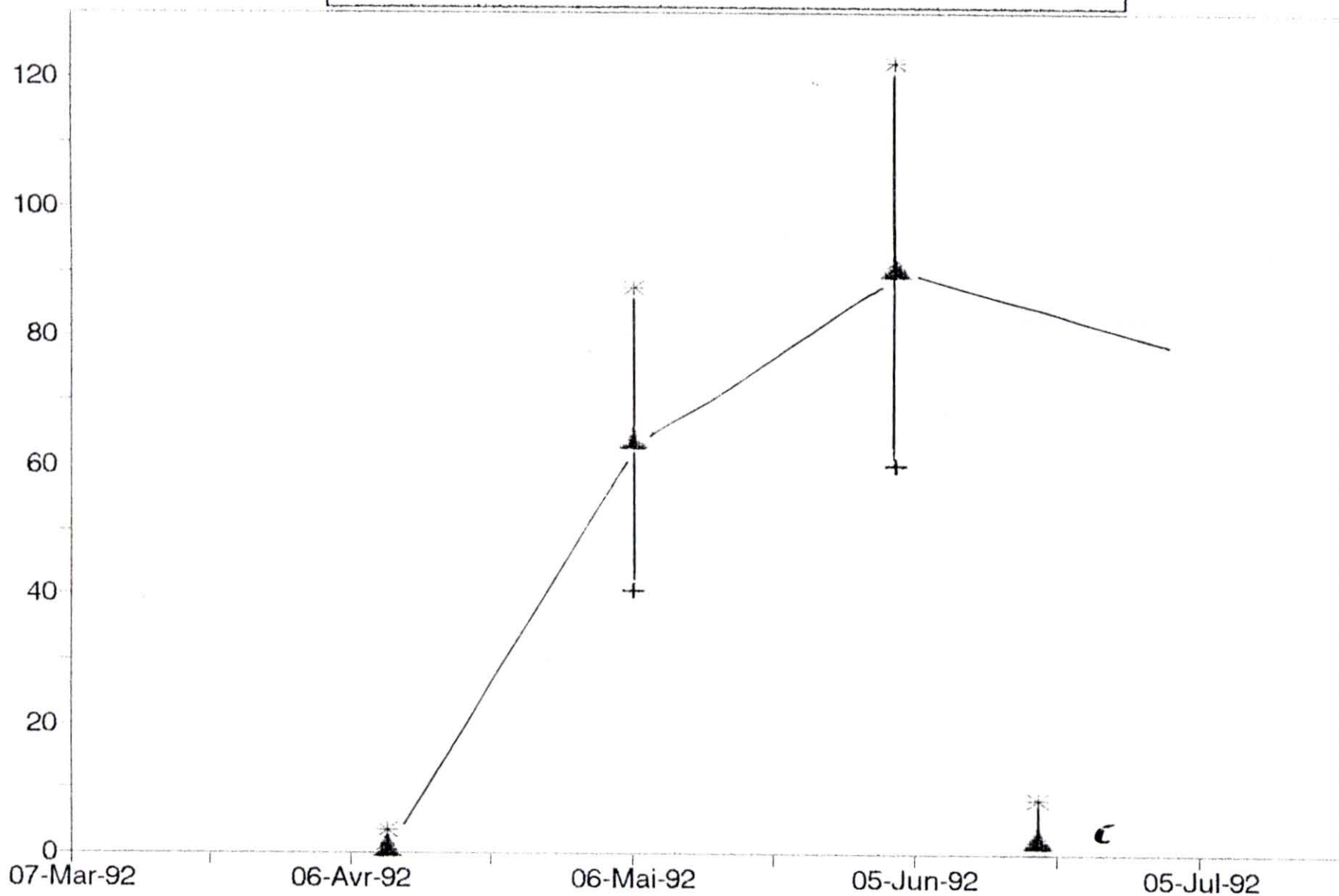


RONCE 1992 TENEUR en SUCRES TOTAUX



RONCE 1992 TENEUR en GLYCOGENE

TENEUR en GLYCOGENE (milligrammes)



DATE

ANNEXE 1

Détection de contamination par des polluants de la famille de carbonates
Inhibition de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase

RAPPORT D'ANALYSE D'ECHANTILLONS D'HUITRES TRAITEES A L'ABATE

F. GALGANI

LABORATOIRE D'ECOTOXICOLOGIE
IFREMER - CENTRE DE NANTES

OBJECTIF : Mesure de cholinestérases de muscles et branchies d'huitres après traitement à l'ABATE

I - SITUATION DU PROBLEME

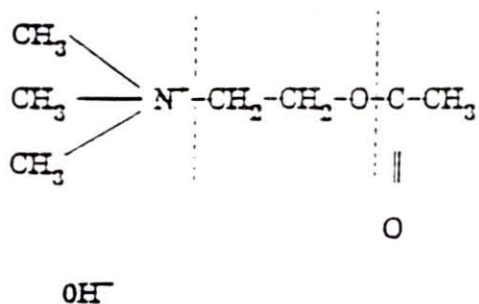
II - L'ACETYLCHOLINESTERASE

1. L'acétylcholine

L'acétylcholine est une molécule simple synthétisée depuis 1866. bien qu'il ait fallu attendre plus de 50 ans avant de connaître son rôle. C'est le transmetteur chimique ou médiateur chimique le mieux connu et le plus important de l'organisme animal.

1.1 Structure

C'est un ester, dont l'hydrolyse facile libère l'acide acétique et la choline.



Groupement amonium IV

Groupement acétyl

Elle est synthétisée à partir de la choline et de l'acétyl coenzyme A.

1.2 Rôle

C'est une molécule qui permet la transmission de l'influx nerveux.

Sa libération entraîne des potentiels au niveau des membranes, ce qui conduit à la dépolarisation de la cellule.

On la trouve à différents niveaux.

- au niveau des plaques motrices établissant la connexion entre le nerf moteur de la vie de relation et le muscle strié ;
- pour le système nerveux autonome périphérique : au niveau des ganglions synaptiques du parasymphatique. Seules les terminaisons périphériques de l'orthosymphatique sont adrénérgiques ou noradrénérgiques ;
- pour le système nerveux central : certaines synapses de fibres centrifuges ; au niveau des terminaisons de la neurohypophyse ; certaines synapses des fibres sensibles centripètes.

Cette acétylcholine entraîne au niveau des synapses et des terminaisons nerveuses des actions physiologiques : transmission de l'influx nerveux, réponses motrices, réponses sécrétoires.

1.3 Dégradation

L'acétylcholine est inactivée par l'acétylcholinestérase. Lors d'inhibition, les effets pathologiques décrits précédemment sont dus à l'accumulation de l'acétylcholine qui ne peut plus être hydrolysée ou qui l'est partiellement. Au niveau musculaire par exemple, il y a maintien de l'excitation musculaire d'où une tétanie puis une paralysie.

2. L'acétylcholinestérase

2.1 Les différents types de cholinestérases

Ce sont des enzymes, c'est-à-dire des protéines biologiques actives, permettant de catalyser biochimiquement des réactions.

En fait, il existe deux types de cholinestérases :

Tableau 1 : Localisation et rôles des cholinestérases

Type de cholinestérases	substrats hydrolysés	localisation dans les organes	localisation cellulaire	rôle global
<u>Cholinestérases vraies</u> Acétylcholinestérase	Acétylcholine Propionylcholine Butyrylcholine	cerveau muscles	- neurones de la plaque neuromusculaire - synapses nerveuses - globules rouges	- transmission de l'influx nerveux

<u>Pseudocholinestérases</u>				
Butyrylcholinestérase (BuChE)	Butyrylcholine			
Propionylcholinestérase (PrChE)	Propionylcholine	serum		- mai connu
Succinylcholinestérase (SuChE)	succinylcholine	pancréas foie coeur		- ne participent pas aux mécanismes nerveux.

Chez les poissons, les cholinestérases sont présentes en concentrations variables dans les muscles et dans les autres organes ; de plus leur répartition est différente.

Des études menées chez les guppys (*Poecilia reticulata*) montrent que la part des activités des pseudocholinestérases est négligeable par rapport à l'ensemble des activités cholinestérasiques attribuées essentiellement à l'acétylcholinestérase.

2.2 Structure

C'est une protéine de poids moléculaire moyen entre 80 000 et 400 000, de polymorphisme important inter espèces, intra individu.

Tableau 2 : Structure moléculaire des acétylcholinestérases.

Forme possible	monomères	présence d'une queue de collagène associant l'enzyme aux membranes	localisation
globulaire	monomère G1 dimère G2 tétramère G4	non (directement associé)	
asymétrique	1 tétramère A4 2 tétramères A8 3 tétramères A12	oui	extracellulaire

Chez les poissons, les formes asymétriques seraient plus nombreuses que les globulaires par rapport aux mammifères et oiseaux.

2.3 Rôle de l'acétylcholinestérase

2.3.1 Relation structure-fonction

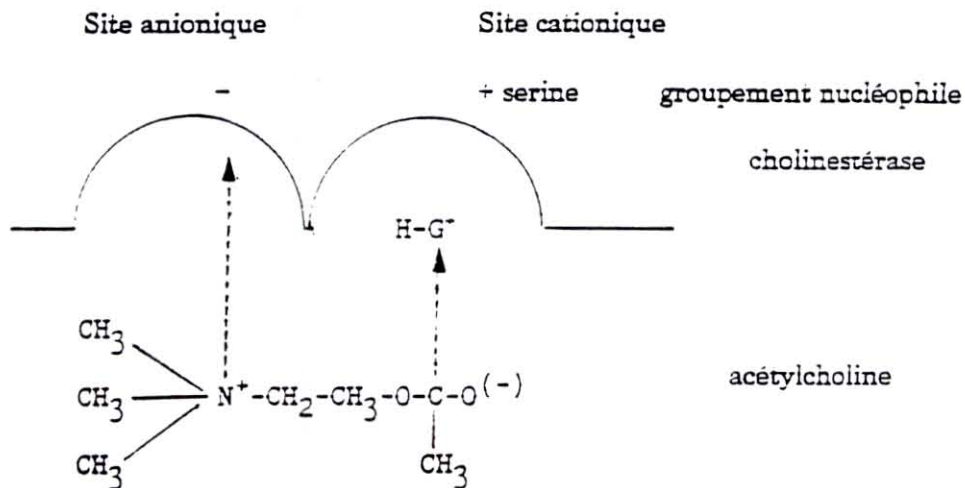
En tant que protéine, les cholinestérases sont constituées d'un enchaînement polypeptidique dont l'élément dynamique est la sous-unité catalytique possédant deux centres actifs :

- le site de fixation qui est un site anionique, donc chargé négativement. Il fixe le groupement ammonium quaternaire de l'acétylcholine grâce à son acide aminé dicarboxylique.
- le site catalytique ou estérasique, qui est un site cationique où vient se fixer le groupement ester de l'acétylcholine.

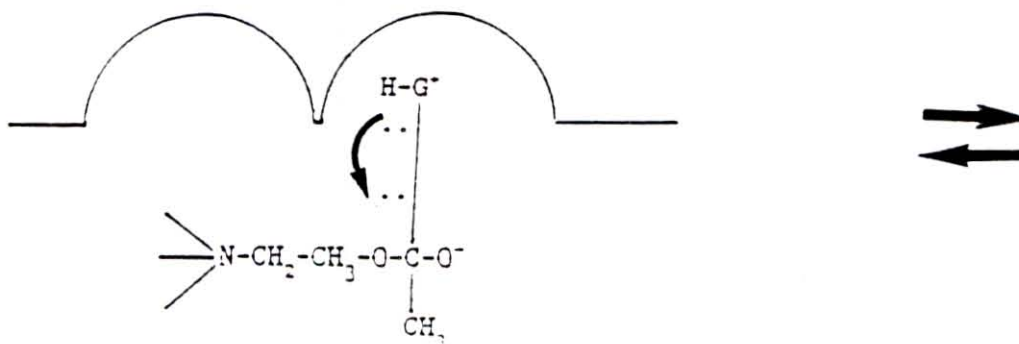
Il comprend un groupement basique formé par le noyau imidazole de l'histidine et une fonction hydroxyle venant de la serine.

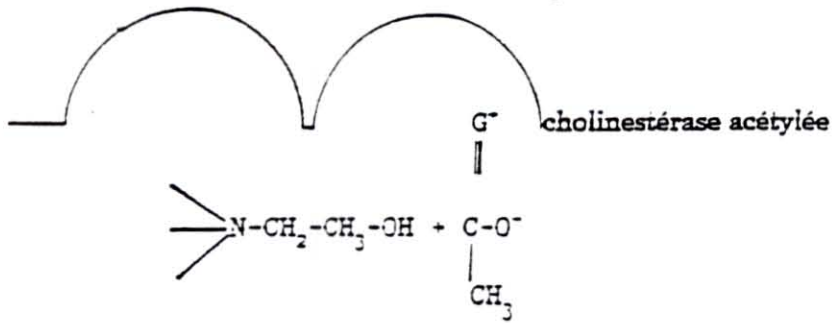
2.3.2 Mécanisme d'action

a) Fixation de l'acétylcholine sur l'acétylcholinestérase.

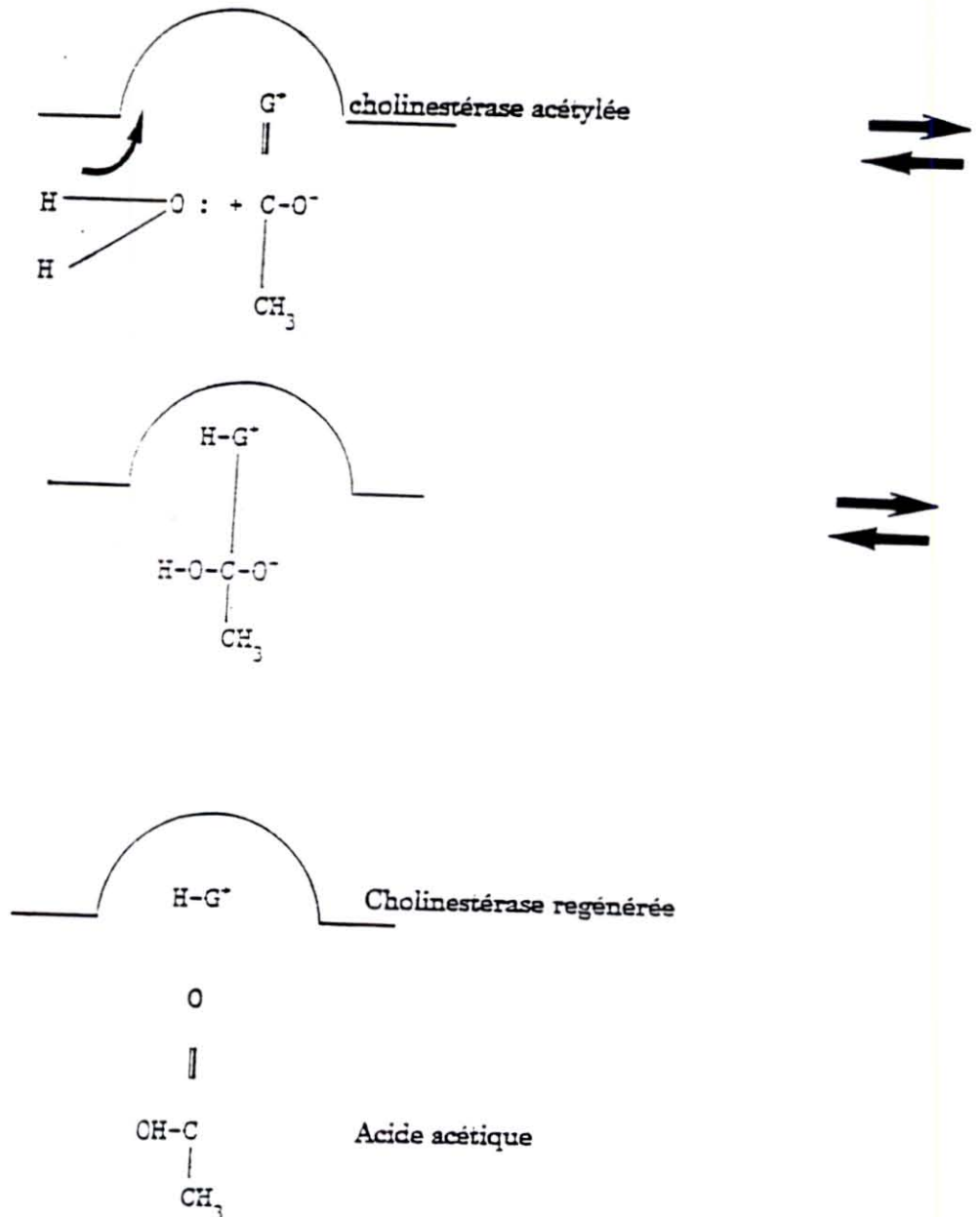


b) Formation de cholinestérase acétylée (complexe enzyme-substrat)





c) Libération de la cholinestérase par hydrolyse



Le complexe enzyme substrat étant relativement instable, on observe un réarrangement électronique. L'atome d'H du centre estérasiqye migrant sur la choline ; cela entraîne une rupture de la liaison ester. La choline quitte donc la cholinestérase acétylée. En présence d'eau, l'enzyme acétylée libère de l'acide acétique et l'enzyme est ainsi régénérée.

2.3.3 Rôle de l'acétylcholinestérase

Elle intervient dans la transmission de l'influx nerveux mais différentes théories sont proposées :

- soit elle permet une décomposition rapide de l'excès d'acétylcholine et elle devient une source de choline par la resynthèse de l'acétylcholine ;
- soit, c'est l'acétylcholine qui assure la dépolarisation de la membrane et l'acétylcholinestérase hydrolyse l'acétylcholine fixée aux récepteurs ;
- soit la cholinestérase agirait pour neutraliser les changements d'acidité au niveau de la membrane ;
- soit la fixation de la tête cationique de l'acétylcholine sur le site anionique provoquerait les mouvements ioniques à travers la membrane.

2.4 Les inhibiteurs des cholinestérases

Les inhibiteurs enzymatiques sont des produits qui peuvent détruire ces enzymes ou agir sur les centres actifs. Il en résulte une disparition ou une baisse de l'activité enzymatique. Il existe de nombreuses molécules inhibitrices des cholinestérases :

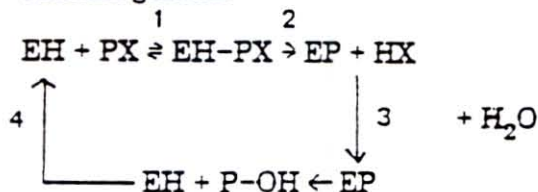
- certains pesticides : organophosphorés et carbamates testés dans cette étude, dont l'ABATE,
- quelques ions métalliques (l'ion arsénite, cuivrique),
- quelques agents neurochimiques, atropine, nicotine.

On sait qu'il est peu probable de trouver certains de ces agents dans le milieu marin. Par contre, nous avons vu précédemment que certains, comme les organophosphorés et carbamates sont devenus des polluants.

Le mode d'action inhibiteur repose sur le fait, que par analogie structurale avec l'acétylcholine, l'enzyme forme un complexe avec l'inhibiteur. Ce qui aboutira à la formation d'une enzyme phosphorylée (par les organophosphorés) ou carbamylée (par les carbamates). Le substrat initial, l'acétylcholine n'est pas dénaturé, mais il entre en compétition avec l'inhibiteur. C'est pourquoi on parle d'inhibition compétitive.

2.4.1 inhibition par les organophosphorés

Schéma général



EH = Acétylcholinestérase
 PX = Organophosphoré
 EP = Enzyme phosphorylée

- 1 - Formation du complexe enzyme-inhibiteur
- 2 - Phosphorylation de l'enzyme - enzyme phosphorylée très stable.
- 3 - Soit l'enzyme est lentement transformée en une forme non réactivable par un processus complexe dénommé "aging" car c'est une voie lente dépendante du temps.
- 4 - Réactivation spontanée dépendante du micro environnement du complexe moins fortement catalysé par des molécules.

Le taux d'hydrolyse de l'AChE phosphorylée est 10^7 à 10^9 plus lent que celui de l'AChE acétylée. Ce qui entraîne le fait que l'inhibition de l'AChE par les organophosphorés soit considérée comme irréversible.

3. Les cholinestérases et la détection des polluants

On peut définir la toxicologie aquatique comme étant l'étude des effets des produits chimiques et autres agents sur les organismes aquatiques ou l'évaluation de la toxicité potentielle d'un produit.

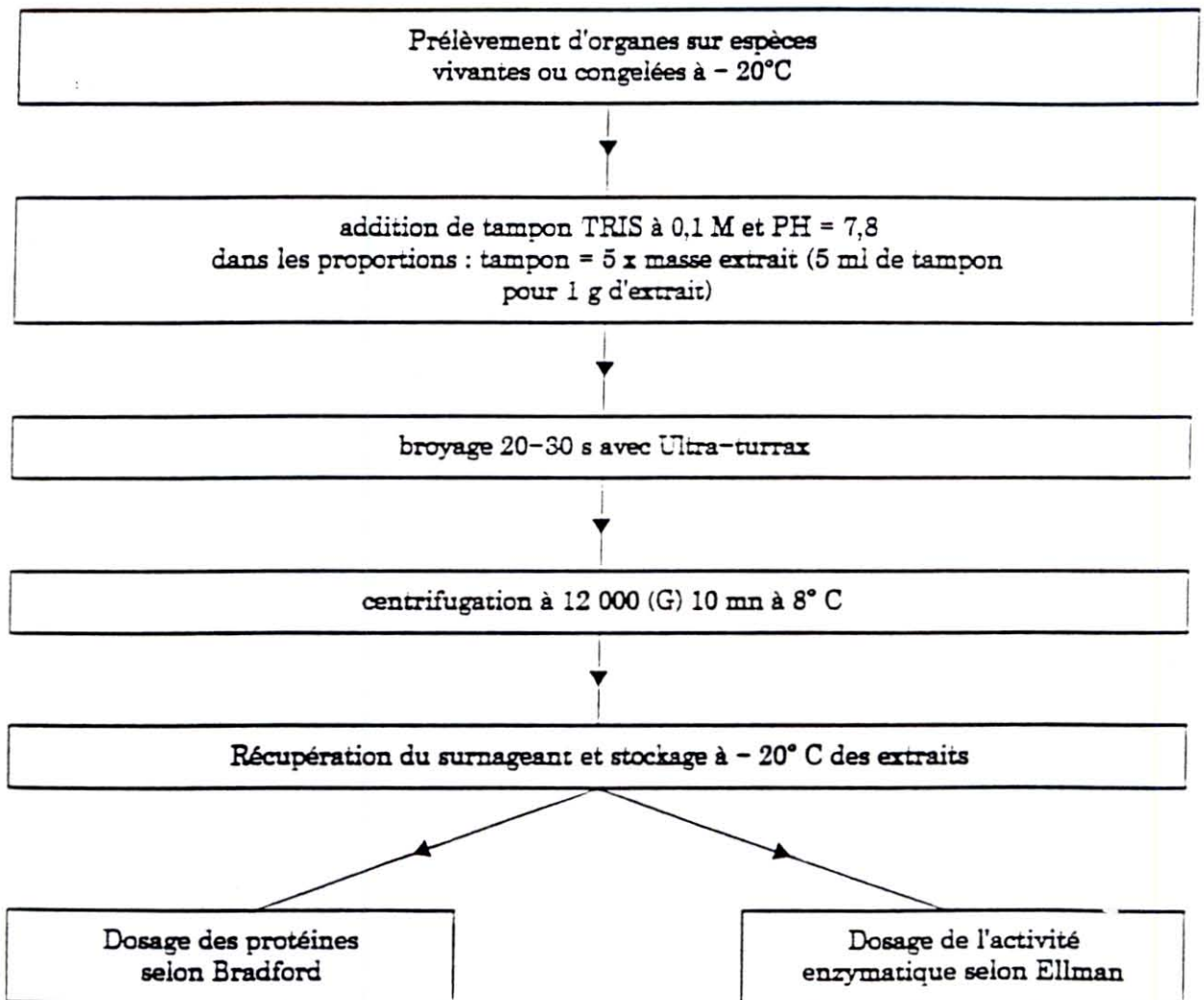
Pour évaluer cette toxicité, il est nécessaire de mettre en place des tests dont l'utilisation doit permettre de prévoir les risques associés à l'agent chimique. Or il n'existe pas dans le milieu marin des tests équivalents à ceux utilisés chez les mammifères en raison d'une connaissance non approfondie des mécanismes physiologiques et biochimiques de base.

Face à l'extrême diversité des pesticides organophosphorés et carbamates, tant en ce qui concerne leurs formulation chimique (que l'on peut compter par centaines) que leurs utilisations, il s'avère impossible de détecter la présence de ces polluants de manière quantitative et qualitative, d'où l'idée de mesurer un/ou des effets produits par ces substances. La mesure de l'activité acétylcholinestérasique est reconnue actuellement comme étant le meilleur indice de détection des organophosphorés et carbamates.

Deuxième partie : Expérimentation

I - MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les étapes préliminaires aux mesures d'activité sont résumées ci-dessous :



1. Appareils de mesure

1.1 Description

L'appareil de mesure de la concentration en protéine et de l'activité de l'acétylcholinestérase est un lecteur de microplaques de la marque MULTISIKAN, type MMC 332 (cf fig. 1 et 2.). Ce lecteur de plaques à microtitration est un spectrophotomètre permettant la mesure de densité optique sur une microplaque de polystyrène contenant 96 cupules de 400 μ l de volume chacune. On peut choisir la longueur d'onde désirée entre 340 et 690 nm grâce à des filtres interchangeables. Le volume par cupule est de 380 μ l afin de respecter un trajet optique vertical de 1 cm (cf fig. 3 et 4) Le temps de lecture d'une plaque est de 5 à 7 s.

2.2 Conditions d'utilisation

- pour le dosage des protéines qui n'est qu'une simple lecture de densité, le filtre 595 nm est utilisé ;
- pour les mesures d'activité enzymatique et l'étude de la cinétique enzymatique, le mode "kinetic" est sélectionné sur le lecteur ainsi que le filtre 405 nm. Ce mode permet de choisir un temps de latence entre deux mesures successives et le temps total des mesures. Les résultats sont exprimés en variation de DO par minute, c'est-à-dire 1 unité enzymatique U = variation de 10^{-3} unité de densité optique par minute.

Pour que la phase initiale de la cinétique soit suffisamment longue (phase de linéarité), il faut que le substrat soit apporté en excès. Celui-ci sera distribué dans les puits comme dernier réactif afin que la cinétique démarre en même temps dans tous les puits.

FIG.1: MULTISKAN MMC/ 332

- 1 - couvercle
- 2 - vis de rétention du couvercle
- 3 - couvercle de la partie effectuant les mesures
- 4 - vis de rétention du couvercle de la partie effectuant les mesures
- 5 - charriot porteur de plaques
- 6 - rails de guidage du charriot
- 8 - imprimante
- 9 - clavier de programmation
- 10 - fenêtre de programmation

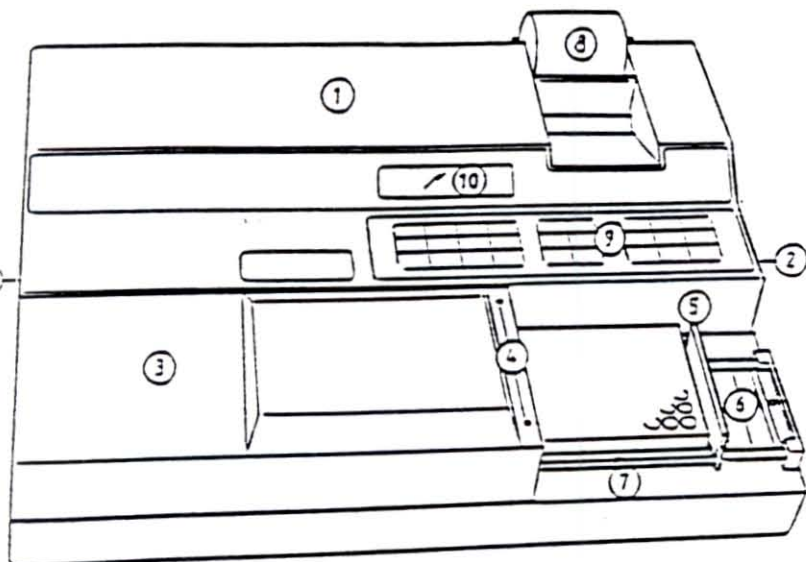
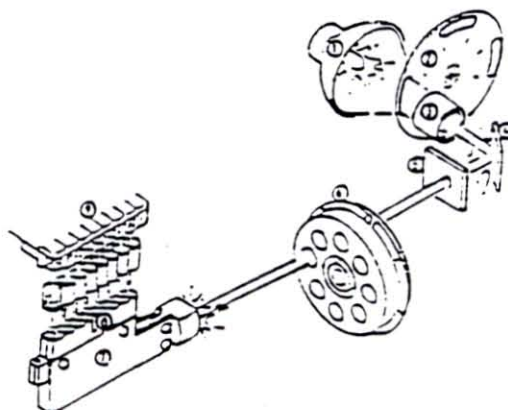


FIG.2: - SYSTEME OPTIQUE

- 1 - lampe halogène
- 2 - disque d'intermittence
- 3 - lentille d'ouverture et de condensation
- 4 - miroir semi-transparent
- 5 - ouverture
- 6 - filtre d'interférence (filtre tournant)
- 7 - faisceau de fibres optiques
- 8 - lentilles focales
- 9 - lentilles supérieures et détecteurs



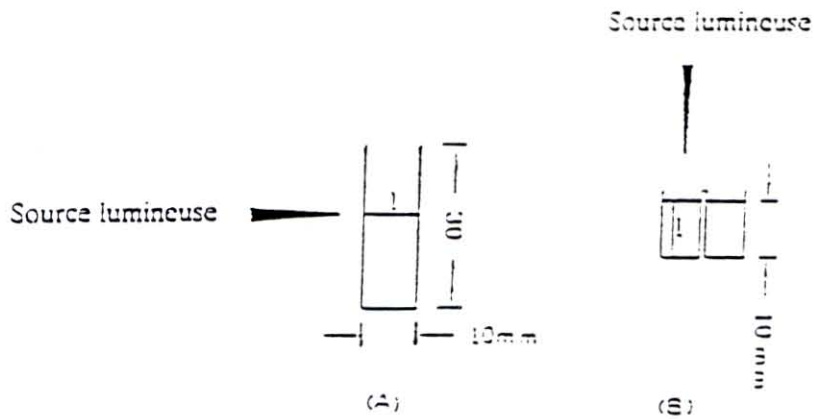
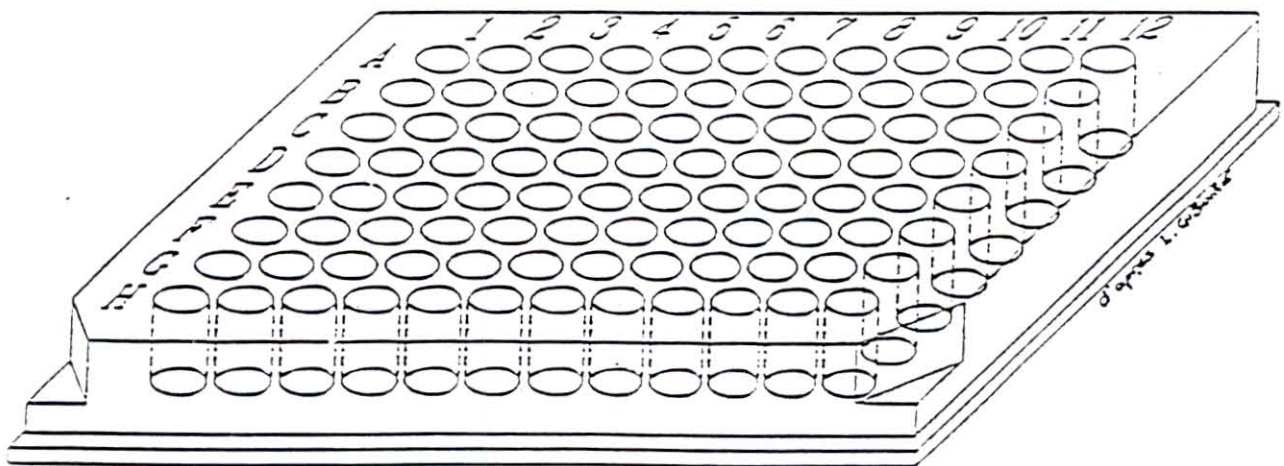


FIG. 3: Cellule spectrophotométrique classique (A) et cupule de microplaque (B) montrant un trajet optique similaire pour la mesure des densités optiques.

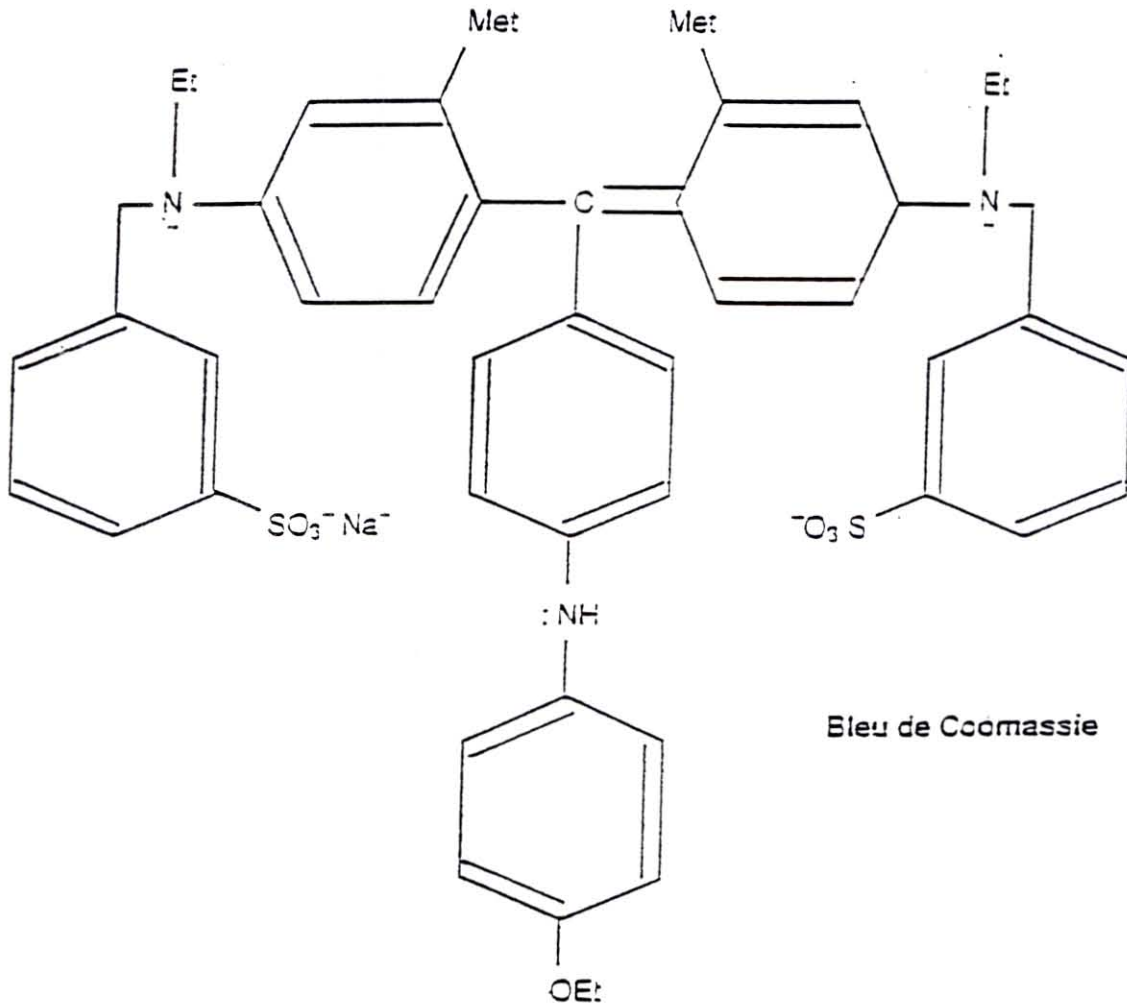


La plaque à microtitration est constituée de 96 à 100 puits de 300 à 500 μ l de volume. Elle est en matière plastique (polystyrène, vinyle) et peut être utilisée plusieurs fois pour les dosages colorimétriques classiques.

FIG. 4: Plaque à microtitration

FIGURE 5 - MÉTHODE DE BRADFORD

La bleu de Coomassie existe sous trois formes différentes. La forme anionique se fixe préférentiellement aux protéines par des interactions électrostatiques avec les groupements cationiques des protéines. La fixation du bleu de Coomassie se réalise si la molécule à évaluer comporte des groupements fonctionnels basiques et/ou aromatiques.



Forme anionique
535 nm
(bleu)

Forme neutre
630 nm
(vert)

Forme cationique
470 nm
(rouge)

Fixation sur les protéines

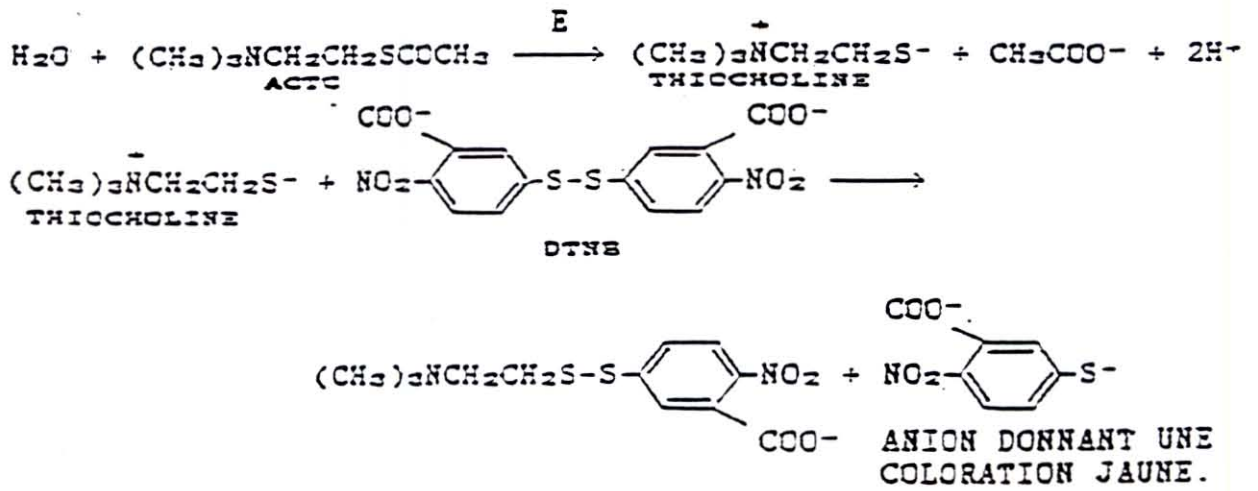
FIG. 6: EXEMPLE DE REALISATION D'UNE GAMME ETALON

QUANTITE DE PROTEINE PAR CUPULE (microgrammes)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
VOLUME DE SOLUTION ETALON (BSA) (microlitres)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
VOLUME DE TAMPON TRIS (microlitres)	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
VOLUME DE REACTIF BIORAD AU 1/4 (microlitres)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
ABSORBANCE LUE A 595 nm	0.66	0.79 0.94	1.06 1.25	1.38 1.52	1.61 1.70	1.74 1.75					

Dans le cas de la présente étude la droite étalon est donnée par la formule :

Concentration en protéines (P) = $7.93 \times DO_{595} - 3.59$ avec un coefficient de corrélation de 0.99.

FIG. 7 : PRINCIPE DE LA METHODE D'ELLMAN



Ce rapport a été établi

par

A. BODOY

avec le concours de :

Laboratoire Régional Loire-Gironde :

J. GARNIER, P. GEIRON

Laboratoire de Pathologie et de Génétique des Invertébrés Marins :

D. CHAGOT, H. GRIZEL

Laboratoire Régional Sète :

M. COMPS

Laboratoire Ecosystèmes Conchylicoles :

D. RAZET, S. TAILLADE

Laboratoire CSRU

D. MASSON, M. NOININ

INTRODUCTION

Depuis le mois de juin 1988, les ostréiculteurs ont fait part de la présence de mortalités importantes sur le banc de Ronce (bassin de Marennes-Oléron), d'abord auprès de l'IFREMER et des Affaires Maritimes; puis des pouvoirs publics. Ces problèmes ont été évoqués lors d'une réunion en Préfecture de Charente-Maritime, le 4 juillet 1988. Il s'est alors avéré nécessaire de réaliser un constat de la situation notamment sur le banc de Ronce, et de faire le point sur les causes pouvant être à l'origine de la situation sur les mortalités survenues dans cette zone. Cette décision a été confirmée le 12 juillet, lors d'une réunion à la Sous-Préfecture de Rochefort. Le présent rapport présente les résultats scientifiques actuellement disponibles, ainsi que les interprétations que l'on peut en tirer.

I. LE SITE DE RONCE-LES BAINS

1.1. Cette zone est la plus au Sud de la zone de culture sur estran, dans le bassin de Marennes-Oléron. Elle est incluse sur la rive Sud du Pertuis de Maumusson, mais n'est pas irriguée par la veine de courant principal. Elle comprend les bancs de Ronce (plage, sable, tête de Ronce et Galon d'Or) et de Perquis. On parlera cependant couramment, dans ce rapport, du banc de Ronce.

La superficie totale du seul banc de Ronce (Perquis excepté) est estimée, en août 1988, à 115 ha (soit 13,3 % des 860 ha en élevage pour la totalité du bassin). L'élevage à plat est estimé à 87 ha et l'élevage en surélevé à 28 ha.

Le niveau de ce banc sur l'estran, paramètre important à considérer pour l'élevage de l'huître japonaise, a été calculé à partir des données sur la marée observée à la Cayenne (SHOM, 1988) et du relevé bathymétrique effectué en 1985 par le Service maritime de la D.D.E. (le zéro des sondes pour le relevé bathymétrique est de - 3,645 m sous le nouveau zéro NGF). Selon cette étude, le banc de Ronce culmine à la sonde + 3,5 m. Par comparaison, le banc de Lamouroux culmine à + 1,7 m, La Casse à + 2,3 m, Dagnas à + 2,1 m et les Barats à 2,8 m, + 2,7 m et + 2,0 m. 45 ha (plus de 50 % de la zone d'élevage à plat) sont situés au-dessus

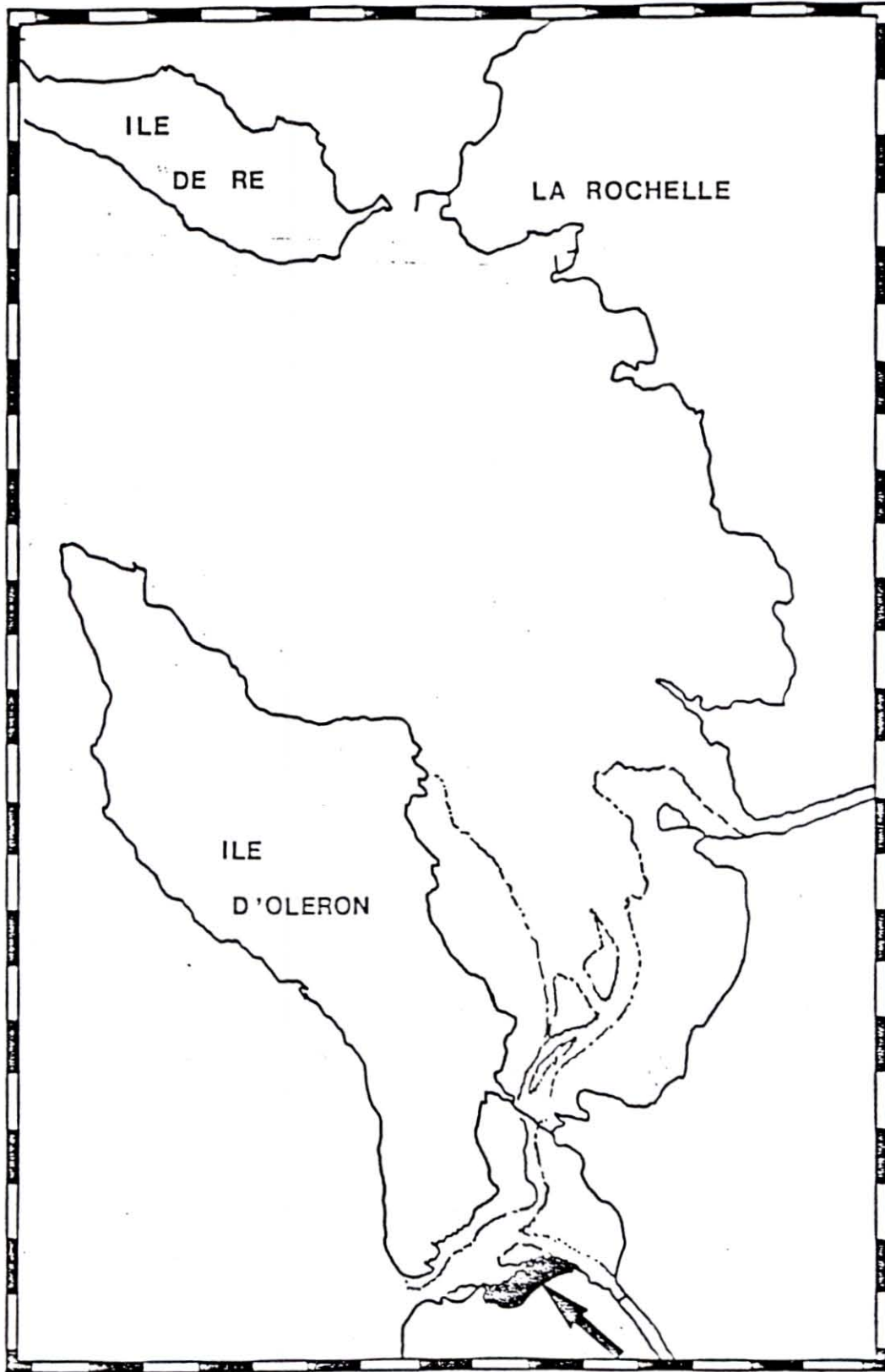



Figure 1 : Emplacement des bancs de Ronce et Perquis dans le bassin de Marennes-Oléron ().

de la cote + 3 m. En terme de coefficients de marée, le banc de Ronce découvre à son sommet par un coefficient de 30, et les 45 ha les plus élevés découvrent par un coefficient de 45. En moyenne annuelle, cette zone découvre environ 30 % du temps. A l'heure actuelle, aucune autre zone d'élevage ou de développement (zones de dépôts hivernaux mises à part) n'est située au-delà de la cote + 3 m dans le bassin de Marennes-Oléron.

Le banc de Ronce est donc, et de loin, la zone d'élevage située le plus haut sur l'estran, dans ce bassin.

1.2. La circulation des eaux dans le bassin de Marennes-Oléron et au niveau du banc de Ronce.

Depuis l'étude courantologique effectuée par la Laboratoire Central d'Hydraulique de France et la modélisation effectuées par IFREMER, la circulation des eaux dans le bassin est maintenant bien établie. Cette circulation consiste en un transit des masses d'eau dirigé du Nord du bassin vers le Sud, avant d'être expulsé par le Pertuis de Maumusson. Les courants résiduels (courants de marée déduits) ainsi décrits ont une vitesse telle qu'une masse d'eau située au voisinage de l'île d'Aix mettra 5 jours (période de vives-eaux) et 9 jours (période de mortes-eaux) pour être évacuée au niveau de Maumusson. La figure 2 montre le trajet complet d'une masse d'eau à travers le bassin, tel qu'il a pu être calculé, et suivi tout au moins partiellement.

Cette circulation générale Nord-Sud entraîne deux conséquences. Tout d'abord il a été établi que la zone de production phytoplanctonique, qui servira de nourriture aux bivalves, se situe dans le nord du bassin, au débouché de la Charente, entre l'île d'Aix et Fort Boyard. Cette nourriture, qui dépend étroitement pour sa production, des apports d'azote et de phosphore de la Charente, est alors entraînée par la circulation générale, du Nord vers le Sud du bassin, où elle ne parviendra qu'après avoir été utilisée (donc appauvrie) par les bancs d'élevage situés en amont.

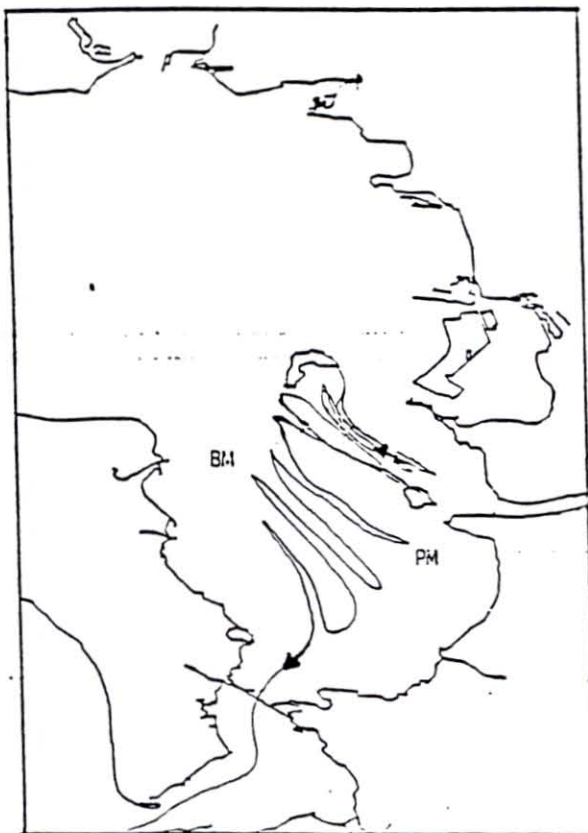


Figure 2 : Trajet suivi par une masse d'eau dans le bassin de Marennes-Oléron, en période de vives-eaux.

La deuxième conséquence est que au niveau du Pertuis de Maumusson, il sort à chaque jusant, plus d'eau qu'il n'en rentre en flot. Le rapport entre la quantité d'eau sortante et la quantité d'eau entrante est de 2,2 en période de vives-eaux, 1,7 en période de revif et 1,6 en période de déchet. Le Sud du bassin ne bénéficie donc que très partiellement d'apports d'eaux océaniques entrant par Maumusson. De plus, les masses d'eaux fertiles provenant de la Gironde sont déviées par le banc de la Mauvaise, et une partie seulement d'entre elles peut pénétrer dans le bassin, mais essentiellement par le Pertuis d'Antioche.

II. EVOLUTION DES MORTALITES

Dans les années passées, le banc de Ronce a été fréquemment frappé par des mortalités, suffisamment importantes pour être rapportées par les professionnels. L'une de ces mortalités a été signalée au cours de l'été 1983. Le constat effectué a montré que le taux de mortalité était de 10 %.

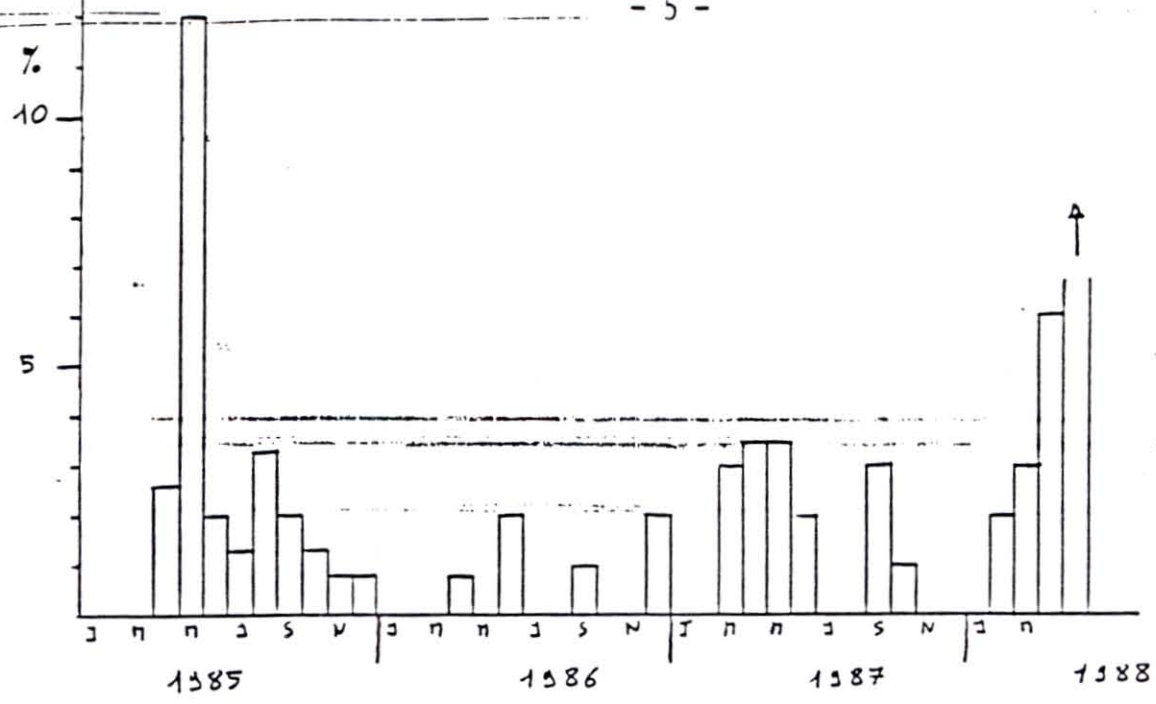


Figure 4 : Evolution des pourcentages de mortalité mensuelle sur le secteur de Ronce les Bains (coefficient 70) de 1985 à 1988.

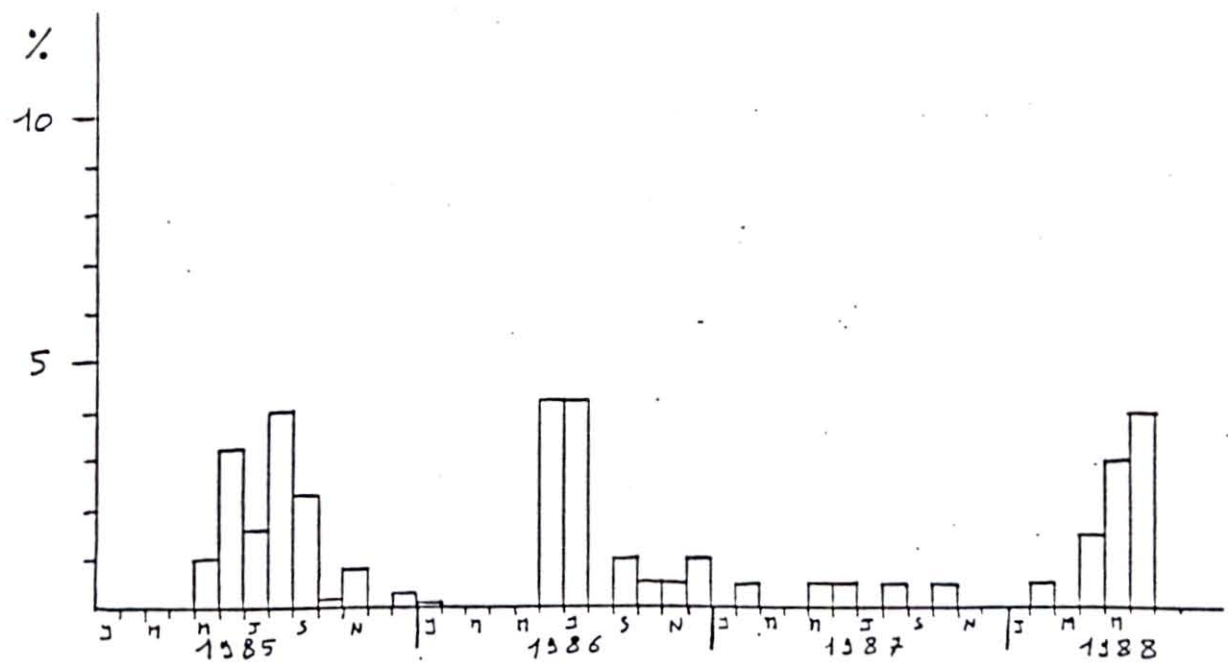


Figure 3 : Evolution des pourcentages moyens de mortalité mensuelle de 1985 à début 1988 (moyenne de 4 secteurs découvrant par coefficient 70).

Depuis 1985, l'IFREMER réalise un suivi du cheptel dans le bassin de Marennes-Oléron, et ce suivi porte entre autres, sur l'évolution des mortalités. Si la comparaison entre différentes années est sujette à caution, par suite des différents lots d'huîtres, il demeure cependant possible, d'une part de suivre l'évolution annuelle de ces mortalités et d'autre part, de comparer entre eux, différents secteurs du bassin.

La figure 3 présente l'évolution moyenne des mortalités mensuelles pour 4 secteurs du bassin, sur une durée de 3 ans. La figure 4 présente l'évolution de ces mêmes mortalités sur le secteur de Ronce. Tous les points de référence sont situés au même niveau, découvrant par des marées de coefficient de 70.

Deux commentaires peuvent être faits à partir de ces courbes. Le premier est d'ordre général : c'est pendant la fin de l'hiver, début du printemps, que se rencontrent les plus forts taux de mortalités (période d'avril-mai, selon les années), elle correspond au premier réchauffement des eaux, avant la floraison des algues planctoniques. Le second commentaire est que les mortalités annuelles observées sur Ronce-les-Bains sont, chaque année, supérieures à la moyenne des autres points (secteurs de Mérignac, les Doux, Dagnas et Bourgeois). Ainsi en 1985-1986, 27,3 % de mortalité annuelle à Ronce contre 15 % pour les autres sites ; en 1986-1987, 16 % contre 13 % et en 1987-1988 (jusqu'à milieu avril), 16 % contre 6,5 %. Le secteur de Ronce présente donc une sensibilité particulière, et les mortalités courantes même à un coefficient 70 y sont plus élevées qu'ailleurs. Pour ce qui concerne les mortalités dues à la tempête du 15 octobre 1987, qui a causé la perte de 2 500 tonnes d'huîtres sur les bancs de Chevalier et d'Ade, le banc de Ronce n'avait pas, à l'époque, été atteint par des mortalités mais l'ensemble de l'élevage à plat a été brassé par les vagues et les professionnels ont dû remettre sur parcs leurs huîtres. On peut considérer que cette tempête a provoqué un stress important sur ces élevages, à une période de l'année où l'espèce n'a plus la capacité de reconstituer ses réserves.

A partir de la deuxième marée du mois de mai, l'IFREMER, alerté par la section régionale et les professionnels a procédé à des mesures de mortalités sur l'élevage à plat et en surélevé sur le banc de Ronce. Au

31 mai, le taux de mortalité total sur l'élevage à plat était de 40,7 %, dont 25,7 % survenu au cours de la période de vives-eaux du milieu du mois de mai. Ce pic très important de mortalité a donné lieu au développement caractéristique d'une odeur perceptible à basse-mer, liée à la dégradation de la matière organique.

Le constat de mortalité effectué par la commission d'enquête, avec les mêmes méthodes que celles utilisées précédemment, établit que le taux de mortalité a atteint 50 % au 31 juillet pour la culture à plat et 30 % dans le secteur en surélevé. Ce chiffre traduit donc l'existence d'une mortalité résiduelle survenue depuis le pic du milieu du mois de mai. D'autre part, les biomasses mesurées lors de ce constat (15 kg/m^2) doivent être comparées avec la biomasse moyenne de $9,1 \text{ Kg/m}^2$ (soit 910 kg à l'are) qui avait été mesurée en 1987 dans cette zone. A cette époque, la biomasse des élevages à plat sur les bancs de Ronce et de Perquis pourrait être évaluée à 10 762 tonnes, contre 13 171 tonnes en 1988, avant les mortalités.

III. LES CONDITIONS DE MILIEU RENCONTREES EN 1987-1988

3.1. Météorologie

Les données qui suivent sont issues du bulletin édité par le service climatologique départemental. Leur analyse montre que les températures moyennes mensuelles en 1988 ont toujours été supérieures aux valeurs moyennes mensuelles établies à partir de 1950, et parfois de plus de 1°C , ce qui est remarquable. L'écart a même atteint $4,5^\circ\text{C}$ au mois de Janvier.

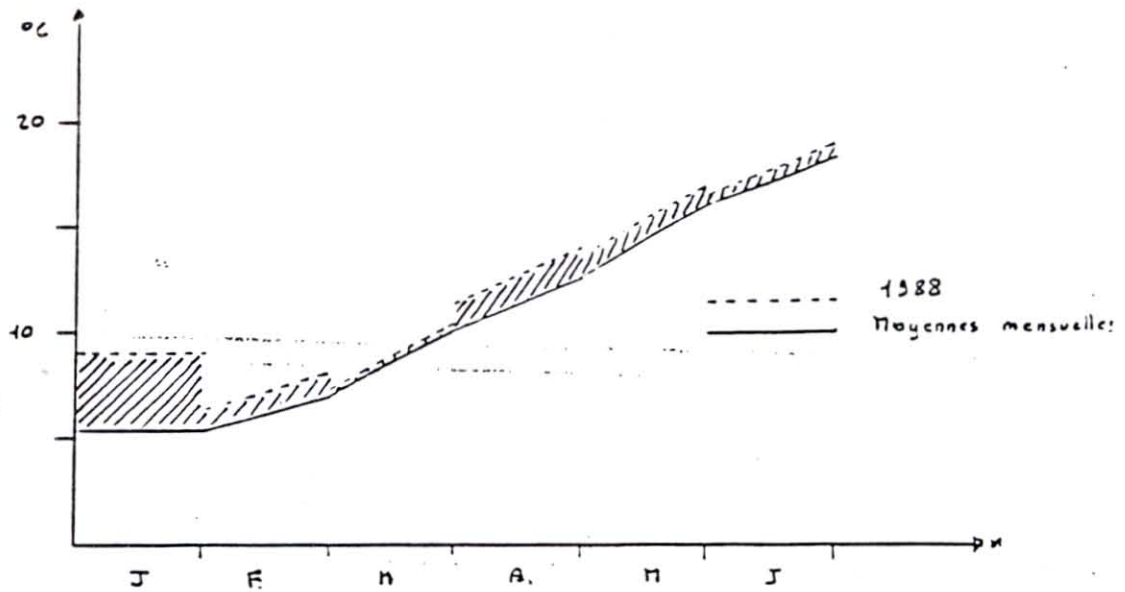


Figure 5 : Ecart des températures moyennes mensuelles de 1988, aux moyennes mensuelles de Charente-Maritime établies sur une durée de 37 ans.

La période d'avril et mai a également été notablement plus chaude que d'habitude (+° 1,4°C et + 1°C). Les précipitations sur le département ont été encore plus anormales : l'excédent par rapport aux moyennes mensuelles a toujours été supérieur à 23,8 % en février (figure 6). Il a atteint 159 % en Janvier, 73,4 % en avril et en juin. Le premier semestre a donc vu de très importantes précipitations. Comme corollaire, l'insolation a été déficitaire, à l'exception du mois de février.

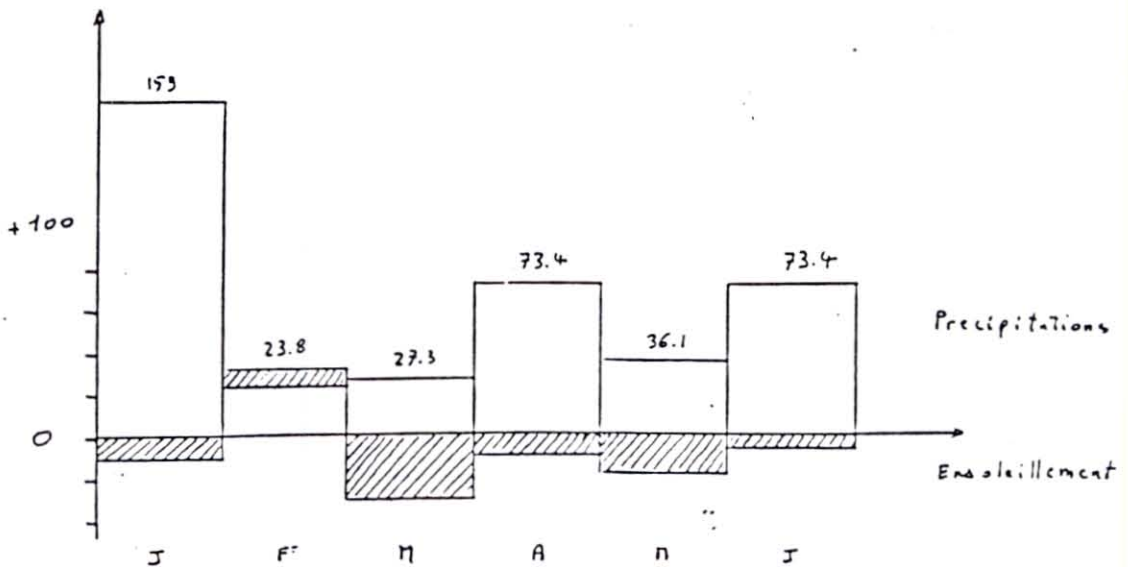


Figure 6 : Ecart à la moyenne mensuelle, en pourcentage des précipitations et de l'ensoleillement au premier semestre 1988.

3.2. Evolution des paramètres hydrologiques en 1987-1988.

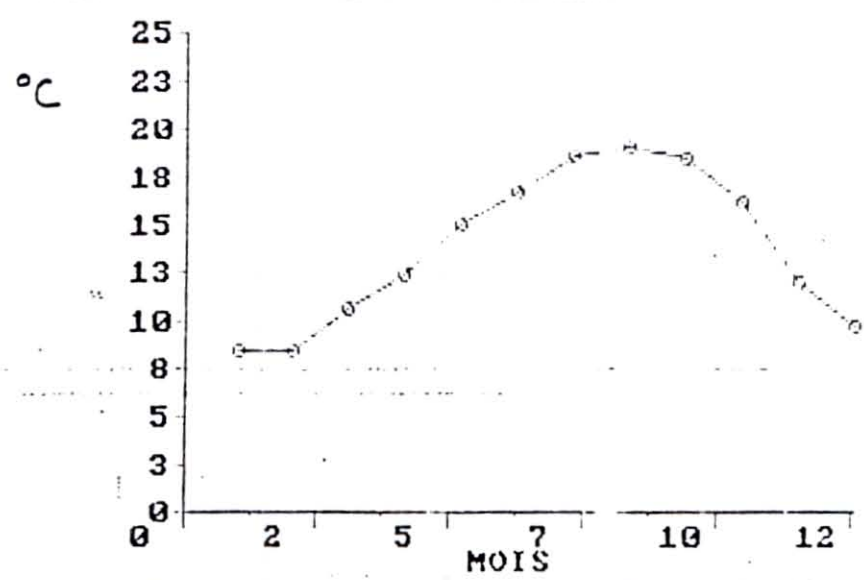
Cette analyse porte essentiellement sur le secteur qui nous intéresse, le point de prélèvement étant réalisé au niveau du banc d'Auger, à proximité immédiate du banc de Ronce. Les données portant sur l'ensemble du bassin, seront utilisées pour mettre en évidence d'éventuels gradients. La série de données acquise par l'IFREMER sur le bassin porte sur une durée de 12 ans.

La figure 7 présente les valeurs mensuelles moyennes de la température de l'eau, la salinité et la teneur en particules (seston), et la figure 8, les données observées en 1987 et au cours du premier semestre 1988. La comparaison des valeurs moyennes permet de conclure à un hiver hydrologique très doux (température de l'eau rarement inférieures à 10°C, alors qu'elles étaient inférieures à 5°C en 1987) et à un réchauffement précoce.

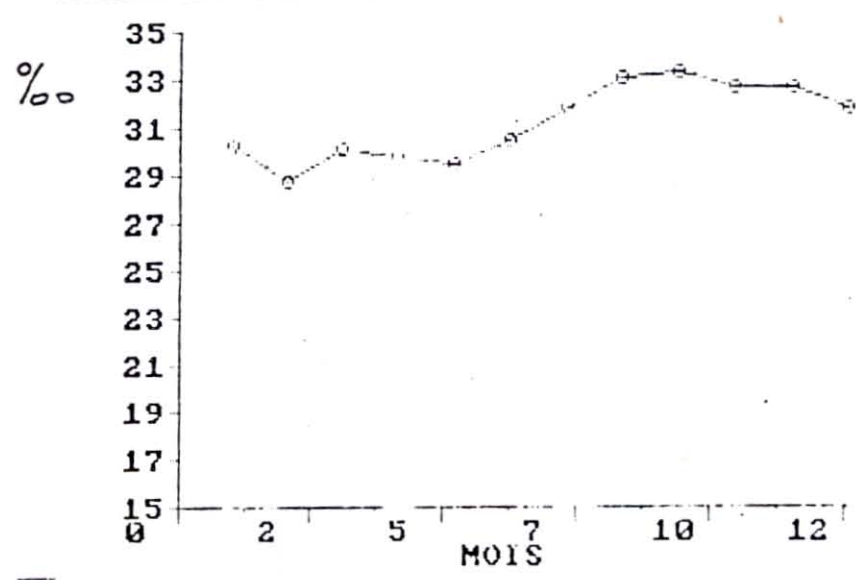
Les écarts les plus spectaculaires sont cependant observés pour les salinités, avec un écart atteignant 10 ‰ en avril et des valeurs demeurant anormalement faibles au printemps, et qui ne sont toujours pas revenues au niveau normal à fin juin (figure 8b). Quant au seston, qui correspond au moins partiellement à la turbidité des eaux, il ne semble pas avoir été spécialement affecté en 1988.

La comparaison des salinités entre un point situé au Sud du bassin Auger et un point situé au Nord (Boyard) montre que les évolutions sont parallèles (figure 9), avec cependant une dessalure plus importante dans le Sud.

NORMALES SUR 12 ANS TEMPERATURES AUGER



NORMALES SUR 12 ANS SALINITES AUGER



NORMALES SUR 12 ANS SESTONS AUGER

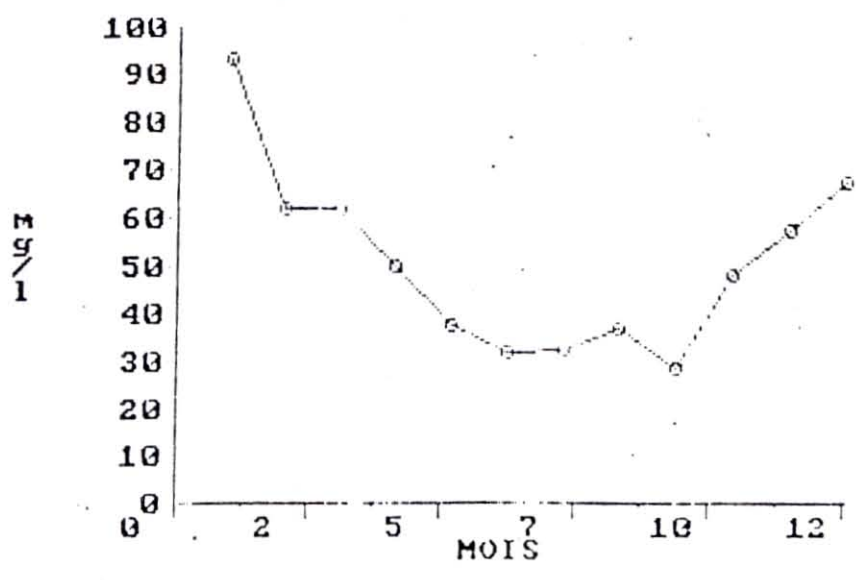
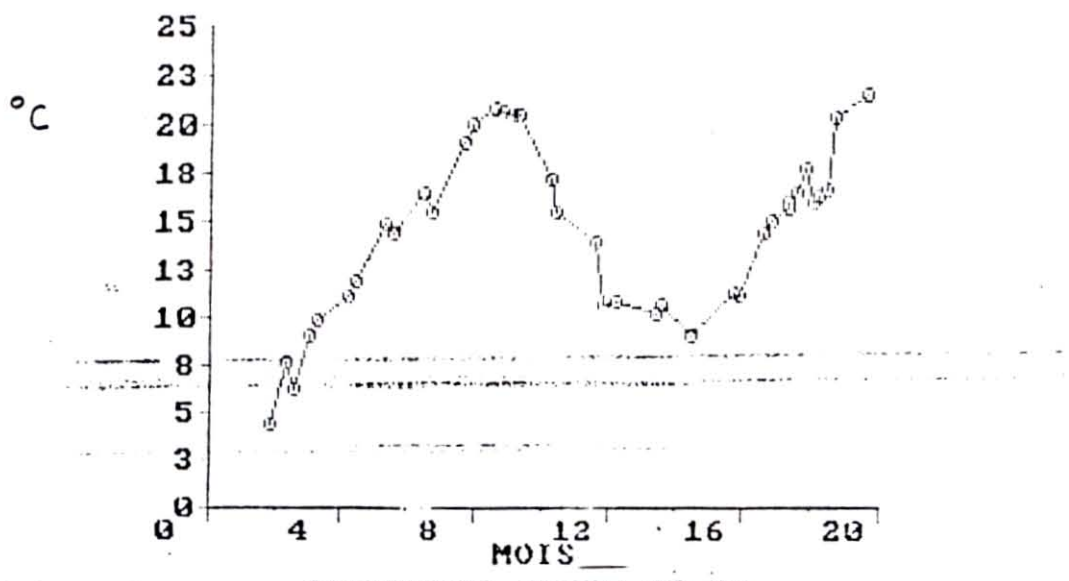
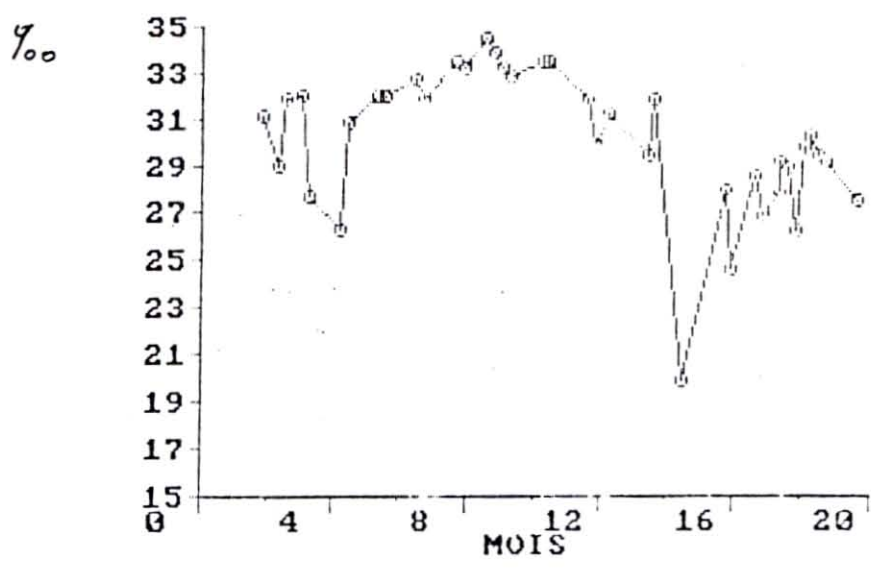


Figure 7 : Evolution des moyennes mensuelles (surface et fond) des températures, salinités et teneur en particules (seston), mesurées au niveau du banc d'Auger sur une période de 12 ans.

TEMPÉRATURES AUGER 87-88



SALINITÉS AUGER 87-88



SESTONS AUGER 87-88

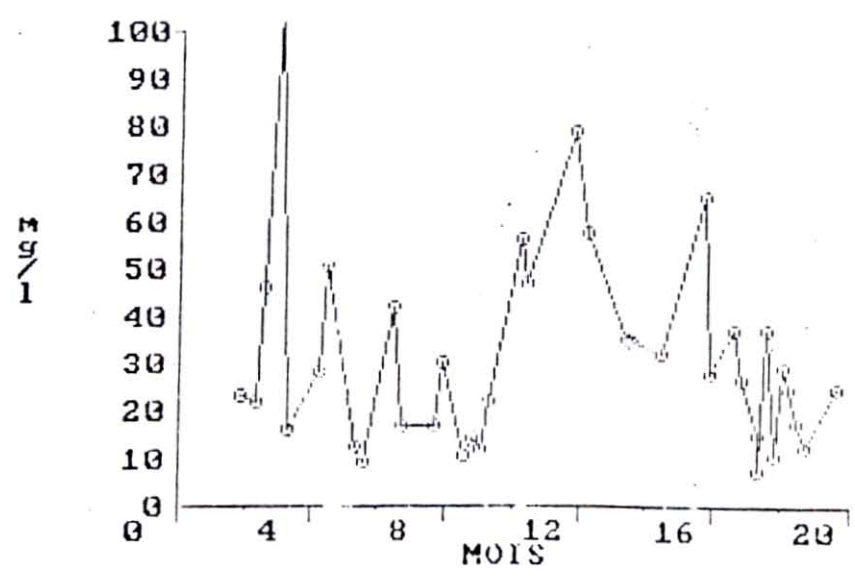


Figure 8 : Valeurs bimensuelles des températures, salinités et teneurs en particules (seston) mesurées au niveau du banc d'Auger de 1987 au 1er semestre 1988.

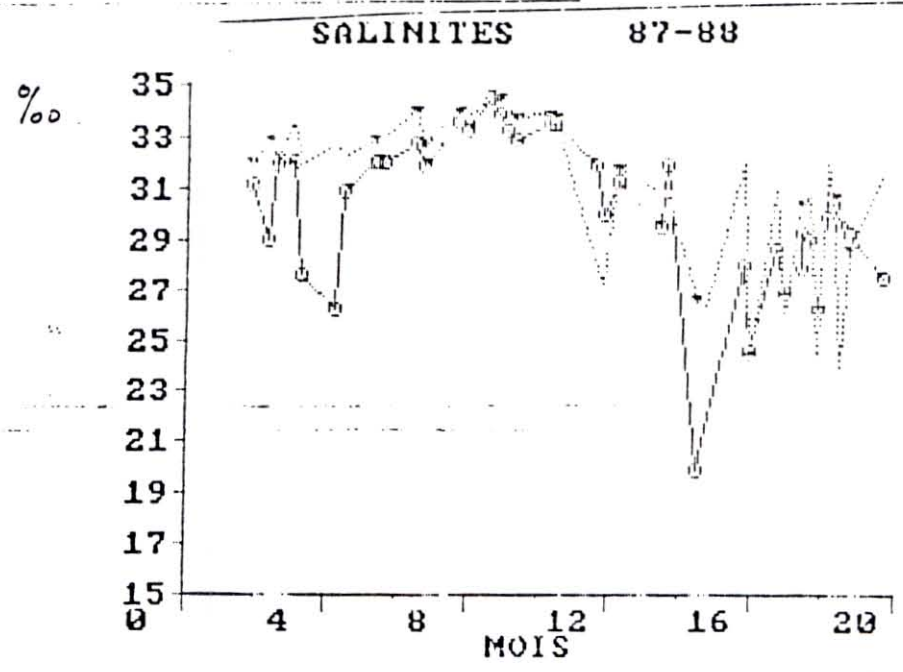


Figure 9 : Evolution des salinités en 1987 et début 1988 sur les bancs de Barat et d'Auger (à proximité du banc de Ronce), ○ : Auger ; ▼ : Barat.

3.3. Les quantités de nourriture

Celle-ci est essentiellement constituée par les algues du phytoplancton. La quantité de celle-ci est estimée en dosant la chlorophylle active et des pigments photosynthétiques plus ou moins dégradés, présents dans ces algues (phéopigments). Par comparaison avec les moyennes mensuelles sur 12 ans (figure 10), l'année 1987 n'a pas été caractérisé par une grande quantité de nourriture, au printemps (figure 11).

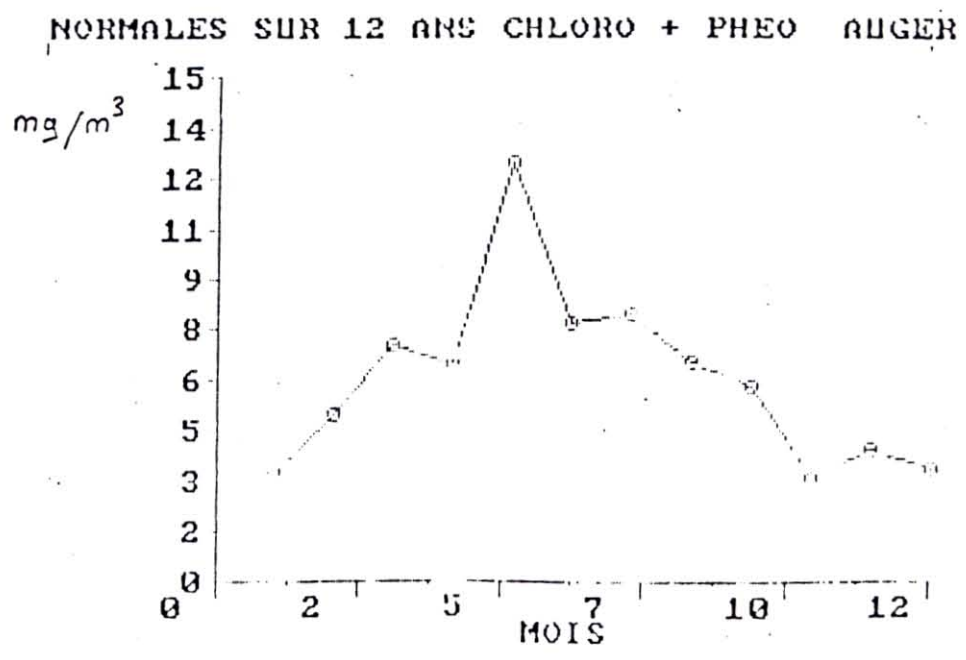


Figure 10 : Moyennes mensuelles des teneurs nutritives, exprimées en chlorophylles et phéopigments, sur le banc d'Auger.

CHLORO + PHEO AUGER 87-88

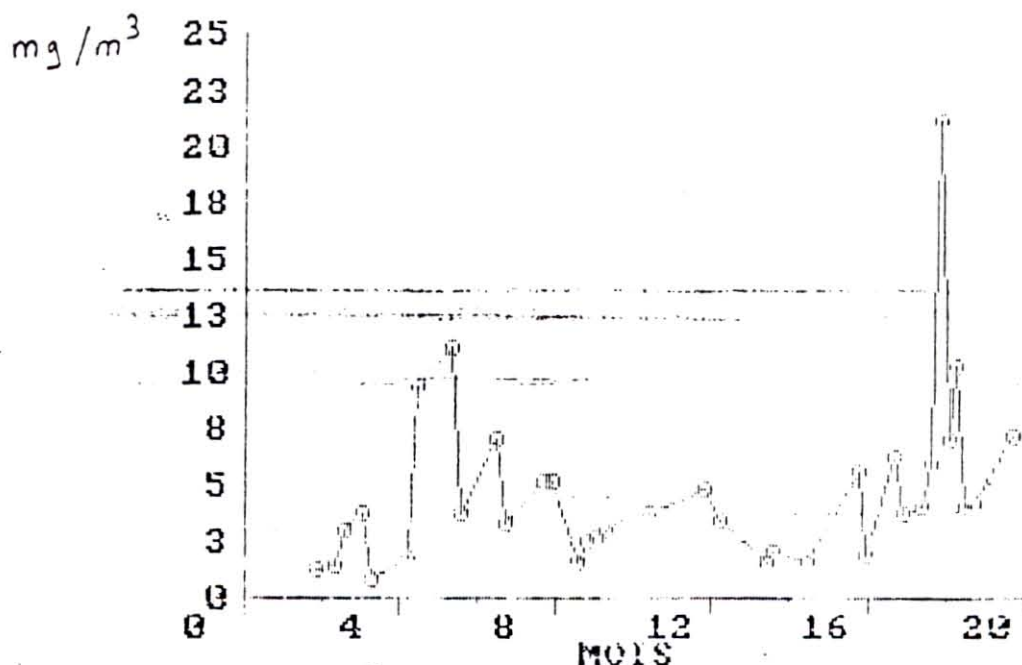


Figure 11 : Evolution des teneurs nutritives (chlorophylles et phéopigments) sur le banc d'Auger, en 1987 et début 1988.

Au début de 1988, la quantité de nourriture devient très faible, et en tout cas largement inférieures aux besoins de l'huître pour le sud du bassin. On remarque la floraison phytoplanktonique qui se traduit par un pic très élevé de pigments, qui survient à la fin mai 1988, mais qui est très éphémère dans ce secteur. Au cours du mois de juin, des valeurs inférieures à 5 mg.m^{-3} sont rencontrées, valeurs très inférieures à la moyenne, qui se situent vers 8 mg.m^{-3} . L'année 1988 voit donc se succéder des quantités de nourriture très faibles à partir du mois de janvier, avec cependant une forte quantité de nourriture fin mai mais qui disparaît presque instantanément pour laisser la place à des quantités de nourriture faibles pour la saison.

L'examen des seules teneurs en chlorophylle confirme de façon encore plus accentuée, les observations qui viennent d'être faites (figure 12).

CHLOROPHYLLES AUGER 87-88

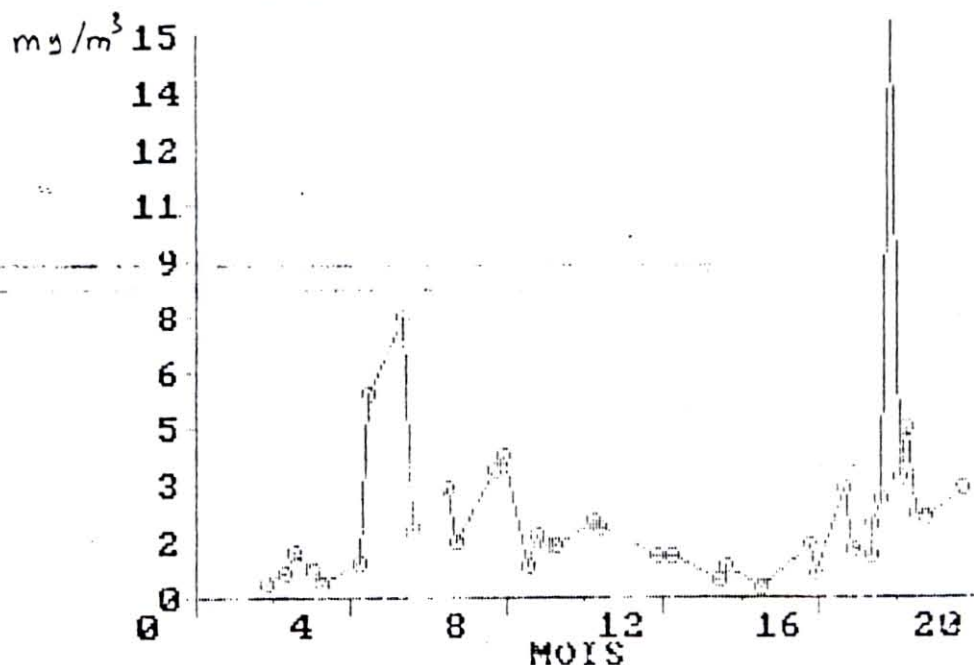


Figure 12 : Evolution de la teneur en chlorophylles sur le banc d'Auger en 1987 et début 1988.

IV. EVOLUTION DES CROISSANCES ET DE L'ETAT PHYSIOLOGIQUE DES HUITRES AVANT LES MORTALITES

En même temps que les mortalités, la croissance et la composition biochimique des huîtres sont suivies depuis 1985 en cinq points du bassin de Marennes-Oléron. Les conditions même de ce suivi, n'ont pas pour but d'évaluer la croissance et la production dans des conditions d'élevage, mais de représenter ce qui se passe dans les différentes zones du bassin. Par souci de clarté, ne sont présentés que les résultats concernant un point au Nord du bassin (Les Doux, près de Lileau), un au centre (Banc de Dagnas) et au Sud (banc de Ronce).

L'évolution du poids moyen d'une huître vivante montre que la croissance est pratiquement continue dans le Nord, et ne s'infléchit qu'en mars-avril (fig. 13). Le poids maximum atteint est de 75 g. Pour des huîtres de même taille et de même provenance, la croissance s'arrête dès l'automne dans le centre du bassin, et plafonne à 54 g. Les mêmes huîtres mises au même moment à Ronce les Bains arrêtent leur croissance encore plus tôt et ne dépassent pas 46 g. La perte de poids en avril est supérieure à celle observée à Dagnas.

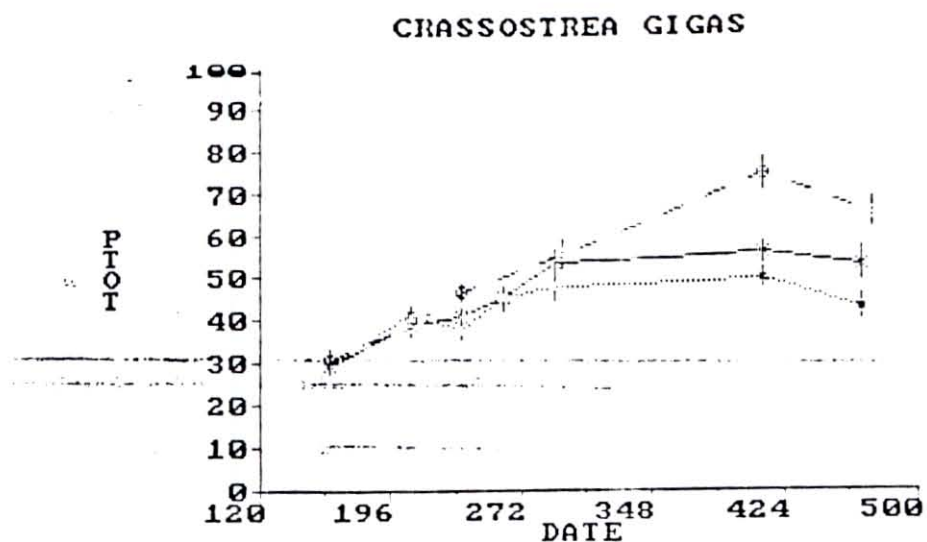


Figure 13 : Evolution du poids vivant d'une huître au niveau des secteurs des Doux, nord du bassin (□), de Dagnas, au centre du bassin (x) et de Ronce, au sud du bassin (■) sur 1987 et début 1988.

L'évolution du poids sec des huîtres est intéressante dans le cas présent, car elle permet de représenter exactement l'état d'engraissement ou d'amaigrissement des huîtres, ce qui peut être alors rapporté à la quantité de nourriture dans le milieu, ainsi qu'à des stress divers. Ce qui s'est déroulé en 1987-1988 (figure 14) reflète bien les changements intervenant à l'échelle annuelle avec des cycles d'engraissement et d'amaigrissement dus soit à la ponte (juillet-août), soit à des conditions nutritives insuffisantes en hiver. On remarquera que si la ponte semble avoir été d'une importance identique sur les trois sites, la population du secteur Nord bénéficie d'un engraissement après la ponte. L'amaigrissement hivernal qui lui succède est donc limité, et la reprise d'engraissement au printemps est plus rapide. Pour les deux autres populations, l'engraissement à l'automne est faible, voir inexistant à Ronce. L'amaigrissement hivernal y semble plus prononcé et la reprise de croissance moins énergique que dans les 2 autres bancs.

CRASSOSTREA GIGAS

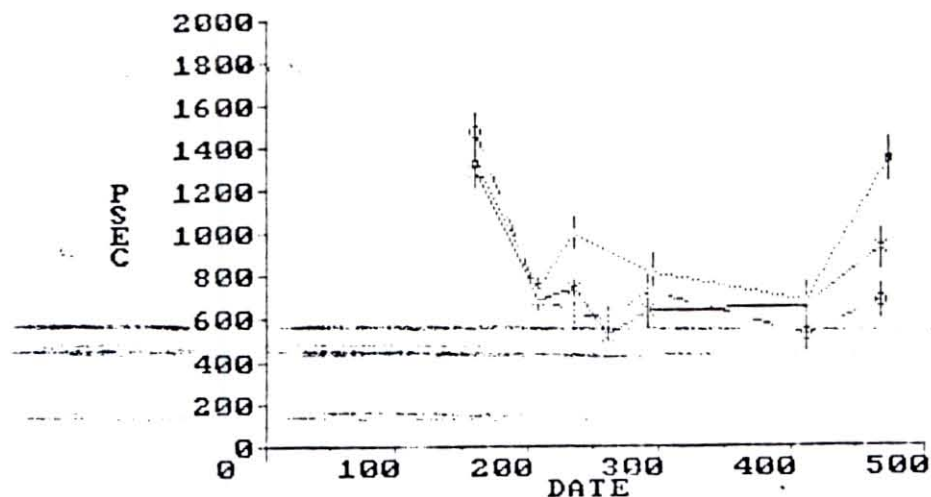


Figure 14 : Evolution du poids sec des chairs d'une huître au niveau des secteurs des Doux, Nord du bassin (p), de Dagnas, au centre du bassin (X) et de Ronce, au Sud du bassin (□) sur 1987 et début 1988.

Le dernier paramètre présenté est le glycogène. En effet, ce sucre, constitue chez les bivalves, l'élément de réserve qui permet à l'animal de subir des jeûnes prolongés ou qui participe à la fabrication des gamètes en période de reproduction. Le niveau de glycogène constaté chez un animal permet à coup sur, d'évaluer son état de santé physiologique. Les autres constituants biochimiques (protéines et lipides) n'offrent qu'un intérêt tout relatif pour le cas qui nous intéresse. Les résultats sont exprimés en pourcentage de poids sec de la chair, de façon à tenir compte des phénomènes d'engraissement et d'amaigrissement. On constate sur la figure 15, que les teneurs diminuent fortement entre le début de la maturation et après la ponte de l'été 1987, ce qui est un phénomène biochimique normal. Par contre, dès l'automne, les accumulations de glycogène sont très différentes selon les situations géographiques. Dès le mois de Novembre, les teneurs en glycogène ne sont plus différentes de zéro à Ronce, alors qu'elles sont encore comprises entre 4 et 6 % dans les autres sites. Les teneurs diminuent au cours de l'hiver pour y atteindre un niveau de zéro en Mai. Sur ce dernier prélèvement analysé, les teneurs en glycogène n'ont pas augmenté à Ronce, alors qu'elles ont déjà commencé à croître dans les 2 autres sites. Le banc de Ronce se caractérise donc par une disparition des réserves énergétiques très précocement au cours de l'hiver 1987-1988 et par une poursuite de l'absence de réserves alors que dans les autres secteurs il n'y a pas eu épuisement.

CRASSOSTREA GIGAS

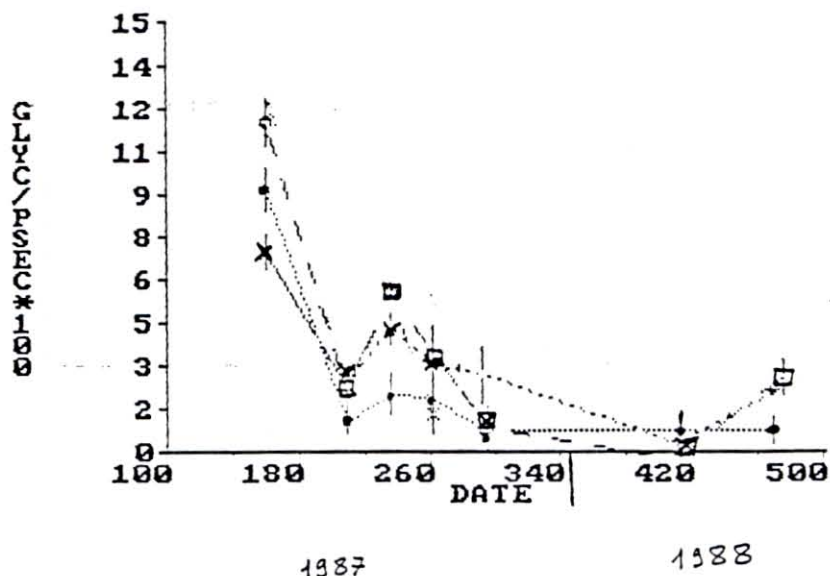


Figure 15 : Evolution des réserves énergétiques (pourcentage de glycogène) au niveau des secteurs des Doux, Nord du bassin (□), de Dagnas, au centre du bassin (×) et de Ronces, au Sud du bassin (•) sur 1987 et début 1988.

En ce qui concerne l'évolution de la situation sur Ronces, les causes sont à rechercher dans les conditions de milieu observées. En effet, les températures anormalement chaudes rencontrées depuis le début de l'hiver ont entraîné une augmentation du métabolisme, qui est directement fonction de la température chez les mollusques. Les réserves énergétiques (glycogène) ayant disparu dès le mois de Novembre, la population du banc de Ronces pour survivre a dû utiliser le reste de ses tissus, ce qui conduit à une détresse physiologique extrême. Celle-ci est d'autant plus accentuée que les huîtres sont situées à des niveaux élevés, puisqu'elles supportent à la fois une diminution du temps disponible pour se nourrir et une augmentation du stress consécutif à l'émersion. Lorsque les températures remontent (avril, début mai), cette détresse physiologique continue à s'accroître, puisque les besoins métaboliques augmentent encore avec la température, les réserves énergétiques sont épuisées depuis longtemps, et les tissus vitaux commencent à être utilisés. Le point culminant s'est situé pendant la seconde quinzaine du mois de mai, pendant laquelle ont été observées des mortalités atteignant 24 % sur une durée de quelques jours.

A cette période, survient un apport de nourriture (22 mai 1988) qui présente les caractéristiques suivantes : il est tardif, par rapport aux années précédentes, et par rapport aux autres secteurs du bassin. Il

présente une ampleur supérieure à la moyenne, mais est très limité dans le temps : il n'a été observé que pendant un seul prélèvement. Les observations faites alors montrent que cette floraison d'algues provenait de la Gironde. En raison de la prédominance des flux sortants à Maumusson, elle n'a pu pénétrer profondément dans la partie Sud du bassin : les teneurs observées à Barat sont déjà inférieures de moitié à celles observées sur le banc d'Auger. Il n'y a pas de certitude que cette masse d'eau nutritive ait pu irriguer complètement le banc de Ronce.

Dans les jours qui suivent, on constate une baisse du taux de mortalité, bien que celles-ci ne soient pas stoppées. D'autre part, les huîtres commencent à préparer leurs produits génitaux : elles deviennent pré-matures. Il est bien établi que, durant cette période de maturation des produits génitaux, toute l'énergie disponible sert d'abord à assurer le développement des gonades, le cas échéant, au détriment des autres organes.

Il faut revenir à la courbe représentant les teneurs nutritives sur le banc d'Auger (figure 11), pour constater, qu'après cet apport de nourriture très bref, le niveau des pigments retombe à des valeurs de l'ordre de 5 mg.m^{-3} . Ces valeurs sont nettement inférieures à ce que l'on observe en année moyenne pour le mois de juin-juillet (8 mg.m^{-3} , figure 10). Mais les besoins énergétiques demeurent élevés, car la température demeure supérieure à la moyenne. L'état physiologique des huîtres survivantes demeure donc critique, pendant cette période où elles sont pré-matures, et alors qu'elles n'ont pas eu l'occasion de reconstituer des réserves. Ce phénomène explique les mortalités "résiduelles" (5 % par mois) qui continuent d'affecter le cheptel, notamment dans la zone la plus élevée d'élevage à plat. La ponte constituera une période délicate, par le stress qu'elle provoque : entre 50 et 60 % de la quantité totale de chair est alors expulsée sous forme de gamètes.

Les différences observées dans les mortalités sur les cultures à plat et en surélevé s'expliquent par 2 raisons : d'une part, la culture en surélevé occupe une position moyenne plus basse sur l'estran, ce qui constitue un avantage certain sur le plan des rendements physiologiques, d'autre part, ces installations bénéficient par nature d'une circulation d'eau plus importante, permettant une évacuation rapide de la matière

organique des huîtres mortes. On a déjà vu que la zone à plat est située haut sur l'estran. Du fait de la rugosité du sol d'un parc garni, et de l'absence de percolation, la matière organique sera évacuée moins rapidement et pourra gêner considérablement les huîtres voisines (où le parc voisin). Ceci explique que les mortalités sur les élevages à plat se présentent souvent sous forme de taches.

V. EXAMEN DES SOURCES POTENTIELLES DE NUISANCES

Celles-ci peuvent être classées en sources naturelles (basses salinités) et en sources d'origine humaine, liées à l'activité industrielle, agricole, aux concentrations urbaines, ou à des sources ponctuelles concernant des cas particuliers (rejets accidentels n'appartenant pas aux catégories précédentes).

5.1. Sources naturelles

Comme on l'a vu, les fortes précipitations au cours du premier semestre 1988 ont entraîné une baisse importante de salinité dans le bassin. Ces baisses ont particulièrement affecté les secteurs de la Seudre, où des salinités inférieures à 10 ‰ ont été mesurées. Dans les secteurs ouverts du bassin, dont fait partie Ronce les Bains, les salinités les plus basses observées ont été de 20 ‰. Le déficit de salinité a été général dans le bassin. Il n'a pas entraîné, dans les secteurs plus amont, de conséquences particulières sur les croissances ou les mortalités courantes, dans la mesure où ces faibles salinités se sont installées progressivement. Dans le cas de Ronce les Bains, la faiblesse de ces salinités moyennes n'a pu entraîner qu'une gêne minime, et n'a certainement contribué que de façon très marginale aux problèmes observés. Ce n'est que dans le cas où se seraient produits des transferts en provenance de zone de salinité normale, qu'on pourrait invoquer ce paramètre comme l'un des facteurs ayant provoqué des mortalités.

5.2. Sources d'origine industrielle

Celles-ci, dans le département de Charente-Maritime, ont été identifiées dans le cadre du Réseau National d'Observation, comme pouvant être constituées essentiellement par des métaux lourds. Le Cadmium lié au

rejet des mines de Blende, dans le Lot, est ainsi présent dans l'estuaire de la Gironde et des concentrations notables ont été rencontrées sur les gisements naturels, qui peuvent rendre ces huîtres impropres à une consommation excessive par l'homme. Ces huîtres elles-mêmes n'en sont pas autrement affectées. Les teneurs mesurées à l'intérieur du bassin sont nettement inférieures à celles rencontrées dans les eaux de la Gironde, et les mollusques eux-mêmes accumulent des quantités bien moindres. Les teneurs observées dans le bassin sont comprises entre 4,5 et 10 ug/g d'animal. Elles sont égales ou inférieures à la moyenne nationale. Il semble donc qu'on ne puisse pas incriminer le cadmium comme un facteur susceptible d'avoir contribué aux mortalités observées.

5.3. Sources de nuisances d'origine agricole

Le développement d'une agriculture intensive dans la zone littorale, suscite une inquiétude légitime de la part de la profession ostréicole, puisque des perturbations de l'environnement marin sont dues de façon certaine, à des rejets agricoles, notamment sur les côtes de Bretagne. Il convient donc d'examiner soigneusement les faits disponibles dans le cas de Ronce les Bains.

Les points de rejet d'effluents agricoles sont reportés sur la figure 16, où ils sont représentés par une flèche. Il s'agit essentiellement du Chenal de Chaillevette, qui reçoit les eaux de pompage du marais de Saint Augustin, zone mise récemment en culture de caractère intensif.

On observe qu'il n'y a pas de rejet de nature agricole au voisinage de Ronce les Bains. Le débouché du chenal de Chaillevette est situé à une dizaine de kilomètres du banc de Ronce, et il n'a pas été noté de mortalités anormales (supérieures à 10 %) à proximité du débouché du chenal, sur les huîtres en place depuis plusieurs mois. Par ailleurs, le gisement naturel de Mouillelande, situé en Seudre, à 1 kilomètre en amont du chenal, ne présente pas non plus de mortalités anormales.

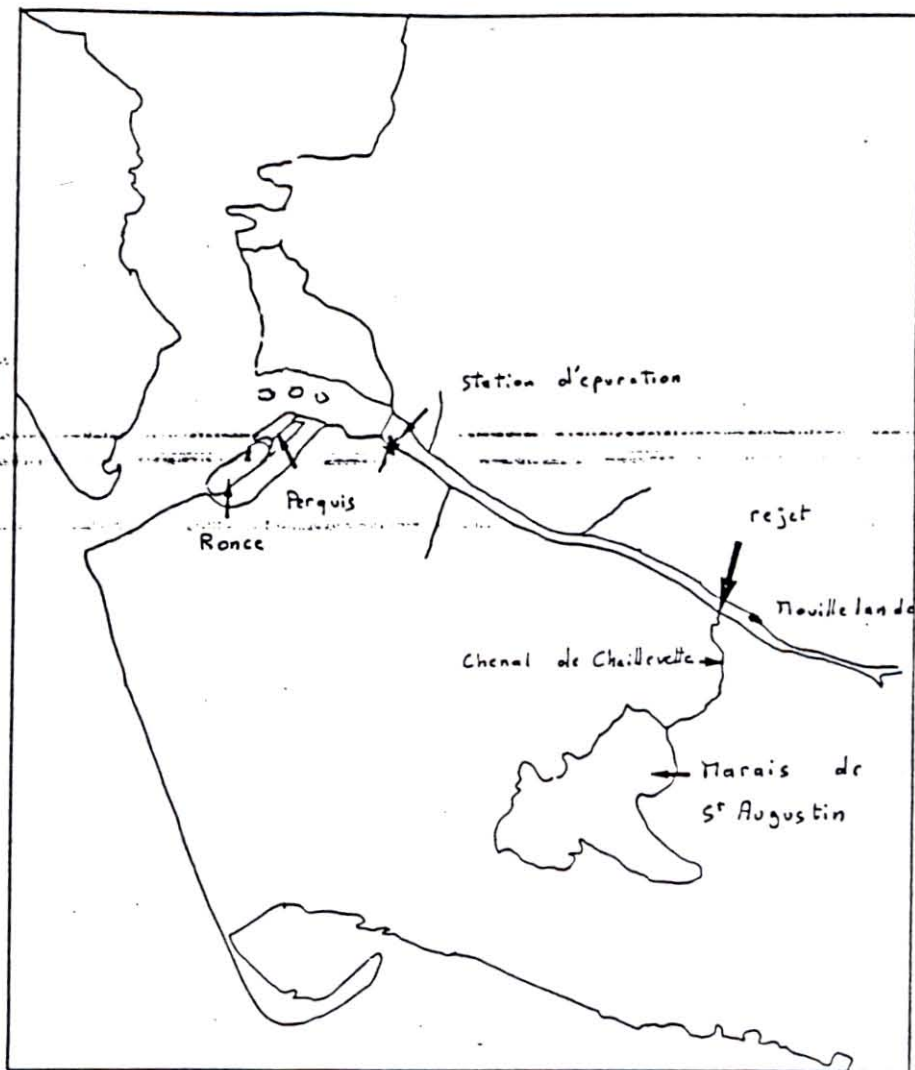


Figure 16 : Localisation de points de rejets dans le Sud du bassin de Marennes-Oléron.

Chenal de Chaillevette

Station d'épuration de la Tremblade.

Un autre fait doit être noté : le gradient de mortalité sur la zone atteinte, tel qu'il a été mis en évidence par la commission d'enquête, est orienté à l'opposé du rejet : les zones les plus atteintes sont les plus éloignées du rejet. L'ensemble de ces observations ne correspond pas du tout à ce qui est généralement observé dans le cas d'une nuisance, où les perturbations les plus fortes sont situées à proximité immédiate du rejet, avant que celui-ci ne soit dilué dans le milieu naturel. Mais il convient néanmoins de vérifier très soigneusement l'absence ou la présence de produits phytosanitaires, ce sujet étant l'objet de polémiques constantes.

Les principaux produits employés sur la zone de culture intensive du marais de St Augustin ou sur le bassin versant qui s'y déverse (5 000 ha)

ont donc été recherchés. La liste de ces produits phytosanitaires a été obtenue grâce au concours de l'INRA. Elle s'établit comme suit :

Chlormephos

Delta methrine

Mercaptodimethur

Propiconazole

Bromoxynyl

Toxynyl

Lindane

Les prélèvements ont consisté en un premier lot de 100 huîtres sur les bancs de Ronce et de Perquis, en des points répartis sur la zone et en un deuxième lot de 100 huîtres, sur le gisement naturel de Mouillelande à proximité du rejet. Ils ont été confiés à un laboratoire indépendant, spécialisé au plan national dans les analyses de produits phytosanitaires (Laboratoire d'Analyse et de Recherche Agricole, Toulouse). A l'heure où est rédigé ce rapport, les résultats ne sont pas encore parvenus. Ils seront diffusés dès réception, aux destinataires de ce rapport, avec les commentaires et les conclusions correspondantes.

D'autres analyses ont été portées à notre connaissance, qui ont été réalisées par le Laboratoire Départementale d'Hygiène, à la demande des professionnels. Le rapport d'analyse mentionne la présence de sels nutritifs à des teneurs non susceptibles d'entraîner une eutrophisation du milieu et la présence de Lindane à raison de 600 ng/l. Le prélèvement a été réalisé au débouché du chenal de Chaillevette. On remarquera que cette teneur est plus de 10 000 fois inférieure au seuil de toxicité du Lindane pour les mollusques.

5.4. Rejets urbains

La station d'épuration de La Tremblade a pu être mise en cause, notamment en raison de la proximité du rejet (Mus de Loup) avec la zone atteinte. Sur la foi des renseignements fournis par cette station (courrier en annexe), il ne semble pas qu'il ait été signalé des anomalies de fonctionnement pouvant être incriminées comme participant aux phénomènes de mortalité observés à Ronce les Bains.

5.5. Apports ponctuels

Aucun des cas d'apports ponctuels invoqués par certaines personnes (St Trojan, rumeur d'un traitement contre les chenilles processionnaires du pin) n'a pu être établi, après enquête.

VI. VERIFICATION DE L'HYPOTHESE MALADIE INFECTIEUSE

6.1. Méthode

Les agents pathogènes provoquant des maladies infectieuses chez les mollusques appartiennent aux différents grands groupes zoologiques (Virus, Bactéries, Rickettsies, Protozoaires, Métazoaires).

Le diagnostic de ceux-ci, en l'absence de lignées cellulaires établies, ne peut être réalisé que par l'utilisation de techniques histologiques et cytologiques (microscopie photonique et microscopie électronique) qui implique, de travailler avec du matériel vivant. Les huîtres qui sont ouvertes soigneusement afin de ne pas léser accidentellement les tissus, sont examinées macroscopiquement, puis une tranche d'huître est prélevée avant d'être fixée dans un liquide ad hoc. Les contrôles sanitaires sont réalisés, après préparation de coupes histologiques colorées, par lecture des différentes huîtres. Les organes contrôlés ont été le manteau, les branchies, les palpes labiaux, la glande digestive, le coeur, la glande génitale, le rein ainsi que les tissus conjonctifs, et sanguins. Les premiers prélèvements ont été réalisés le 31 mai avec Mr Surre-Pichot.

Le 20 Juillet, des analyses ont été réalisées sur des lots de 10 huîtres prélevées sur plusieurs parcs répartis en différents points du banc de Ronce les Bains et élevées soit à plat, soit sur tables. Plusieurs origines ont été contrôlées, notamment des huîtres natives du bassin de Marennes-Oléron, transférées ou non, et des huîtres originaires de Gironde et de bassins méditerranéens (Thau - Leucate). Le nombre total d'huîtres contrôlées, de 103, est statistiquement suffisant pour déceler un éventuel agent pathogène. Dans l'hypothèse où les mortalités seraient dues à un agent pathogène, cette marge de sécurité nous a paru largement suffisante en regard des pourcentages notés de mortalité qui varient entre 40 % et plus de 70 %.

6.2. Résultats

Lors des examens macroscopiques, aucun signe clinique anormal n'a pu être constaté. Les différents observateurs n'ont relevé aucune lésion branchiale particulière, indentation ou perforation, les bords du manteau étaient dans l'ensemble épais et bien pigmentés et les muscles des huîtres offraient une résistance normale à l'ouverture. De plus, elles présentaient toutes une glande génitale très développée, et la glande digestive était fortement pigmentée en brun. Seule, quelques tâches verdâtres, couramment observées sur le manteau et dues à l'accumulation d'hémocytes ont été notées chez quelques huîtres ainsi qu'un petit abcès dans le manteau d'une huître.

L'analyse microscopique des huîtres a confirmé le développement des gonades et le bon état des tissus du système digestif. Aucune lésion anatomopathologique n'a été observée, en particulier des lésions des épithéliums stomacaux et des diverticules digestifs, comme cela a pu être noté dans le cas de mortalités estivales. Les cellules sanguines apparaissent normales en taille et en nombre et aucune malformation de type kystique ou fibreuse n'a été relevée. Toutefois quelques anomalies cytologiques ont été relevées. Elles feront l'objet d'une étude complémentaire sur de nouveaux échantillons. Enfin aucun agent pathogène ou syndrome infectieux n'ont été identifiés à l'exception du kyste mentionné sur le manteau qui renfermait une colonie bactérienne.

En conclusion, au vu de ces analyses, l'hypothèse d'une maladie infectieuse ou parasitaire paraît pouvoir être écartée.

Ceci constitue un élément très positif, dans le cas présent, car tout le monde a encore en mémoire les maladies virales ayant entraîné la disparition totale de l'huître portugaise au début des années 70.

CONCLUSIONS

En l'état actuel des résultats disponibles, les mortalités observées sur les bancs de Ronce et de Perquis semblent être dues à l'action de 3 facteurs :

- Un facteur structurel : le banc de Ronce notamment est le plus élevé du bassin, il culmine à la cote + 3,5 (coefficient de marée égal à 30), ce qui correspond à un temps de découverture environ de 30 %.

- Un facteur lié au fonctionnement de l'écosystème du bassin de Marennes-Oléron. La nourriture disponible produite dans la zone à la rencontre des eaux de la Charente et du Pertuis d'Antioche, circule du Nord vers le Sud, le banc de Ronce étant irrigué en dernier. En raison de l'importance du stock d'huîtres cultivées dans le bassin de Marennes-Oléron, les eaux sont appauvries vers le Sud. Par ailleurs, les entrées de nourriture phytoplanctonique par le Sud du bassin sont très fugitives.

- A ces 2 facteurs, présentant un caractère permanent, s'est ajouté, cette année, un contexte climatique et donc hydrologique très défavorable : les températures hivernales anormalement élevées, ont entraîné une activité métabolique intense, qui n'a pu dans le cas des bancs de Ronce et de Perquis être satisfaite, en raison de l'absence de réserves énergétiques constatée dès le début de l'hiver. La détresse physiologique a atteint son paroxysme au début du mois de mai, lors du réchauffement printanier des eaux. Ceci s'est alors traduit par d'importantes mortalités. Par la suite, après un apport très éphémère de nourriture, le niveau de celle-ci est demeuré inférieur aux normales saisonnières, alors que l'huître débutait la gamétogenèse, exigeant donc d'importants apports énergétiques, non satisfaits. Il se produit donc en juin et juillet des mortalités résiduelles qui ne devraient cesser qu'après la ponte, celle-ci constituant un nouveau stress. Les baisses de salinité observées cette année ont pu contribuer partiellement à l'aggravation de la situation.

Parmi les sources de nuisances susceptibles de provoquer des mortalités, aucune n'a pu être mise en évidence. En particulier, et en l'état actuel des résultats sur Ronce, un lien de causalité entre les mortalités d'huîtres et les rejets d'origine agricole n'est pas établi.

Enfin, l'hypothèse d'une maladie infectieuse ou parasitaire paraît pouvoir être écartée, ce qui représente un fait positif, compte tenu du risque représenté par ce genre de maladie.