

**lfremer**

Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral  
Laboratoire d'Arcachon

Isabelle AUBY  
Danièle MAURER  
Nadine MASSON  
Florence D'AMICO  
Danièle DEYNU  
M-Pierre TOURNAIRE  
Gilles TRUT  
Christian CANTIN  
Claude PELLIER

Juillet 2000

# Etude des causes du faible captage de naissain d'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon en 1998



AVANT - PROPOS .....	8
INTRODUCTION.....	10
<b>MODALITES DE LA REPRODUCTION DE L'HUITRE CREUSE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> GENERALITES ET CAS DU BASSIN D'ARCACHON .....</b>	<b>14</b>
<b>CHAPITRE 1 MODALITES DE LA REPRODUCTION ET DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE CHEZ L'HUITRE CREUSE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> .....</b>	<b>16</b>
1. DIFFERENCIATION SEXUELLE .....	16
2. GAMETOGENESE .....	16
3. PONTE.....	17
4. FECONDATION ET VIE LARVAIRE.....	17
5. FACTEURS INFLUANT SUR LE DEVELOPPEMENT DES LARVES DE <i>CRASSOSTREA GIGAS</i> .....	18
5.1. NUTRITION LARVAIRE .....	18
5.2. TEMPERATURE ET SALINITE.....	21
6. CONCLUSION.....	21
<b>CHAPITRE 2 LA REPRODUCTION DE L'HUITRE CREUSE DANS LE BASSIN D'ARCACHON SYNTHESE DES RESULTATS DES 12 DERNIERES ANNEES PARTICULARITES DE 1998 .....</b>	<b>24</b>
1. INTRODUCTION.....	24
2. METHODES.....	26
2.1. PECHEES DE LARVES.....	26
2.2. NUMERATION DES LARVES .....	26
2.3. NUMERATION DES NAISSAINS SUR LES COLLECTEURS.....	27
3. RESULTATS.....	27
3.1. PECHEES DE LARVES.....	27
3.2. NAISSAIN .....	31
4. CONCLUSION.....	31
<b>HYPOTHESE 1 : "CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DU MILIEU" .....</b>	<b>32</b>
<b>CHAPITRE 3 CONDITIONS METEOROLOGIQUES ET HYDROLOGIQUES DANS LE BASSIN 1998 ET 1999 PAR RAPPORT AUX 10 ANNEES PRECEDENTES .....</b>	<b>34</b>
1. INTRODUCTION.....	34
2. RESULTATS.....	36
2.1. METEOROLOGIE ET DEBIT DES COURS D'EAU.....	36
2.2. HYDROLOGIE .....	40
3. DISCUSSION .....	47
4. CONCLUSION.....	49
<b>HYPOTHESE 2 : "DEFAUT DE L'ALIMENTATION LARVAIRE" .....</b>	<b>50</b>
<b>CHAPITRE 4 ALIMENTATION LARVAIRE : LE PHYTOPLANCTON EN ETE</b>	<b>52</b>
1. INTRODUCTION.....	52
2. METHODES.....	52



2.1. QUELQUES DEFINITIONS.....	52
2.2. SITES ET FREQUENCE DES PRELEVEMENTS.....	54
2.3. CHLOROPHYLLE A .....	54
2.4. CYTOMETRIE EN FLUX.....	54
2.5. MICROSCOPIE OPTIQUE .....	55
2.6. MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE .....	55
3. RESULTATS .....	57
3.1. CHLOROPHYLLE A .....	57
3.2. CYTOMETRIE EN FLUX.....	59
3.3. MICROSCOPIE OPTIQUE .....	65
3.4. MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE .....	75
4. DISCUSSION .....	77
4.1. ANNEE 1999 .....	77
4.2. ANNEE 1998 .....	80
4.3. METHODES D'INVESTIGATION .....	81
5. CONCLUSION.....	83
HYPOTHESE 3 : "PATHOLOGIE LARVAIRE" .....	86
CHAPITRE 5 RECHERCHE D'UNE PATHOLOGIE LARVAIRE.....	87
1. INTRODUCTION.....	87
2. OBSERVATIONS PREALABLES REALISEES SUR LES LARVES ET LES NAISSAINS DU MILIEU NATUREL .....	88
3. ANALYSES REALISEES SUR LES POPULATIONS LARVAIRES DU BASSIN D'ARCACHON EN 1999.....	90
3.1. MATERIEL ET METHODES.....	90
3.2. RESULTATS ET INTERPRETATION.....	93
4. CONCLUSION.....	93
HYPOTHESE 4 : "CONTAMINATION DU MILIEU" .....	94
CHAPITRE 6 SOURCES ET NIVEAUX DE CONTAMINATION DES PRINCIPAUX POLLUANTS POUVANT ETRE INCRIMINES DANS LES PROBLEMES DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE DES HUITRES DU BASSIN D'ARCACHON .....	98
1. GENERALITES SUR LES PESTICIDES .....	99
1.1. DEFINITIONS .....	99
1.2. LES CRITERES DE RISQUE ET LES CLASSEMENTS DES MATIERES ACTIVES .....	100
2. SOURCES DE CONTAMINATION EN PESTICIDES DANS LE BASSIN .....	102
2.1. ACTIVITES CULTURALES ET DEMOUSTICATION.....	102
2.2. LE NAUTISME .....	106
3. ANALYSE DES PESTICIDES DANS LES EAUX DES PRINCIPAUX EXUTOIRES ET DU BASSIN D'ARCACHON AU COURS DE L'ETE 1999.....	116
3.1. MATERIEL ET METHODES.....	116
3.2. RESULTATS .....	118
4. CONCLUSION.....	134
CHAPITRE 7 TESTS D'ECOTOXICOLOGIE LARVAIRE REALISES PENDANT L'ETE 1999.....	138
1. INTRODUCTION.....	138
2. METHODES.....	138

<b>2.1. EAUX TESTEES .....</b>	<b>138</b>
<b>2.2. PONTE ET FECONDATION.....</b>	<b>140</b>
<b>2.3. CONDUITE DES ELEVAGES LARVAIRES.....</b>	<b>140</b>
<b>2.4. LES OBSERVATIONS .....</b>	<b>140</b>
<b>3. RESULTATS .....</b>	<b>141</b>
<b>4. CONCLUSION.....</b>	<b>143</b>
<b>DISCUSSION GENERALE.....</b>	<b>144</b>
<b>1. IMPORTANCE ET QUALITE DES PONTES EN 1998.....</b>	<b>144</b>
<b>2. CLIMATOLOGIE ET PHYSICO-CHIMIE DE L'EAU.....</b>	<b>144</b>
<b>3. NUTRITION LARVAIRE .....</b>	<b>145</b>
<b>4. PATHOLOGIE .....</b>	<b>147</b>
<b>5. CONTAMINANTS .....</b>	<b>147</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>151</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>152</b>



## Résumé

Après une quinzaine d'années pendant lesquelles le captage de l'huître creuse a été normal ou pléthorique dans le Bassin d'Arcachon, la saison 1998 a donné de très faibles résultats.

Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce déficit : conditions climatiques et hydrologiques exceptionnelles, manque de nourriture pour les larves, maladie, contamination du milieu ayant eu un impact sur les larves ou sur leur nourriture.

Chacune de ces hypothèses a été étudiée, en reprenant les données de 1998 lorsqu'elles étaient disponibles, et en acquérant l'ensemble des données nécessaires à l'explication du phénomène au cours de la saison de reproduction 1999.

L'analyse des séries de données climatologiques et hydrologiques a montré que l'été 1998 était caractérisé par une température assez froide (baisse brutale après la première ponte massive), une salinité à peine plus élevée que la normale et de faibles teneurs en nitrate. Théoriquement, le facteur température a pu jouer sur la croissance larvaire en la ralentissant et en augmentant les chances de dispersion et de prédation des larves. Toutefois, l'analyse des séries de données de température et de captage montre que le Bassin a déjà connu de telles conditions thermiques (1988) sans que cela provoque un tel déficit de captage. Ce seul facteur ne peut donc expliquer les problèmes de 1998. Le niveau de salinité n'était pas assez élevé par rapport à la normale pour ralentir significativement le développement larvaire. Enfin, les faibles teneurs en nitrate n'ont pas empêché un développement phytoplanctonique normal (en terme quantitatif global) pour la saison.

Le petit phytoplancton servant de nourriture pour les larves a fait l'objet d'une étude détaillée, à la fois qualitative et quantitative, pendant l'été 1999. Les observations réalisées confirment celles réalisées au milieu des années 1980, et les complètent : le phytoplancton estival dans le Bassin d'Arcachon est abondant et très diversifié, ce qui constitue une condition très favorable à la satisfaction des besoins alimentaires des larves de *C. gigas*. En 1998, les observations réalisées en routine sur le phytoplancton dans le cadre des réseaux IFREMER montrent que deux espèces susceptibles de servir à l'alimentation larvaire se sont bien développées. Cet élément, et le fait que les premiers stades larvaires (les plus exigeants sur le plan nutritionnel) se sont bien développés, n'incitent pas à impliquer le facteur nutritionnel dans les problèmes de captage en 1998.

Le virus de type herpès, dont le pouvoir pathogène a été démontré expérimentalement chez les larves d'huîtres creuses, a été recherché dans les larves du Bassin pendant l'été 1999, en utilisant deux méthodes différentes. Aucune des analyses n'a révélé la présence de ce virus dans les larves. Néanmoins, des analyses antérieures avaient montré que le naissain provenant d'Arcachon en 1998 en était porteur, comme d'autres échantillons provenant de zones de captage naturel ou d'écloserie. En l'absence d'analyses poussées sur les échantillons de larves en 1998 et en raison de la méconnaissance des facteurs influant sur l'activité pathogène de ce virus, il est impossible de savoir s'il était ou non impliqué dans les mortalités de 1998.

Comme tous les milieux côtiers soumis à des impacts anthropiques, le Bassin d'Arcachon subit des contaminations liées aux activités qui s'exercent dans la

Baie elle-même ou sur son bassin versant (agriculture, sylviculture, entretien des routes et des espaces verts, démoustication, nautisme). Notre étude a permis de faire le point sur le niveau de certains contaminants (TBT, cuivre) et de réaliser des dosages de substances dont les concentrations dans l'eau de la Baie étaient inconnues (hydrocarbures aromatiques polycycliques, pesticides). Un effort particulier a été apporté à l'inventaire et au dosage des biocides d'origine urbaine, agricole, sylvicole et nautique.

Il ressort de cette étude que des contaminants sont apportés au Bassin pendant l'été par les activités nautiques (via les peintures antisalissure, et les moteurs des bateaux) et agricoles. Cependant, la plupart des contaminants (hydrocarbures et pesticides) n'atteignaient pas, en 1999, de niveaux susceptibles de perturber le développement des espèces végétales et animales. Seuls certains d'entre eux approchaient ou dépassaient leur seuil d'innocuité pour les petites espèces phytoplanctoniques servant de nourriture pour les larves. Les activités génératrices de pollution par les biocides ne se sont pas radicalement modifiées depuis plusieurs années. Par ailleurs, en 1998, les premiers stades larvaires (les plus sensibles aux polluants) se développaient normalement. Il n'y a donc pas de raison pour mettre en cause une pollution chronique du Bassin pour expliquer le déficit de captage de 1998.

En conclusion, si l'étude réalisée en 1999 a permis de recueillir des informations utiles à la compréhension du fonctionnement de l'écosystème, elle n'a pas permis d'apporter de réponse définitive aux causes du faible captage de 1998. Il est en effet difficile d'expliquer un phénomène a posteriori, surtout lorsqu'il ne se reproduit pas l'année où on l'étudie en détail.

Toutefois, l'étude entreprise en 1999 a été utile à différents égards. Tout d'abord, elle a permis de synthétiser les données anciennes (climatologie, hydrologie, comptages de larves). Désormais, il sera plus facile de caractériser une nouvelle saison de reproduction par rapport à la normale. De plus, de nouvelles données essentielles ont été acquises au cours de ce travail, en matière de petit phytoplancton et de contaminants.

Enfin, cette étude a été l'occasion de définir une méthodologie adaptée à l'étude des facteurs influant sur la reproduction de l'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon

## Avant - propos

De nombreuses personnes affiliées à divers organismes ont participé, à des titres variés, à la réalisation de cette étude. Ces personnes et leurs actions dans le programme sont citées dans les paragraphes suivants.

- **Station IFREMER Arcachon** : Florence d'Amico, Isabelle Auby, Christian Cantin, Jean-Pierre Deltreil, Danièle Deynu, Olivier Geffard, Edouard His, Nadine Masson, Danièle Maurer, Claude Pellier, Marie-Pierre Tournaire, Gilles Trut, Florence Trut (Définition de l'étude, enquêtes, prélèvements, numérations et déterminations phytoplanctoniques, réalisation des expériences d'écotoxicologie, analyse des échantillons, rédaction du rapport).

Outre ce personnel permanent, trois stagiaires sont intervenus dans cette étude : Serge Latherrade, Marie-Claude Lécart, Xavier Lafon (Aide pour les enquêtes, les prélèvements et les analyses).

- **Station IFREMER la Tremblade – Laboratoire Pathologie des Mollusques** : Tristan Renault, Anne Thébault (Recherche du virus herpès dans les échantillons de larves).

- **Observatoire Océanologique de Banyuls – Université de Paris VI - UMR CNRS 7628** : Marie-Josèphe Chrétiennot-Dinet (détermination en microscopie électronique à balayage des petites espèces phytoplanctoniques) et Claude Courties (analyses en cytométrie en flux).

- **Laboratoire de physico-chimie des Systèmes Naturels - Université Bordeaux I - UMR 5472 CNRS** : Hélène Budzinski, K. Le Menach (Dosages des hydrocarbures aromatiques polycycliques).

- **Groupement Interrégional de Recherche sur les Produits Agropharmaceutiques (GIRPA) - Beaucauzé** : Pierre-Yves Communal, Florence Gérault (Dosage des pesticides).

- **Service Régional de la Protection des Végétaux – Bordeaux** : Philippe Reulet, Isabelle Rami (Définition des listes de pesticides d'origine agricole potentiellement présents dans les cours d'eau, prélèvements dans les ruisseaux).

- **Centre IFREMER Nantes – Laboratoire DEL/PC** : Jacek Tronczynski, Karine Moisan, Catherine Munsch (Aide à la définition des listes de pesticides à rechercher dans l'eau, conseils méthodologiques en relation avec le GIRPA, aide logistique pour la préparation du flaconnage).

- **Entente Interdépartementale de Démoustication (EID)** : Christophe Courtin (Données sur la méthodologie des traitements antimoustiques réalisés sur les pourtours du Bassin).

• **Agence de l'eau Adour-Garonne** : Thomas Pelte (Données sur les pesticides suivis dans le cadre du Réseau National de Bassin sur l'Eyre)

Par ailleurs, dans le cadre de l'enquête réalisée au sujet des peintures antisalissure, nous avons bénéficié de la collaboration de **Monsieur Jean Mouliets, Président de la CINSA Aquitaine (Chambre Syndicale Régionale du Commerce et des Industries Nautiques Sud-Atlantique)**. Son appui auprès des fabricants et revendeurs locaux de peinture antisalissure nous a permis d'obtenir les informations souhaitées sans nous heurter à d'importantes réticences de la part des uns et des autres et nous l'en remercions.

Par la même occasion, nous tenons à remercier les professionnels (fabricants et marchands de peintures, gestionnaires de golfs et vendeurs des jardinerie, EPIC Port d'Arcachon) pour nous avoir transmis facilement les données relatives à leurs ventes ou à leur utilisation de produits biocides.

La relecture de ce rapport a été assurée par Jean-François Dubernet (CEMAGREF – Cestas), Philippe REULET (SRPV – Bordeaux), Marie-Josèphe Chrétiennot-Dinet, Claude Courties (Observatoire Océanologique de Banyus), René Robert (Centre IFREMER – Brest), Catherine Munschy (Laboratoire IFREMER DEL/PC - Nantes), Anne Thébault, Roger Kantin, Philippe Gouletquer, Tristan Renault, (Station IFREMER – La Tremblade), Edouard HIS (Laboratoire DEL/PC – Arcachon), François Manaud (Station IFREMER – Arcachon), Jean-Pierre Baud (Centre IFREMER – Nantes). Nous les remercions pour leurs remarques concernant ce manuscrit.

Cette étude a bénéficié du soutien financier du programme d'initiative communautaire PESCA axe 6 (fonds FEDER), ainsi que de financements du Conseil Général de la Gironde et du Conseil Régional d'Aquitaine.

## Introduction

L'espèce *Crassostrea gigas* actuellement cultivée en France a été introduite au début des années 1970, en remplacement de *Crassostrea angulata* qui avait été décimée par une épizootie.

Les captages importants de naissains de cette espèce ont été observés dès 1973 dans le Bassin d'Arcachon. Les conditions naturelles du milieu (température, salinité) sont particulièrement favorables à la reproduction de *Crassostrea gigas*.

Depuis cette époque, l'huître creuse s'est reproduite régulièrement dans le Bassin, excepté pendant 5 années consécutives, de 1977 à 1981. Durant ces cinq années, la présence dans les eaux du Bassin d'une molécule organique particulièrement toxique (tributylétain), issue des peintures antisalissure utilisées pour protéger la carène des bateaux, entraînait une mortalité massive et rapide des larves dès les premiers jours de leur évolution dans le milieu (His et Robert, 1980). Le captage a été quasiment nul pendant ces années. L'utilisation des peintures à base de composés organiques de l'étain a été réglementée au printemps 1982. Dès l'été suivant et jusqu'à l'été 1997, les huîtres se sont à nouveau reproduites normalement dans le Bassin. En fin d'été, selon les années, on pouvait dénombrer quelques centaines de naissains fixés sur les collecteurs pour les années moyennes, quelques milliers pour les années de captage pléthorique comme durant les quatre dernières années 1994, 1995, 1996 et 1997.

Ainsi, depuis les années 1980, le Bassin d'Arcachon est devenu le premier centre de reproduction d'huîtres creuses en France. Les éleveurs bretons, normands et méditerranéens s'approvisionnent majoritairement en naissain d'origine arcachonnaise. On estime aujourd'hui que 60 à 70 % des huîtres creuses commercialisées en France sont natives du Bassin d'Arcachon. La commercialisation du naissain constitue une part significative de la ressource des professionnels arcachonnais. Une enquête récente menée par les services des Affaires Maritimes d'Arcachon montre qu'une quarantaine d'entreprises ostréicoles du Bassin vivent essentiellement du commerce du naissain. Sur l'ensemble de la profession, le chiffre d'affaire représenté par cette activité serait, ces dernières années, proche de 25 % du chiffre total de l'ostréiculture.

Le très fort déficit de captage marquant la saison de reproduction 1998 est apparu comme extrêmement atypique par rapport aux saisons précédentes et l'impact négatif de ce déficit sur l'économie locale et l'organisation de l'approvisionnement pour les autres bassins ostréicoles comme très important. Au delà de ces constatations, et à la lumière des observations effectuées notamment au cours de la "crise TBT", l'expérience scientifique a montré que les larves de Bivalves sont des organismes plus sensibles que d'autres à une modification des caractéristiques du milieu. La défaillance du développement de ces "organismes sentinelles" pourrait ainsi refléter un déséquilibre dans le système naturel et être interprétée comme un signal d'alerte pour le fonctionnement écologique du Bassin.

C'est pourquoi il nous a été demandé de mettre en œuvre une méthodologie de recherche des causes de ce dysfonctionnement, comportant l'analyse des données disponibles de l'année 1998 et le recueil, dès l'été 1999, des données supplémentaires essentielles à

l'étude de ce phénomène dans le cas où il se reproduirait. La saison de captage 1999 s'étant avérée excellente, les résultats obtenus constituent une référence des conditions permettant le succès de la reproduction. Ils permettent également de dégager une stratégie de suivi des larves et du milieu pour les années futures.

Notre étude s'est articulée autour de quatre hypothèses, qui ont été élaborées avec l'aide de plusieurs laboratoires des Départements "Environnement Littoral" et "Ressources vivantes" de l'IFREMER.

Ces hypothèses sont les suivantes.

- ☞ 1. **Conditions météorologiques et physico-chimiques** des eaux du Bassin particulièrement défavorables au développement des larves d'huîtres en 1998.

La discussion de cette hypothèse s'appuie sur l'examen des données METEO France et celles du Réseau Hydrologique IFREMER recueillies depuis une dizaine d'années.

- ☞ 2. **Défaut de l'alimentation larvaire.**

Cette hypothèse est difficile à aborder en l'absence d'observations spécifiques effectuées en 1998. Cependant les données du Réseau Hydrologique concernant la biomasse phytoplanctonique et celles du Réseau de Surveillance du Phytoplancton (REPHY) apportent des éléments qui peuvent être comparés aux résultats de l'étude approfondie, réalisée en 1999, sur les espèces phytoplanctoniques susceptibles d'être consommées par les larves d'huîtres.

- ☞ 3. Existence d'une **pathologie larvaire** létale.

Cette possibilité a été évoquée et testée sur quelques échantillons de larves recueillies en 1998. En 1999, l'échantillonnage et l'examen des larves ont été réalisés systématiquement pendant toute la période de reproduction.

- ☞ 4. Présence d'une **contamination** ayant affecté les larves elles-mêmes ou leur nourriture.

Certains polluants (cuivre, TBT, plusieurs pesticides dans les cours d'eau) sont suivis dans le cadre de réseaux pérennes (Réseau National d'Observation, Réseau National de Bassin Adour Garonne) ou d'études particulières. Ces informations sont utiles pour essayer de caractériser l'année 1998 par rapport aux années précédentes mais elles ne sont peut être pas suffisantes. C'est pourquoi il nous a semblé essentiel de faire le point sur les sources de contaminants et leurs niveaux de concentration dans les eaux des cours d'eau et du Bassin. Ce travail, réalisé en 1999, permet de plus de dégager une stratégie de suivi du milieu pour les années futures.

Ce rapport, après un exposé général des modalités de la reproduction de l'huître creuse et de son déroulement dans le Bassin d'Arcachon, présente successivement les données se rapportant à ces quatre hypothèses en les discutant. Excepté pour la première hypothèse, il s'agit principalement de résultats obtenus en 1999 et qui sont comparés aux éléments

disponibles de l'année 1998. Pour finir, une discussion générale regroupe l'ensemble des réflexions et contient des propositions de suivi à mettre en place pour les années futures.



**Modalités de la reproduction de l'huître creuse *Crassostrea gigas*  
Généralités et cas du Bassin d'Arcachon**



## Chapitre 1

### Modalités de la reproduction et du développement larvaire chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*

#### 1. Différenciation sexuelle

L'huître creuse japonaise *Crassostrea gigas* est hermaphrodite avec sexualité alternative irrégulière. Les individus matures sont soit mâles soit femelles (les cas d'hermaphrodisme simultané sont très minoritaires). Ils peuvent changer de sexe soit au cours d'une même saison de reproduction (rarement), soit au cours de saisons consécutives. Il existe une certaine protandrie chez cette espèce (pourcentage de mâles élevé chez les individus de un an, atteignant 70 %). Au cours de la seconde saison de reproduction, on observe 50 à 60 % de femelles tandis que dans une population plus âgée, les femelles sont nettement dominantes. La différenciation des sexes s'effectue à l'automne précédant la saison de reproduction (Galtsoff, 1964 ; Lubet, 1981). Les mécanismes physiologiques contrôlant le déterminisme des changements de sexe sont encore mal connus. Les facteurs externes (température, nutrition) peuvent déclencher les changements de sexe et même fortement influencer les sex-ratios (Gérard *et al.*, 1995 ; Lango-Renoso *et al.*, 1999).

#### 2. Gamétogénèse

En fin d'automne, *Crassostrea gigas* présente une activité réduite de la gonade jusqu'au printemps suivant. Dans le Bassin d'Arcachon, la gamétogénèse (fabrication des cellules sexuelles) redevient très active entre les mois de mars et d'avril. Selon les conditions du milieu, la maturité sexuelle atteint son maximum entre mai et juillet. Ce maximum, défini par Galtstoff (1964) comme la "phase instable", correspond à la période au cours de laquelle les huîtres sont sensibles aux stimuli (température, pression) propres à déclencher le frai. Une épaisse couche blanc crème enveloppe la masse viscérale ; les huîtres sont alors dites "laiteuses".

Du point de vue biochimique, le cycle de maturation commence par une accumulation de glucides (glycogène) qui seront transformés en lipides de réserve des gamètes dans la dernière phase de la maturation. Dans les populations d'Arcachon, le contenu maximal en glucides est atteint au début du printemps et s'élève, selon les années à des valeurs comprises entre 10 et 22 % du poids sec (Manaud *et al.*, 1997). Les plus fortes teneurs en lipides sont observées avant la première ponte (fin de printemps à début d'été), atteignant de 13 à 20 % du poids sec. Juste après la ponte, les teneurs en lipides représentent environ 6 % du poids sec (Manaud *et al.*, 1997).

Dans le cadre de la reproduction contrôlée des Bivalves, de nombreuses recherches sont menées sur la qualité des gamètes et son influence sur le succès de la reproduction (Samain *et al.*, 1995 ; Devauchelle *et al.*, 1995 ; Ramirez *et al.*, 1999). Chez *Crassostrea gigas*, les réserves lipidiques de l'œuf sont mises majoritairement à contribution pendant l'embryogénèse et les premiers jours de la vie pélagique (His et Maurer, 1988). Gallager *et al.* (1986) estiment que la viabilité des larves de Bivalves peut être influencée par le contenu en lipides neutres des œufs. Cependant, la quantité de lipides contenue dans les

œufs serait nécessaire mais non suffisante pour assurer de bonnes performances larvaires (croissance, survie). En laboratoire, il a été montré que certains acides gras polyinsaturés étaient essentiels aux diverses phases de la reproduction et qu'il était possible de modifier la qualité lipidique des œufs en modifiant la qualité lipidique du régime alimentaire des géniteurs (Samain *et al.*, 1995).

Dans le milieu naturel, un déficit nutritionnel lors du printemps a conduit à un défaut de recrutement à Marennes-Oléron en 1981 (Gouletquer *et al.*, 1995). Cependant, dans l'estuaire de la Gironde, malgré un état de maigreur caractérisé des huîtres, on observe une reproduction naturelle très abondante.

### 3. Ponte

La saison de reproduction dans le Bassin d'Arcachon s'étend de début juin à mi-septembre (His, 1975). La date de déclenchement des premières pontes est liée à la température de l'eau (Manaud *et al.*, 1997). Toutefois, comme l'ont montré les suivis des larves (chapitre 2), les émissions les plus importantes se produisent avant la fin du mois de juillet. D'une façon générale, les populations d'huîtres situées dans la partie orientale de la Baie pondent plus précocement que les populations situées à l'entrée du Bassin.

Selon les années, les pontes peuvent être massives (concernant l'ensemble des populations) ou diffus (les différentes populations frayant les unes après les autres). Par ailleurs, au cours d'une même saison de reproduction, un individu peut pondre de 4 à 9 fois (His, 1991), l'huître reconstituant des produits sexuels entre les différents frais.

### 4. Fécondation et vie larvaire

Dans les 24 heures qui suivent la fécondation (pour une température comprise entre 22 et 24 °C), la larve d'huître, ou **véligère**, est formée, après un rapide passage par le stade trochophore. Sa hauteur est alors d'environ 60 µm. Elle a alors la forme d'un D majuscule d'où son appellation de **larve D**. Elle présente une coquille avec deux valves reliées par une charnière ainsi qu'un velum, sorte de voile cilié qu'elle déploie hors de sa coquille lorsqu'elle nage et qui lui sert à capter sa nourriture. Dès ce stade, les principaux organes larvaires sont en place (Lucas, 1982). L'appareil digestif, notamment, est fonctionnel et n'évoluera pas jusqu'à la fin de la vie pélagique.

La **durée de la vie pélagique** de la véligère est fonction de la température et de la quantité de nourriture disponible. Dans le Bassin d'Arcachon, elle est le plus souvent d'environ **vingt et un jours**. Certaines années exceptionnelles, elle peut ne durer que 15 jours (His, 1991). Au cours de sa vie pélagique, la larve grandit et subit des transformations. La description qui suit est largement reprise de His (1991).

Vers le sixième jour, un crochet, ou umbo, se forme sur la charnière de la coquille. Il est bien visible lorsque la larve, dite alors **umbonée**, dépasse la hauteur de 110 µm. Lorsque la hauteur de la larve dépasse 250 µm, une tache oculaire, improprement appelé œil et jouant un rôle sensoriel, apparaît au niveau de la première ébauche branchiale ; la larve est alors dite **œillée**. Le dernier stade de la vie pélagique est atteint lorsque la larve approche et dépasse la hauteur de 300 µm : c'est la **pédivéligère**. Le velum est toujours actif, permettant à la larve de nager, mais un pied s'est aussi formé. Il permettra à la post-larve de ramper sur le support, de le choisir (rôle sensitif) et de sécréter le ciment assurant la fixation (rôle glandulaire). Après la fixation, la larve subit une métamorphose. Le velum disparaît, les palpes labiaux se forment et les branchies se développent. On définit ce stade

post-larvaire comme **plantigrade**. Lorsque la post-larve est fixée, son pied régresse rapidement.

Une terminologie particulière, basée sur la taille des larves, est employée par les biologistes conchylicoles. Elle s'établit de la manière indiquée dans le tableau 1.

Jours après la fécondation	Appellations des malacologistes	Hauteur (µm)	Stades des biologistes conchylicoles	Hauteur (µm)
1 - 6	Véligères - Larves D	57 - 105	Petites	57 - 105
6 à 18	Véligères umbonées	105 - 260	Evoluées Moyennes Grosses	105 - 150 150 - 235 235 - 260
18 à 22	Véligères oeuillées	260 - 280	En fixation	> 260
22 à 24	Pédiveligères	280 - 300	En fixation	> 260
> 24	Plantigrades	> 300	Naissains	> 300

**Tableau 1** : Stades employés par les biologistes conchylicoles pour décrire le développement larvaire de *Crassostrea gigas* et leurs équivalences avec les appellations des malacologistes d'après les données de la littérature (His, 1991).

## 5. Facteurs influant sur le développement des larves de *Crassostrea gigas*

Le développement et la croissance larvaire des Bivalves sont conditionnés par deux séries principales de facteurs : conditions climatiques (influant sur la température et la salinité de l'eau) et conditions nutritionnelles (quantité et qualité).

### 5.1. Nutrition larvaire

Chez *Crassostrea gigas*, le développement larvaire présente plusieurs périodes distinctes : la première correspond à la phase **endotrophe** pendant laquelle les réserves vitellines de l'œuf sont utilisées comme seule source d'énergie (1 à 2 jours); la seconde correspond à la phase **mixotrophe** c'est-à-dire que les aliments d'origine exogène commencent progressivement à être ingérés et à intervenir dans le bilan énergétique, en plus des réserves (quelques jours) ; la troisième correspond à la phase **exotrophe** pendant laquelle les larves se nourrissent à partir du milieu extérieur (His, 1991). A la fin de la troisième période, les larves accumulent de la matière organique sous forme de protides qui pourraient jouer un rôle énergétique important lors de la métamorphose et du passage à la vie benthique (His et Maurer, 1988).

Les **larves D s'alimentent** en laboratoire dès le premier jour de leur formation (soit 24 h après la fécondation) tandis que dans le milieu naturel, les premières ingestions d'algues se produiraient essentiellement **48 h après la fécondation** (Robert et His, 1988).

*In vitro*, les véligères résistent assez bien à un jeûne de 3 jours après la fécondation et récupèrent si elles sont alors placées en présence de nourriture. Un jeûne de 4 jours ou plus provoque des mortalités d'autant plus importantes que la durée du jeûne est longue et plus ou moins rapides selon les conditions de température et de salinité (His et Seaman, 1992). Ainsi à 22 °C et 25 ‰ de salinité, 6 jours de jeûne conduisent à 6 % de mortalités à la fin de la période de jeûne mais à 80 % de mortalités au bout de 15 jours. Tout se passe comme s'il existait un point de non-retour au delà duquel les larves ne survivent que temporairement, même en présence de nourriture. **La disponibilité de nourriture durant**

**les premiers jours de la vie pélagique est probablement d'une importance primordiale pour le succès du recrutement ultérieur** (His et Seaman, 1992). Ajoutons que les possibilités de survie au jeûne de l'espèce sont plus faibles que celles d'autres Bivalves.

En ce qui concerne la croissance, les larves D peuvent jeûner pendant 2 jours après la fécondation sans qu'une altération ultérieure de leur développement ne se produise. En revanche, l'absence de nourriture pendant trois jours, ou plus, après la fécondation, se traduit par une diminution des performances de croissance des larves, d'autant plus marquée que la durée du jeûne est longue (His *et al.*, 1989).

### 5.1.1. Taille de la nourriture

Les larves de Bivalves sont des microphages, c'est à dire qu'elles ne peuvent consommer que des particules de petite dimension. Le faible diamètre de leur bouche et de leur œsophage empêche l'ingestion de particules de plus de 10 µm pour les jeunes stades (larves < 130 µm de longueur) et de 20 à 30 µm pour les stades plus âgés (Riisgard *et al.*, 1980 ; Baldwin et Newell, 1991).

Jusqu'aux années 80, les auteurs pensaient que les larves n'ingéraient pratiquement pas de particules de taille inférieure à 4 µm (Riisgard *et al.*, 1980). La prise de conscience de l'importance du picoplancton (phytoplancton < 2 µm) dans de nombreux milieux et la faiblesse du nombre de particules de taille supérieure à 4 µm ont, entre autres, conduit à remettre en question cette idée (Gallager *et al.*, 1994). Ainsi maintenant, il est clairement établi la capacité des larves de Bivalves, et *a fortiori* des larves de *C. gigas* plus petites que les autres, à capturer et ingérer des particules inférieures à 1 µm aussi bien que des particules de plusieurs µm de longueur (Gallager, 1988 ; Baldwin *et al.*, 1989 ; Baldwin, 1991 ; Baldwin et Newell, 1991 ; Gallager *et al.*, 1994).

### 5.1.2. Sources de nourriture

Il existe une très abondante littérature sur les besoins nutritionnels des larves élevées en laboratoire (Chrétiennot-Dinet *et al.*, 1986) mais peu est connu quant à leur régime alimentaire en milieu naturel. De nombreux auteurs s'intéressent cependant de plus en plus à ce deuxième aspect. Dans le Bassin d'Arcachon, des méthodes originales ont été proposées par His *et al.* (1985) et His et Robert (1987) pour étudier la nutrition larvaire en milieu naturel.

Le **phytoplancton** utilisé en écloserie et donnant de très bons résultats a longtemps été considéré comme la nourriture essentielle des larves en milieu naturel. Mais s'il est une importante source d'énergie, il est maintenant démontré que ce n'est pas la seule nourriture disponible pour les larves. Les régimes alimentaires à base d'algues utilisés pour étudier les effets quantitatifs et qualitatifs de la nourriture en laboratoire sont trop restrictifs comparés aux assemblages variés et complexes que les larves peuvent rencontrer dans le milieu naturel (Baldwin et Newell, 1991). Ainsi les larves peuvent trouver, en plus des algues ultraplantoniques, un apport de nourriture dans les **algues picoplanctoniques**, la **matière organique dissoute** (MOD), les **détritus**, les **bactéries** et les **protozoaires** (ciliés par exemple) (Baldwin *et al.*, 1989 ; Baldwin et Newell, 1991 ; Boidron-Metairon, 1995). La matière organique dissoute peut combler jusqu'à 30-50 % des besoins métaboliques des larves quand elles sont limitées en autres sources d'énergie (Olson et Olson, 1989).

### 5.1.3. Qualité de la nourriture algale

Une synthèse consacrée à la nutrition larvaire en éclosérie a récemment été publiée par Robert et Trintignac (1997). Nous rapportons ici les principales observations réunies par ces auteurs qui sont utiles à notre réflexion sur le milieu naturel.

En plus du **critère de taille** déjà mentionné, la forme des cellules influe également sur leur consommation par les larves. En effet, les microalgues sont souvent pourvues d'organes ou d'éléments annexes (flagelles, soies, coccolithes) qui rendent leur ingestion plus difficile.

La **valeur nutritive** des différentes espèces microalgales dépend à la fois de leur **digestibilité** et de leur **qualité biochimique**.

La **digestibilité** est maximale dans le cas d'algues à paroi organique, ou à thèque siliceuse fine. Les espèces présentant une thèque siliceuse épaisse ou une paroi cellulosique sont moins facilement digérées par les larves. On s'interroge également sur la présence dans certains groupes, Chlorophycées notamment, de métabolites toxiques qui pourraient entraver le développement larvaire.

La question de la **qualité biochimique** des différentes espèces de microalgues n'est pas encore véritablement élucidée. Des expériences ont prouvé qu'elle ne dépend pas de leur quantité totale en protéines, glucides ou lipides. Les principaux acides aminés indispensables aux larves sont, d'une façon générale, présents dans toutes les espèces, si bien qu'ils ne permettent pas d'expliquer les différences de qualité nutritionnelle entre les différentes espèces. De même, toutes les espèces microalgales seraient relativement riches en vitamines, excepté en riboflavine (vitamine B2).

Par contre, les recherches récentes mettent en évidence la variabilité de la composition en acides gras essentiels dans les différentes espèces phytoplanctoniques. Il semblerait que la teneur en certains de ces acides gras dans les algues fourrages représente, à ce jour, le paramètre biochimique le plus fiable pour expliquer les différences de qualité nutritionnelle.

Robert et Trintignac (1997), à la suite de Loosanoff et Davis (1963), indiquent également que les larves d'huîtres creuses *C. gigas* et *C. virginica* sont, en matière d'alimentation, particulièrement exigeantes par rapport aux larves de l'huître plate *Ostrea edulis*, des Mytilidés (la moule *Mytilus edulis*) et des Vénéridés (la palourde *Ruditapes philippinarum* ou *Mercenaria mercenaria*) et que le nombre d'algues utilisables pour les nourrir est plus restreint que chez ces dernières.

Dans le Bassin d'Arcachon, His (1991) a aussi constaté que les larves de *Crassostrea gigas* étaient plus exigeantes sur le plan alimentaire que les autres larves de Bivalves. Dans le milieu naturel, la relation entre la nutrition, la croissance et le développement larvaires ne dépend pas simplement de l'abondance et de la composition du phytoplancton mais aussi de l'accessibilité des algues (taille, forme, densité) en liaison avec le comportement alimentaire des larves (Boiron-Metairon, 1995).

### 5.1.4. Quantité de nourriture

En laboratoire, des taux de croissance larvaire élevés sont obtenus en raison des conditions très favorables des élevages (température optimale et accès à une nourriture abondante de qualité). En milieu naturel, les taux de croissance observés sont plus faibles du fait de conditions moins propices (température suboptimale variable et faible densité de

nourriture) (His et Maurer, 1988). Cependant, il apparaît erroné de déterminer des niveaux de nourriture optimaux en laboratoire et de chercher à les comparer à ceux du milieu naturel (Boiron-Metairon, 1995). La répartition du phytoplancton dans le milieu naturel n'est pas homogène mais distribuée en essaims c'est-à-dire en sortes de taches où les densités sont beaucoup plus élevées. La présence de picoplancton, les faibles concentrations en larves et les essaims phytoplanctoniques peuvent se combiner pour conduire à une amélioration de la survie et de la croissance larvaires (Bell, 1991).

## 5.2. Température et salinité

Une série d'expériences *in vitro*, réalisées par His *et al.* (1989), a permis de faire le point sur les préférences des larves de *C. gigas* en matière de température et de salinité. Les principaux résultats de ces expériences sont rapportés dans les paragraphes suivants.

### 5.2.1. Température

Des élevages larvaires d'une durée de 7 jours (cf. protocole chapitre 7) ont été réalisés à des températures de 15°C, 20°C, 25°C et 30°C.

Entre ces 4 températures, la croissance larvaire augmente régulièrement et la croissance la plus importante s'observe à la valeur de 30°C. Entre 20 et 25°C, au bout de 7 jours d'élevage en conditions normales de nutrition, le facteur multiplicatif de croissance se situe entre 1,2 et 1,4.

### 5.2.2. Salinité

Quatre salinités ont été testées : 20, 25, 30 et 35 . La croissance la plus faible est mesurée à une salinité de 20 et la plus élevée aux salinités de 25 ou 30, selon les températures. Entre des salinités de 30 et 35 (larves nourries normalement), la croissance n'est que très faiblement réduite.

### 5.2.3. Nourriture

Ces deux paramètres (température et salinité) ont été aussi testés simultanément avec un troisième, l'absence ou la présence de nourriture. Une hiérarchisation des trois facteurs montre très nettement l'importance prépondérante de la nourriture sur la croissance larvaire. Du 3<sup>ème</sup> au 7<sup>ème</sup> jour, ce paramètre explique de 54 à 70 % de la variance observée dans la croissance des larves.

La température agit de façon hautement significative sur la croissance, même si son influence diminue avec le temps. Ce facteur explique de 30,5 (3<sup>ème</sup> jour) à 17,5 % (7<sup>ème</sup> jour) de la variance observée.

La salinité intervient très faiblement sur la croissance larvaire. Elle explique simplement de 4,7 (3<sup>ème</sup> jour) à 0,85 % (7<sup>ème</sup> jour) de la variance observée.

Si l'on fait abstraction du facteur nutritionnel, **la température explique à elle seule de 85 à 95,7 % de la variance totale de la croissance.**

## 6. Conclusion

Le recrutement larvaire pour la population adulte dépend du succès du développement complet de la larve jusqu'à sa fixation, sa métamorphose et son passage à la vie benthique. La température et la nourriture influent très fortement sur la survie et la croissance larvaires (Boiron-Metairon, 1995) tandis que la salinité ne joue qu'un rôle très limité. Les

preferendums de l'espèce, déterminés expérimentalement, sont une température de 30 °C et une salinité de 25-30.

L'environnement nutritionnel peut intervenir indirectement dès la maturation des gamètes. L'accumulation de réserves par les adultes détermine en effet le taux et la qualité des lipides qui seront présents dans les gamètes, conditionnant ainsi les phases endotrophe et mixotrophe pendant lesquelles la larve consomme les réserves vitellines de l'œuf.

Pendant la vie pélagique, la nourriture doit être présente en quantité et qualité suffisantes pour assurer un bon développement des individus en un temps suffisamment rapide. Plus l'évolution est rapide vers la fixation, moins la dispersion et la prédation exercées sont grandes.

Bien que la larve de *C. gigas* soit particulièrement exigeante en matière d'alimentation, elle se nourrit cependant, dans le milieu naturel, sur une très large gamme de tailles et de types de nourriture comme toutes les larves de Bivalves.



## Chapitre 2

# La reproduction de l'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon

### Synthèse des résultats des 12 dernières années

### Particularités de 1998

## 1. Introduction

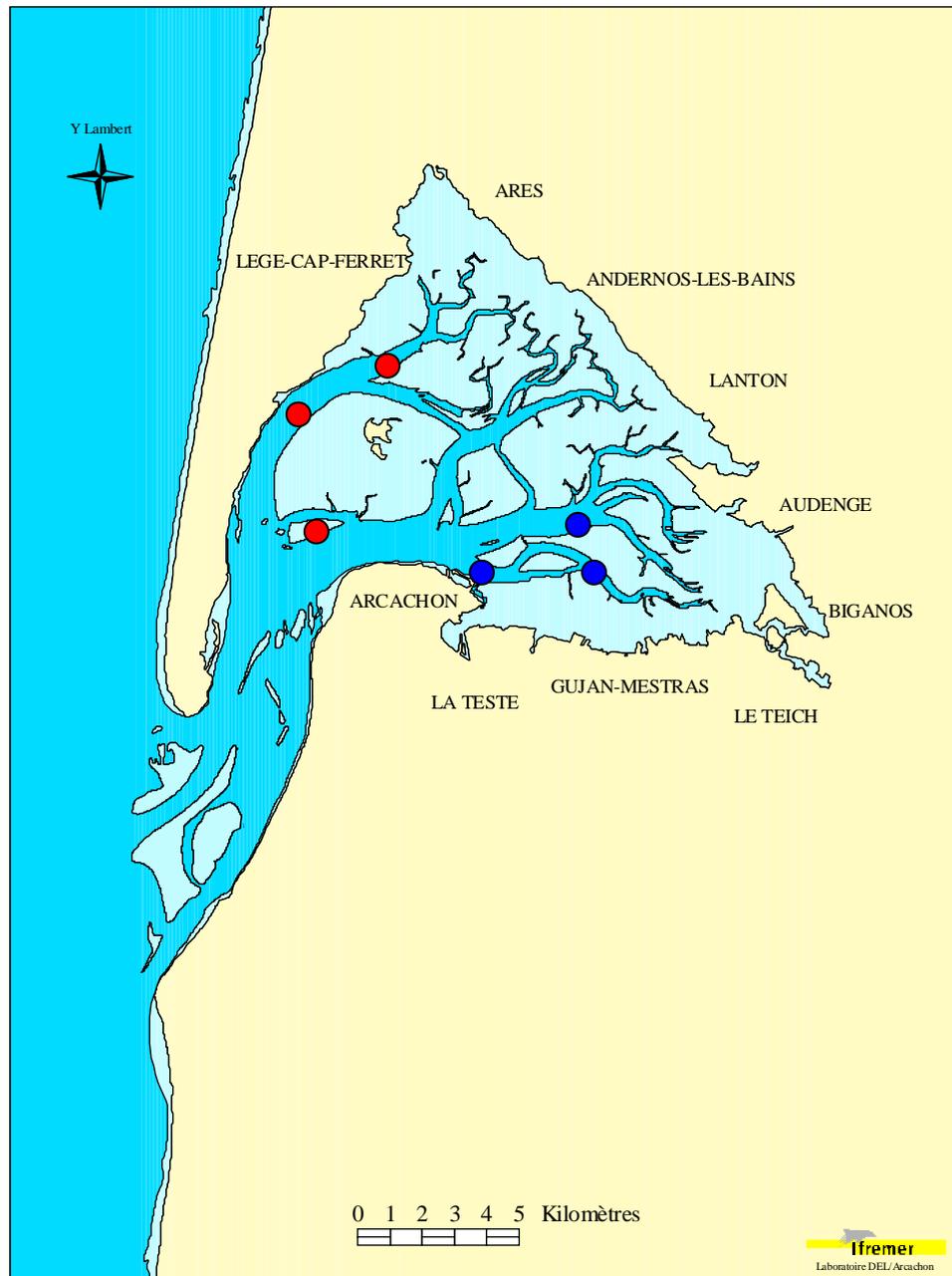
A chaque saison estivale, le laboratoire IFREMER d'Arcachon réalise, dans le cadre d'une convention avec la Section Régionale Conchylicole (SRC) Arcachon-Aquitaine, le suivi de la reproduction des huîtres dans le Bassin d'Arcachon. Cette opération consiste à effectuer, entre la mi-juin et la fin août, plusieurs dizaines de pêches de plancton sur différents sites représentatifs du Bassin. Dès que la première ponte est détectée, les dénombrements de larves s'effectuent au rythme de quatre pêches par semaine.

Cette collecte et ce comptage des larves de *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon ont débuté en 1927 (Borde, 1929) selon une technique décrite par Boury (1928), qui sera très longtemps utilisée par les laboratoires conchylicoles français, puis légèrement modifiée, en 1959, par Le Dantec (1968). Depuis cette époque, on dispose donc de comptages estivaux réguliers de ces populations larvaires, réalisés selon la même méthodologie, et dont les dénombrements sont conservés dans les archives de la station IFREMER d'Arcachon.

Par ailleurs, le comptage des naissains captés sur les tuiles est réalisé pendant et à la fin des différentes saisons de reproduction, plus ou moins systématiquement selon les années.

Enfin, on dispose des observations réalisées par Manaud *et al.* (1997) concernant le suivi de trois lots d'huîtres cultivées dans différents secteurs du Bassin (zone interne, zone moyenne, zone proche de l'entrée) entre 1986 et 1996. Ces auteurs ont notamment suivi la composition biochimique (protides, glucides, lipides) de ces trois lots. Cette étude a permis de déterminer approximativement la date de première ponte dans les trois secteurs au cours de ces années, établie à partir de l'épuisement brutal du stock de lipides correspondant à l'émission des produits sexuels. Nous nous référerons parfois à ces données dans ce chapitre et les suivants.

Ce chapitre présente les méthodes et les résultats des pêches et des comptages de naissain avec une attention particulière apportée à l'année 1998.



**Figure 1** : Localisation des stations de pêche de larves d'huîtres dans le Bassin d'Arcachon (bleu : secteur est ; rouge : secteur ouest).

## 2. Méthodes

### 2.1. Pêches de larves

La collecte des larves d'huîtres s'effectue à l'aide de filets coniques en soie à bluter, montés sur un cercle métallique de 14 cm d'ouverture. Deux types de filets sont utilisés : l'un d'une maille de 60 µm permettant de capturer les jeunes larves, l'autre d'une maille de 125 µm mieux adaptée à retenir les stades ultérieurs de développement (cf. chapitre 1). Par ailleurs, deux profondeurs sont échantillonnées simultanément (- 0,2 m et -1 m). La pêche à - 0,2 m est destinée à capturer les jeunes larves qui se trouvent principalement en surface. Le filet plus immergé (maille 125 µm), installé sur un support vertical lesté, permet de recueillir les larves plus âgées, qui ont tendance à migrer vers les couches plus profondes.

Les filets sont traînés à l'arrière d'une embarcation dont la vitesse est réglée en fonction du courant pour que le câble qui remorque les filets soit légèrement tendu. Les pêches sont réalisées entre 2 et 4 h de flot.

La durée du trait est de 10 minutes. Dans ces conditions, selon Escande-Labrousche (1964), on filtre approximativement 1 m<sup>3</sup> d'eau de mer. Au bout de ce temps, le culot des filets est recueilli dans environ 50 cm<sup>3</sup> d'eau de mer auquel on ajoute quelques gouttes de formol neutralisé.

Les pêches sont effectuées dans différents chenaux du Bassin, de façon à prospecter les différentes masses d'eau qui peuvent contenir des larves : Arès, Piquey et Courbey (réunis sous l'appellation de secteur ouest) et Comprian, Gujan, Arams (secteur est) (Figure 1).

Chaque secteur est échantillonné de 1 à 2 fois par semaine pendant la période de reproduction (fin juin à mi août et parfois fin août).

Cette méthode présente des limites liées au colmatage des filets. En effet, en fonction de la teneur en particules et de la quantité de macroalgues (Monostromes et/ou Entéromorphes) dans l'eau, les filets se colmatent plus ou moins rapidement en fonction des sites, des périodes dans un même été et des années. Pour cette raison, on ne peut considérer les captures réalisées par ces filets comme représentatives de la véritable abondance larvaire. D'un autre côté, par rapport à d'autres méthodes (pompage, pêche pendant un temps plus court), cette méthode présente l'avantage d'échantillonner une surface et un volume suffisamment important pour augmenter les chances de capturer les larves qui ne sont pas obligatoirement distribuées régulièrement dans les masses d'eau prospectées.

### 2.2. Numération des larves

Au laboratoire, les échantillons sont mis à décanter dans des éprouvettes graduées. Le culot est dilué à 5 fois son propre volume puis il est versé dans un erlenmeyer à col large que l'on agite de façon à homogénéiser l'échantillon. On prélève rapidement 0,5 ml de cet échantillon et ce sous échantillon est étendu sur deux lames porte-objet.

Sur ces deux lames, les larves sont recherchées et dénombrées par stade au microscope.

Le nombre de larves présentes dans l'échantillon (N) est calculé de la façon suivante :

$$N = (N' * 2 * V)$$

où N' est le nombre de larves compté sur les lames et V le volume de l'échantillon dilué.

Par la suite, on multiplie ce nombre par 1,5, de façon à exprimer, par convention, le nombre de larves par rapport à un volume de 1,5 m<sup>3</sup> d'eau de mer.

Chaque trait de filet, par station, par maille et par profondeur est traité séparément. Par la suite, pour une station et un stade donnés, on ne conserve que le comptage le plus élevé parmi les résultats des différents filets.

### 2.3. Numération des naissains sur les collecteurs

Les collecteurs provenant de différents secteurs de captage de la Baie sont ramenés au laboratoire et les naissains fixés sont dénombrés en observant les tuiles à l'aide d'une loupe binoculaire.

## 3. Résultats

### 3.1. Pêches de larves

Les résultats des pêches de larves depuis 1988 sont figurés dans l'annexe 1. Pour simplifier ces graphes, nous avons établi des moyennes par secteur (est et ouest) pour chaque date d'échantillonnage.

En préalable à l'examen de ces figures, on doit apporter une précision touchant à l'interprétation des dénombrements des larves, notamment au premier stade.

Du fait que les pêches sont réalisées tous les 4 jours, il existe un décalage plus ou moins important entre la ponte et la récolte de larves au stade "petites". Si la pêche est réalisée juste après les 24 heures suivant la ponte dans la zone où les géniteurs ont émis, les larves "petites" présentent une abondance maximale, due au fait qu'elles ne sont pas encore trop dispersées par l'hydrodynamisme, et que la prédation n'en a pas encore trop diminué le nombre. Plus ce décalage augmente, moins ces larves "petites" sont abondantes dans le prélèvement. Pour cette raison, il est difficile de comparer l'intensité des différentes pontes d'une saison et celles des pontes d'années différentes. Les pics de larves "petites" ne doivent être considérés que comme une indication qu'une ponte importante a eu lieu dans les quelques jours précédant la pêche.

#### • La période 1988 – 1999 : Généralités

Quelques caractéristiques du développement larvaire dans le Bassin apparaissent à l'examen de ces courbes.

- Entre les premiers pics de larves "petites" et l'observation de larves "en fixation", le temps écoulé varie, selon les années, entre 15 et 21 jours. Toutefois, il faut souligner que les pêches de larves dans l'ensemble des secteurs commencent fin juin ou début juillet, c'est à dire généralement après les premières pontes, qui se produisent assez fréquemment en juin (Manaud *et al.*, 1997). On peut d'ailleurs remarquer que, dans un certain nombre de cas, les premières pêches contiennent déjà des larves évoluées (et parfois moyennes).

- Les larves aux stades les plus évolués apparaissent plus précocement dans le secteur est que dans le secteur ouest de la Baie.

Comme l'ont montré les travaux de Manaud *et al.*, (1997), la première ponte est toujours plus précoce dans les populations des hauts du Bassin que dans celles qui se développent dans le secteur plus océanique, avec un décalage pouvant parfois dépasser un mois. Les

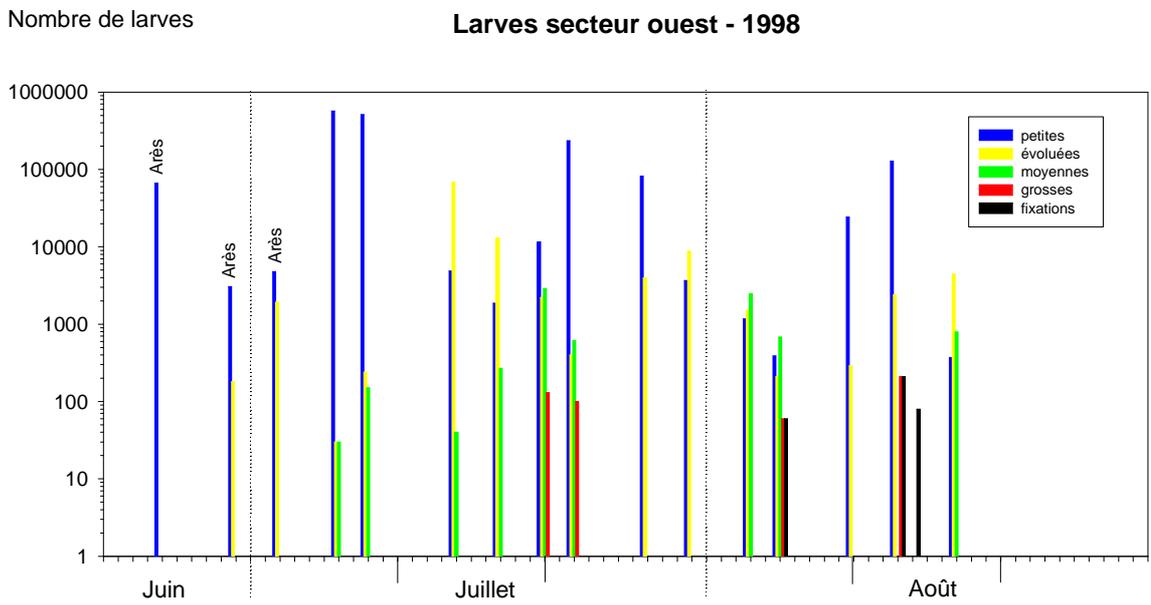
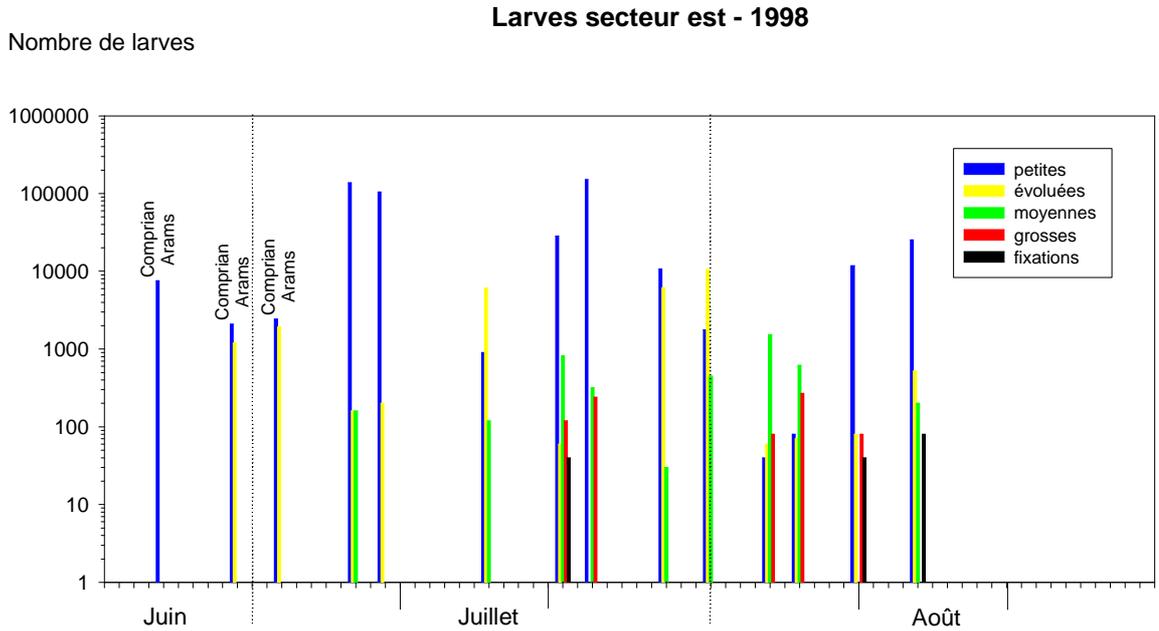
larves peuvent, bien sûr, être transportées par les courants dans d'autres secteurs de la Baie, mais les travaux de Salomon et Breton (1995) ont bien montré que les courants résiduels<sup>1</sup> dans la partie est de la Baie sont peu importants. Pour cette raison, les essaims de larves émises dans les hauts auront plutôt tendance à demeurer dans cette zone, au moins pendant un certain temps.

- Les pontes importantes se produisent généralement vers le début du mois de juillet dans le secteur est. De ce fait, on observe généralement les larves en fixation dans ce secteur à partir de la fin de ce mois. Toutefois, certaines années (par exemple 1989, 1990 et 1993), des pontes massives se produisent au mois de juin et l'on observe alors des larves évoluées dans la première moitié du mois de juillet.

- Au cours des années normales, les larves "grosses" et "en fixation" sont présentes dans les pêches pendant plusieurs semaines, généralement entre fin juillet et fin août.

---

<sup>1</sup> Moyenne des courants en un point sur plusieurs cycles de marée.



**Figure 2** : Résultats des comptages larvaires dans les secteurs est et ouest du Bassin en 1998.

- Entre 1988 et 1997, ainsi qu'en 1999, dans le secteur ouest, on a toujours observé en juillet des larves "grosses" et parfois des larves évoluées.

### • **La saison de reproduction 1998** (Figure 2)

Les pêches ont débuté le 18 juin dans certains chenaux et ont révélé la présence de quelques larves "petites" à Arès (pour le secteur ouest) ainsi qu'à Comprian et Arams (pour le secteur est).

La **première ponte importante** s'est située entre cette première pêche et la date de la seconde pêche, le 24 juin, jour au cours duquel on observait un pic de larves "petites" dans ces trois chenaux.

A partir du 6 juillet, l'ensemble des chenaux a été prospecté et trois pontes massives ont été observées : autour du 6 juillet, autour du 22 juillet et entre le 8 et le 11 août.

Lors de la **deuxième ponte** détectée (autour du 6 juillet), on observait la présence de stades plus évolués ("évoluées" et "moyennes") provenant de l'émission de fin juin. On ne peut dire si les larves "grosses" observées autour du 20 juillet correspondent à l'émission de fin juin ou à celle de début juillet. On observe quelques larves "en fixation" dans un seul prélèvement.

On peut considérer que ces deux premières émissions ont donné de très faibles résultats.

La **troisième ponte importante** détectée (21-23 juillet) conduit à la formation de larves "grosses" après environ deux semaines aussi bien dans le secteur est que dans le secteur ouest. Dans les deux secteurs, on n'observe des larves "en fixation" correspondant à cette ponte que dans 2 ou 3 prélèvements, et en faibles densités.

La **quatrième ponte**, concernant les huîtres en élevage dans les sites les plus océaniques du Bassin (Cap Ferret, Banc d'Arguin) est signalée les 08 et 11 août. L'arrêt des pêches mi-août ne permet pas de savoir ce qu'est devenue cette ponte.

**La saison de reproduction 1998 a donc été marquée par une rareté exceptionnelle de larves aux stades les plus évolués ("grosses" et "en fixation") dans les deux secteurs. L'évolution des premiers stades semble, en revanche, normale, contrairement à ce qui était observé lors de la "crise TBT", pendant laquelle les larves dépérissaient dès les plus jeunes stades.**

### 3.2. Naissain

Les comptages de naissain sur les tuiles à la fin de la saison de reproduction n'ont été réalisés de manière systématique qu'entre les années 1985 et 1989 (Maurer et Borel, 1990), puis en 1998 et 1999. Une trentaine de tuiles provenant de différents secteurs de captage ont fait l'objet de comptages. Ces résultats sont présentés sur le tableau 2.

Nombre de naissains/tuile	Année						
	1985	1986	1987	1988	1989	1998	1999
Fin de la saison de reproduction	5176 ± 1064	389 ± 71	399 ± 67	841 ± 87	3800 ± 264	46 ± 17	5420 ± 3200
Détrouquage	1093 ± 139	172 ± 8	182 ± 13	224 ± 11			

**Tableau 2** : Nombre de naissains par tuile ± écart type captés dans le Bassin d'Arcachon à la fin de la saison de reproduction et au moment du détouillage.

Lors de la première période (1985-89), il apparaît une forte variabilité inter annuelle du captage, le nombre de naissain variant entre environ 400 et 5200 individus par tuile.

On ne dispose pas de chiffres précis pour le début des années 1990 mais on sait qu'entre 1994 et 1997, le captage a été pléthorique, avec plusieurs milliers de naissains captés par collecteur.

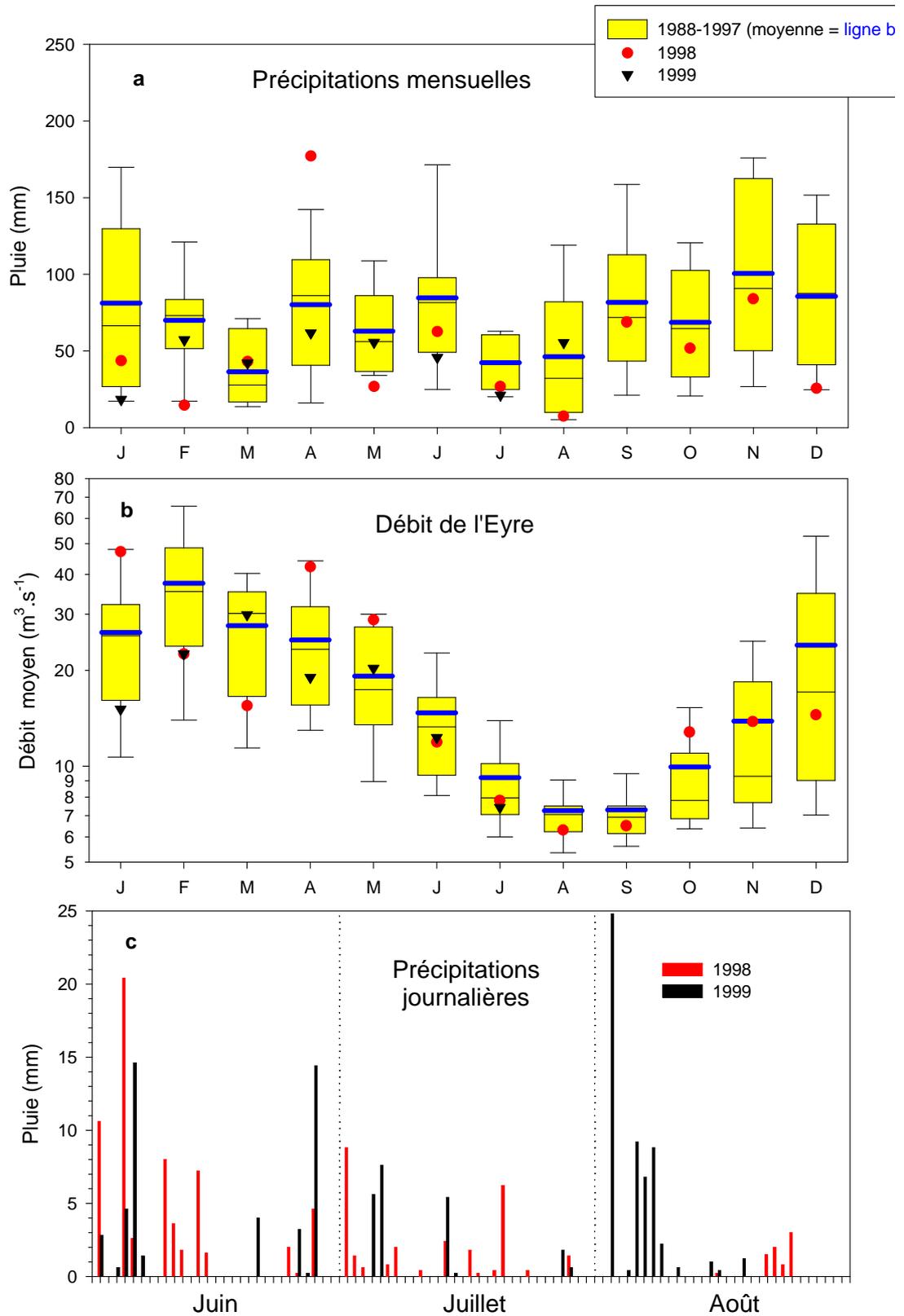
En 1999, le nombre de naissains fixés a été également très élevé (Tableau 2).

En 1998, le captage est exceptionnellement faible par rapport aux années précédentes. Le résultat de la première ponte (captage observé début août) est mauvais, avec dans le meilleur des cas 40 naissains par tuile, la plupart des comptages ne révélant que 10 individus par collecteur. Les autres pontes ne produisent pas de meilleurs résultats puisque à la fin de la saison de reproduction, on dénombre 46 naissains par tuile en moyenne (22 au minimum et 79 au maximum).

## 4. Conclusion

La saison de reproduction 1998 a été particulièrement mauvaise par rapport aux années précédentes et à 1999. Les trois pontes importantes n'ont généré qu'un faible nombre de larves aux stades les plus évolués et n'ont abouti qu'à un très faible nombre de naissains fixés sur les collecteurs.

**Hypothèse 1 :**  
**"Conditions physico-chimiques du milieu"**



**Figure 3** : Evolution des précipitations à Arcachon et du débit de l'Eyre.

# Chapitre 3

## Conditions météorologiques et hydrologiques dans le Bassin

### 1998 et 1999 par rapport aux 10 années précédentes

#### 1. Introduction

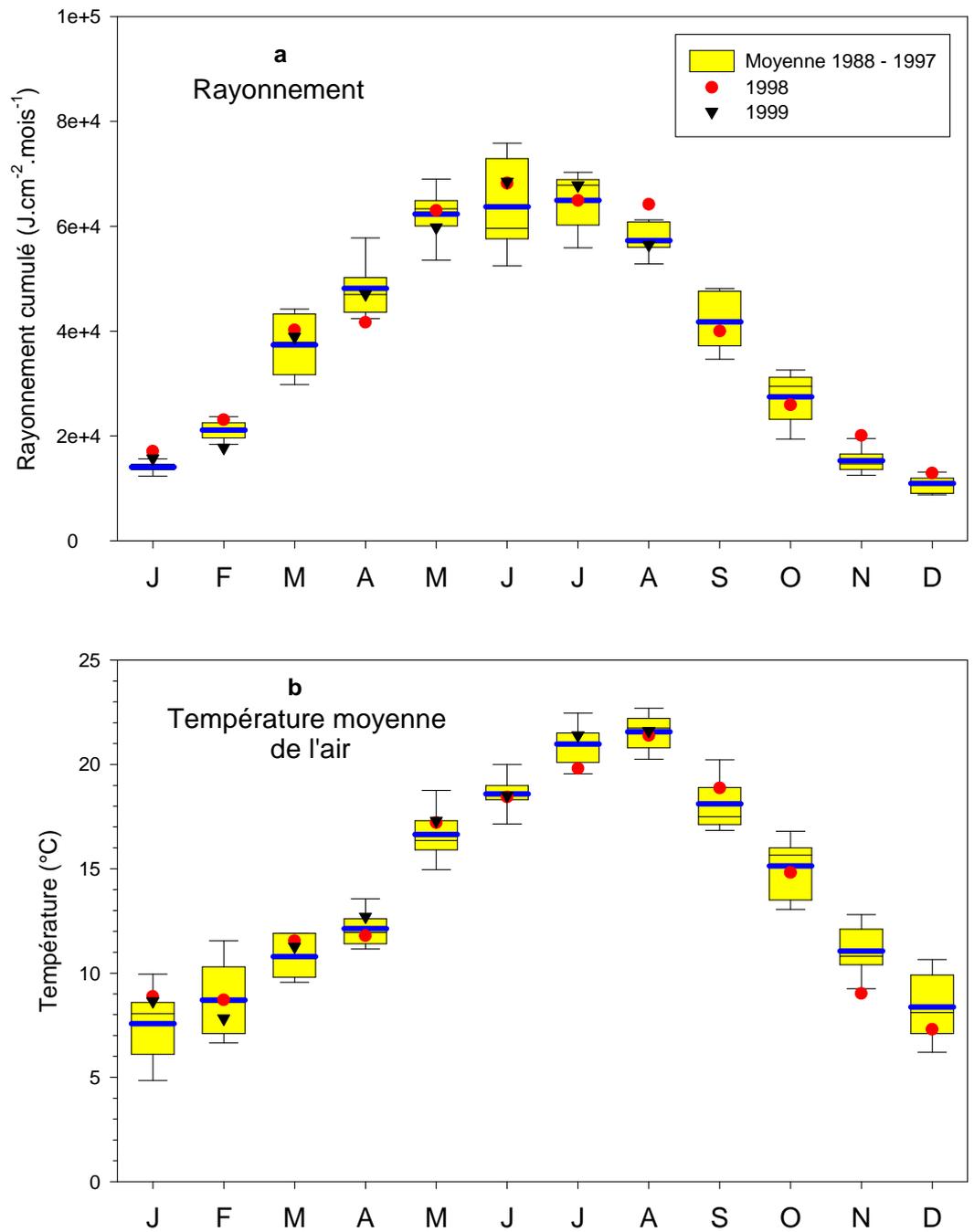
L'une des hypothèses retenues pour expliquer le mauvais développement des larves en 1998 est que les conditions météorologiques estivales de cette année-là aient été particulièrement défavorables à l'évolution larvaire par rapport aux années précédentes.

L'exploitation préalable des données météorologiques et physico-chimiques (stations de prélèvements présentées sur la figure M, annexe 2) pour la période 1988-1997 (Auby *et al.*, 1999) a permis d'établir les valeurs moyennes et la distribution des valeurs mois par mois pour cette période.

Dans ce chapitre, nous allons tenter de caractériser l'année 1998 par rapport aux dix années précédentes en relevant d'éventuelles irrégularités par rapport aux normales mensuelles préalablement établies.

Par ailleurs, nous rapportons ici les caractéristiques météorologiques et hydrologiques de l'été 1999, pendant lequel s'est déroulé notre étude.

*NB : Afin de connaître et de représenter la variabilité des valeurs mesurées de part et d'autre de la médiane pour les différents paramètres, la représentation "Multiple Box and Whisker Plot", dite "Boîte à moustaches" a été choisie. Sur ce type de graphiques, la ligne inférieure des boîtes indique la valeur correspondant à 25% de la distribution, la ligne supérieure à 75%. La ligne noire contenue dans la boîte indique la valeur de la médiane. Les barres d'erreur indiquent les valeurs correspondant à 10 et à 90% de la distribution. Par ailleurs, nous avons représenté par une ligne bleue la valeur moyenne des observations.*



**Figure 4** : Evolution du rayonnement et de la température mensuelle de l'air à Arcachon.

## 2. Résultats

### 2.1. Météorologie et débit des cours d'eau

L'exploitation des données fournies par Météo-France permet de dégager, pour 1998 et 1999, un certain nombre de particularités climatiques. Quoique l'ensemble de l'année soit représentée sur les figures 3 et 4, nous nous intéresserons particulièrement aux données concernant le printemps et l'été.

#### 2.1.1. Précipitations (Figures 3a, 3c), débit de l'Eyre (Figure 3b) et vent

L'année **1998** a été marquée par des précipitations exceptionnellement abondantes au mois d'avril (177,1 mm contre 80,2 (min : 14,4 – max : 167,6) en moyenne entre 1988 et 1997) et très faibles en mai, juillet et août.

Un régime de crue particulièrement élevé a été observé en janvier, en avril et en mai dans l'Eyre, les débits redevenant, par la suite, compris dans des valeurs normales par rapport aux années précédentes, y compris pendant les mois d'été.

En **1999**, les précipitations ont été normales pendant la majorité des mois du printemps et de l'été, sauf en juin et juillet où elles ont été plutôt faibles.

La figure 3c montre la répartition journalière des pluies au cours des étés 1998 et 1999. On peut noter, au début du mois d'août 1999, une période de pluies d'orage, qui n'était pas advenue en 1998.

Au cours des étés **1998** et **1999**, aucun épisode venteux particulièrement important et long n'a été observé.

#### 2.1.2. Rayonnement (Figure 4a)

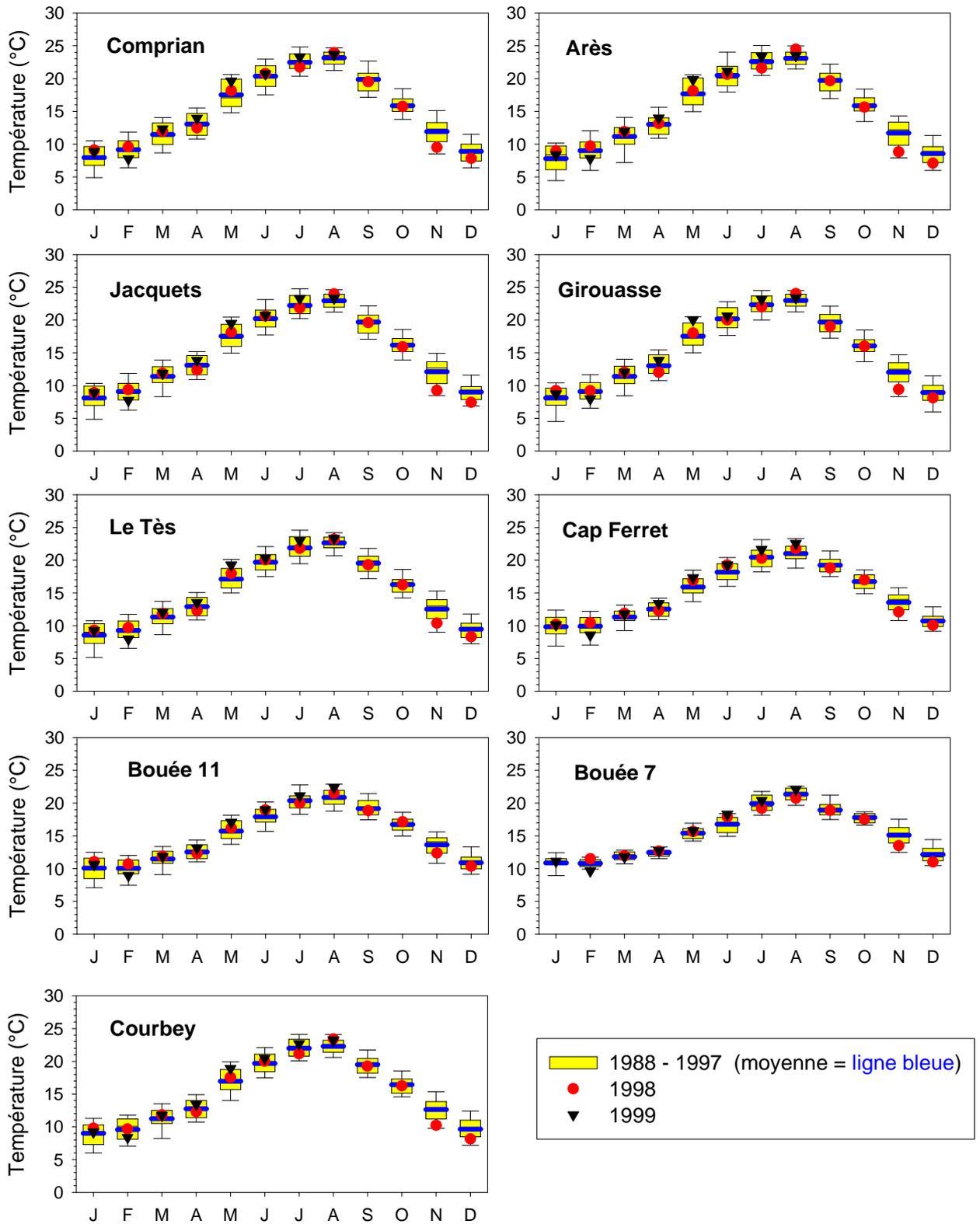
En **1998**, par rapport à la normale, le rayonnement cumulé a été relativement faible en avril et élevé en août.

En **1999**, le rayonnement cumulé a présenté des valeurs normales, quoique relativement faibles en mai et août et assez élevées en juillet.

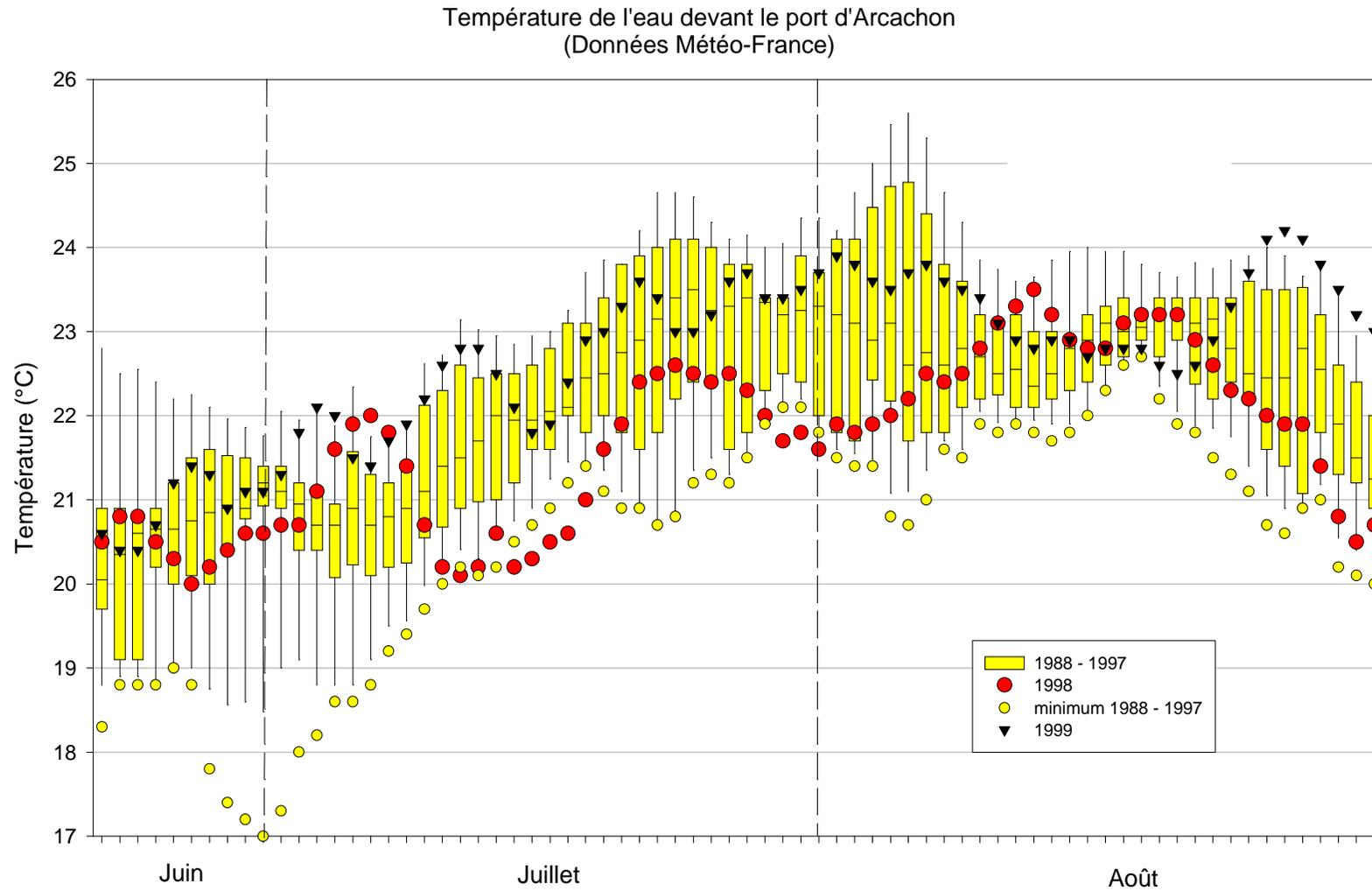
#### 2.1.3. Température de l'air (Figure 4b)

La température de l'air a présenté, en **1998**, des valeurs normales hormis pendant le mois de juillet (19,8 °C contre 21,0 (min : 19,5 – max : 22,6) en moyenne entre 1988 et 1997) où elle a atteint des valeurs basses, similaires à celles mesurées en juillet 1988 et 1993.

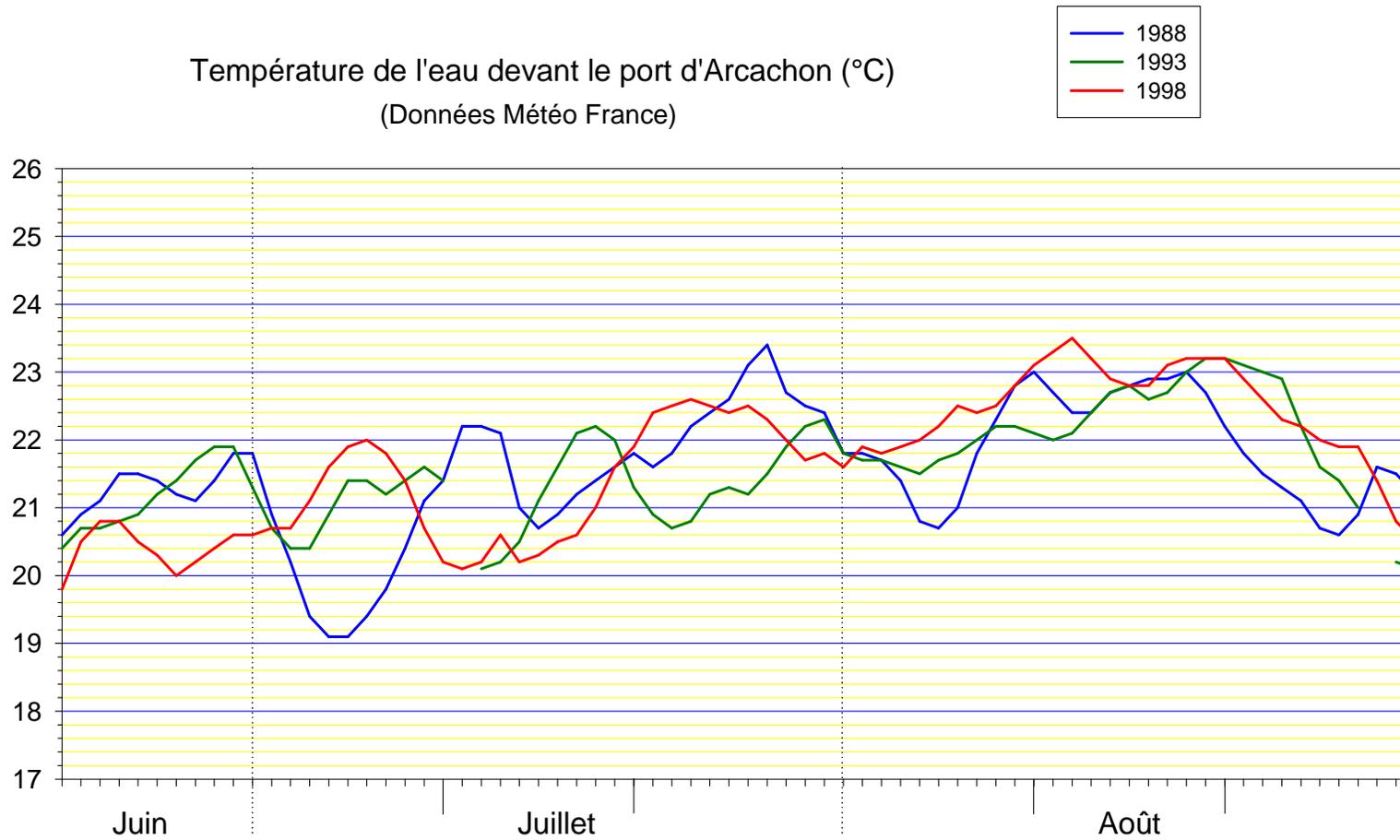
En **1999**, la température de l'air a été normale ou relativement élevée en avril, mai et juillet.



**Figure 5 :** Evolution de la température de l'eau dans différents secteurs du Bassin d'Arcachon.



**Figure 6 :** Evolution de la température de l'eau devant le port d'Arcachon (données Météo France)



**Figure 7 :** Evolution de la température de l'eau devant le port d'Arcachon pendant les étés 1988, 1993 et 1998 (données Météo-France)

## 2.2. Hydrologie

### 2.2.1. Température de l'eau

On dispose de différents types de données à long terme concernant la température de l'eau : les résultats du réseau hydrologique et les mesures effectuées par Météo France devant le port d'Arcachon. Par ailleurs, depuis 1998, une sonde recueillant les données en continu est installée à la jetée d'Eyrac. Nous ne présenterons ici ces données qu'à titre indicatif (Figures O et P, Annexe 2), afin de montrer la variabilité journalière de la température de l'eau.

#### • Réseau hydrologique (Figure 5)

En terme de moyennes mensuelles, l'année **1998** n'a pas été exceptionnelle par rapport aux années précédentes. Toutefois, la température de l'eau a été plutôt froide en juillet et plutôt chaude en août, sans que ces valeurs sortent du rang de celles qui avaient été mesurées depuis 1988.

En **1999**, dans toutes les stations, les températures de juillet ont été plus fortes qu'en 1998. Par contre, pour le mois d'août, les températures mesurées dans les stations internes ont été plus élevées en 1998 qu'en 1999, à l'inverse de ce qui a été observé dans les stations externes.

Les températures du printemps (notamment mois de mai) et de l'été 1999 se situent dans la partie haute de la moyenne des observations des années précédentes.

#### • Données Météo France devant le port d'Arcachon (juillet – août) (Figure 6)

**1998** : Les eaux de la baie se sont rapidement réchauffées entre le 2 et le 6 juillet (atteignant 22 °C) et leur température a ensuite très rapidement baissé pour atteindre des valeurs particulièrement faibles par rapport à la normale journalière (20,2 °C) entre le 9 et le 17 juillet. Pendant la suite de l'été, la température de l'eau a présenté des valeurs normales sauf pendant les trois derniers jours du mois de juillet, pendant lesquels elles étaient plus basses que la normale.

Comme dans le cas de la température de l'air, les basses températures de l'eau mesurées en juillet 1998 rapproche cette année de 1988 et 1993. En juillet 1988, 1993 et 1998, les températures moyennes de l'eau dans le port d'Arcachon s'élevaient respectivement à 21,4 - 21,3 et 21,1 °C.

Les valeurs moyennes journalières au cours de ces trois années sont rassemblées sur la figure 7.

Au regard de ces courbes, il apparaît nettement que l'été 1988 a connu des fluctuations thermiques encore plus importantes que 1998, notamment pendant la première quinzaine du mois de juillet pendant laquelle la température est passée de 21,8 à 19°C. De même, entre fin juillet et début août 1988, la température a rapidement et fortement baissé en l'espace d'une semaine (passant de 23,4 à 20,7°C). En 1993, les fluctuations thermiques de juillet ont été légèrement moins importantes qu'en 1998.

Nous verrons par la suite que les conditions thermiques de l'été 1988 n'ont pas empêché un développement larvaire très satisfaisant durant cette année-là.

**1999** : De la fin du mois de juin au début du mois d'août, la température de l'eau a graduellement augmenté, passant de 21 °C à 23 °C. Les fluctuations thermiques ont été peu importantes pendant ce mois. Pendant le mois d'août, la température a lentement décliné jusqu'aux alentours du 20, passant de 24 à 22,8 °C. A la fin de ce mois, elle s'est de nouveau élevée très rapidement pour atteindre 24 °C.

### 2.2.2. Salinité (Figure 8)

L'année **1998**, comme 1992 et 1994, a été marquée par d'importantes dessalures printanières (avril – mai), liées à la pluviométrie exceptionnelle du mois d'avril. Au mois de juillet, les salinités étaient redevenues normales par rapport aux années précédentes. En août et surtout en septembre, la salinité était généralement élevée compte-tenu du faible niveau des précipitations, sans dépasser les valeurs déjà observées au cours des années précédentes.

En **1999**, on n'a pas observé de dessalure particulière pendant le printemps et l'été. En juillet, les salinités étaient égales ou supérieures à celles mesurées en 1998. En août, selon les stations, elles étaient égales ou légèrement inférieures à celles de l'année précédente.

Pour le mois de juillet, les salinités étaient plus élevées en **1999** qu'en **1998**, à l'inverse de ce qui a été observé au mois d'août.

*NB : Dans le Bassin d'Arcachon, contrairement à d'autres zones de captage (Marennes-Oléron), les salinités estivales sont élevées dans tous les secteurs de captage (30 à 33 en moyenne).*

### 2.2.3. Nitrate (Figure 9)

Au printemps **1998** (avril et mai), les teneurs en nitrate étaient exceptionnellement élevées. Du printemps à l'été, elles ont ensuite fortement décliné pour atteindre, sur certains points, des valeurs inférieures à la limite de quantification analytique (0,1 µmol/l). Entre juillet et septembre, ces valeurs étaient les plus faibles mesurées depuis 1988.

Après une fin d'hiver et un début du printemps où les teneurs en nitrate étaient normales ou assez élevées, la fin du printemps et l'été **1999** ont connu des teneurs normales ou un peu basses en ce nutriment. Dans toutes les stations, les concentrations ont augmenté au mois d'août, cette augmentation résultant du lessivage par les pluies du début de ce mois.

Dans les stations internes, les concentrations estivales en nitrate étaient plus élevées en **1999** qu'en **1998**.

### 2.2.4. Ammonium (Figure 10)

Comme dans le cas du nitrate, mais de façon moins marquée, les teneurs en ammonium étaient plutôt élevées au printemps **1998**. En juillet-août, les teneurs étaient faibles, mais comprises dans les valeurs normales mesurées depuis 1988.

En **1999**, le printemps a été marqué par des concentrations élevées en ce nutriment dans les stations externes au mois de mars. Entre la fin du printemps et l'été, les concentrations ont été moyennes ou relativement faibles par rapport à la normale.

On n'observe pas de différence marquée des teneurs estivales en ammonium pour 1998 et 1999.

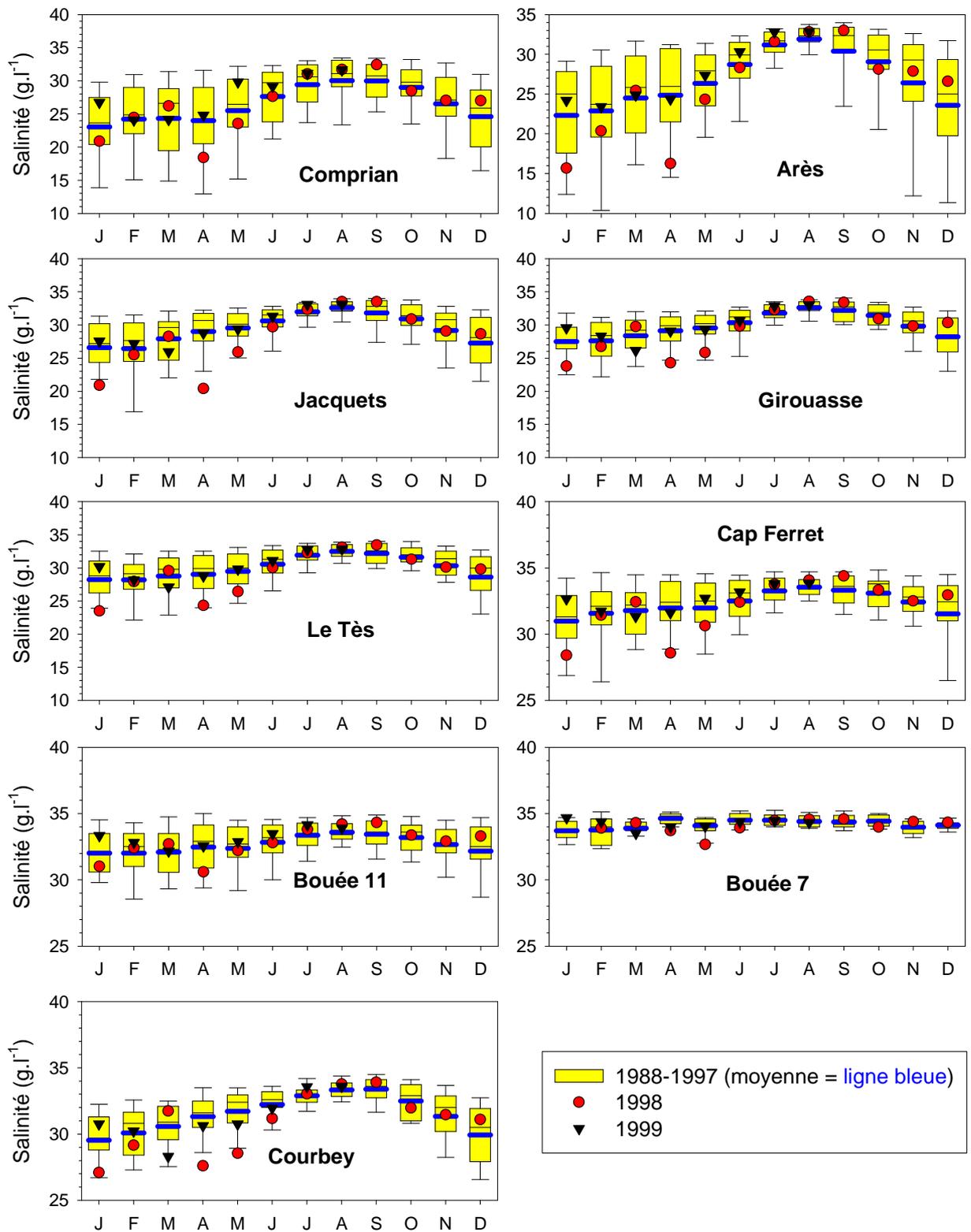
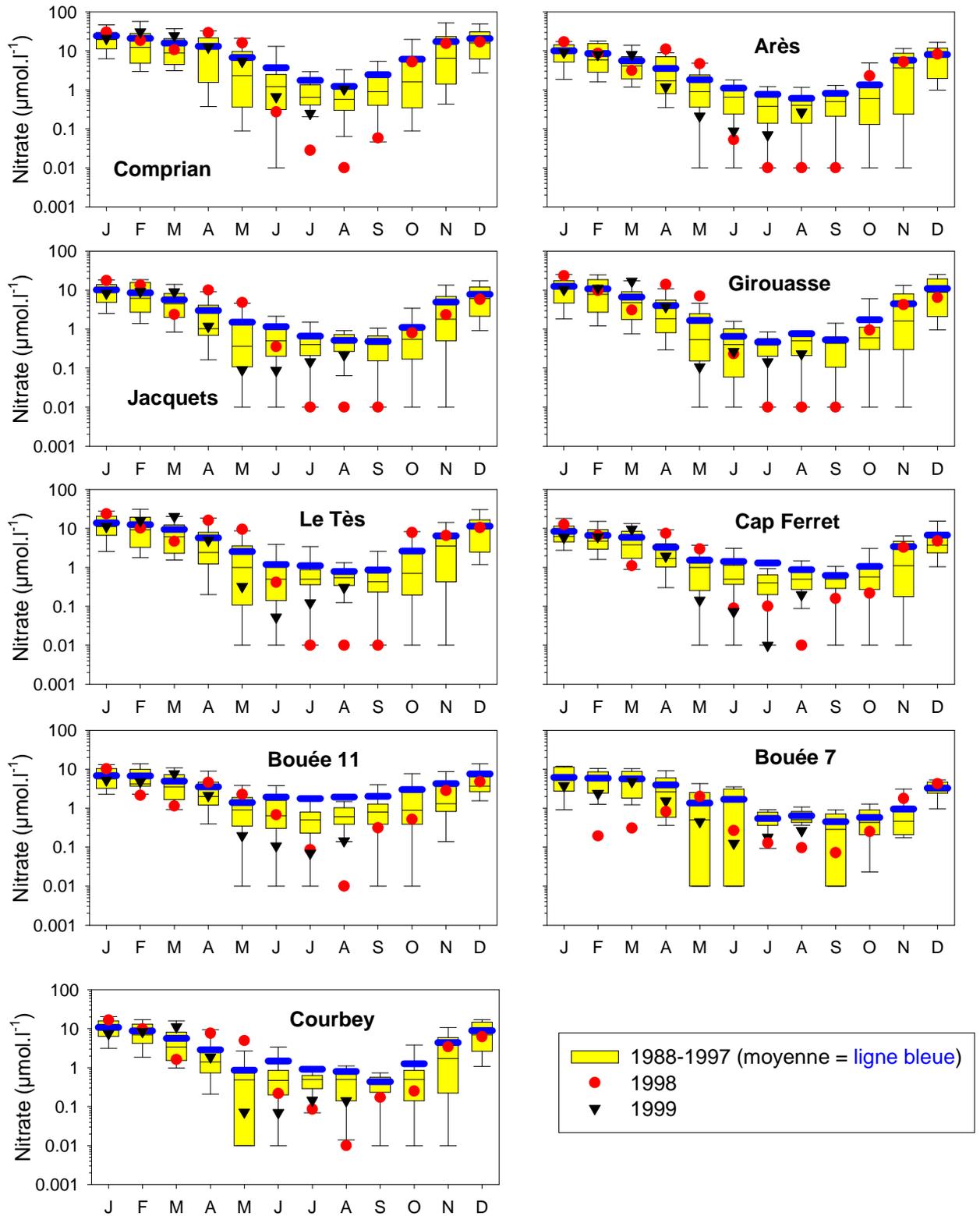
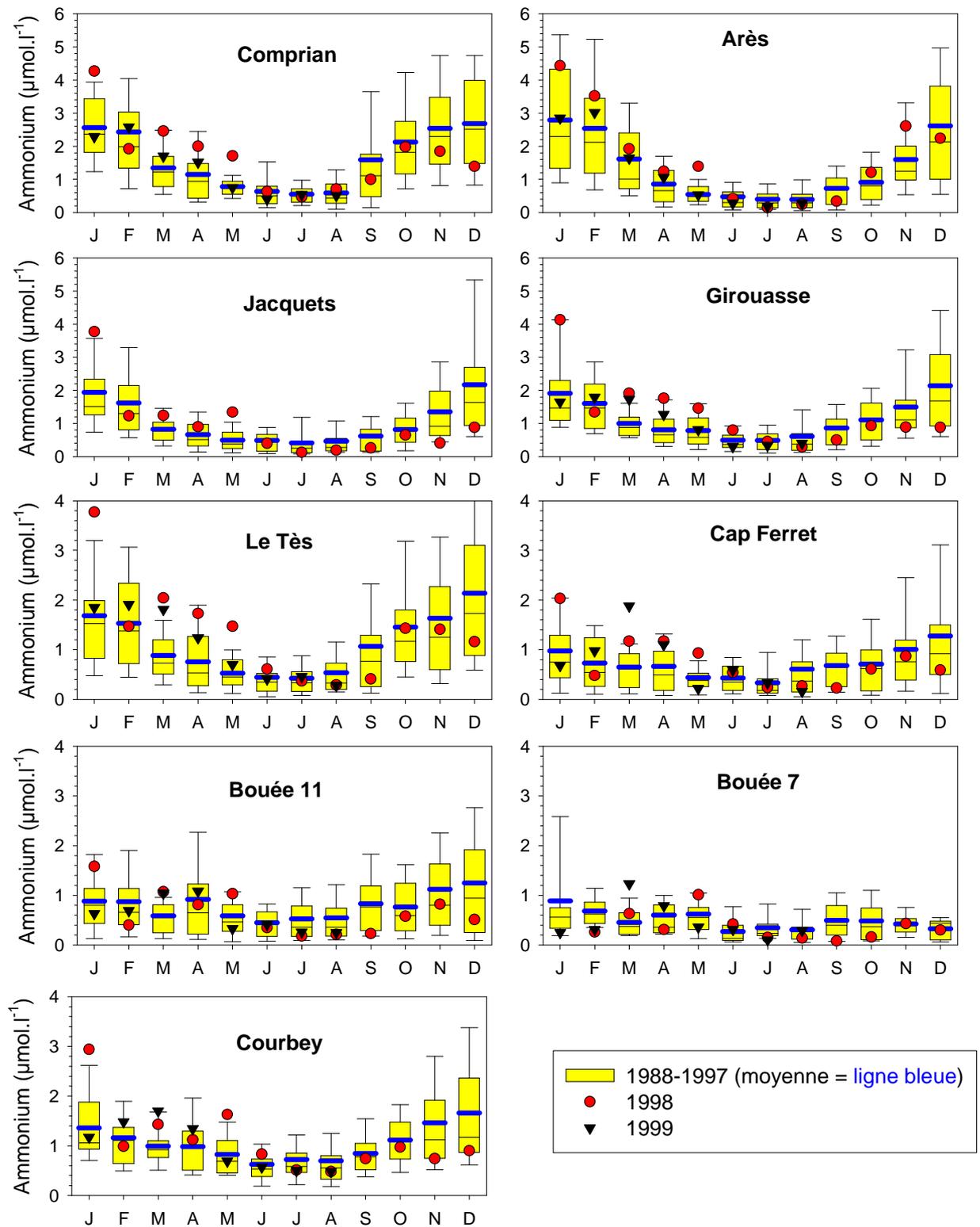


Figure 8 : Evolution de la salinité dans différents secteurs du Bassin d'Arcachon.



**Figure 9** : Evolution de la concentration en nitrate dans différents secteurs du Bassin d'Arcachon.



**Figure 10** : Evolution de la concentration en ammonium dans différents secteurs du Bassin d'Arcachon.

### 2.2.5. Phosphate (Figure 11)

En **1998**, les teneurs en phosphate ont été assez faibles au mois de mars, et normales ou élevées de la fin du printemps à l'été.

En **1999**, les teneurs en phosphate ont été faibles au début de l'année (janvier à mars), puis ont augmenté pour atteindre des valeurs normales ou élevées en juillet-août.

En fonction des stations, les concentrations estivales étaient plus ou moins élevées au cours de l'une ou l'autre des deux années.

### 2.2.6. Chlorophylle a (Figure 12)

En **1998**, les teneurs en chlorophylle *a* ont été exceptionnellement élevées au mois d'avril dans les stations les plus internes. Au mois de mai, elles étaient moyennes ou assez fortes sur l'ensemble des points. En juin, les teneurs en chlorophylle étaient plutôt élevées dans les stations internes et assez faibles vers l'entrée de la Baie. En juillet, les teneurs étaient élevées à Arès et aux Jacquets et moyennes dans le reste de la Baie.

En août, les concentrations en chlorophylle *a* étaient élevées dans toutes les stations.

Le printemps **1999** a été assez pauvre (voire très pauvre) en chlorophylle *a* jusqu'au mois de mai. Au mois de juin, elles se sont élevées pour atteindre des valeurs assez fortes dans les stations situées à l'intérieur de la Baie. En juillet, elles étaient généralement assez fortes sauf au Tès et à Comprian où elles présentaient des valeurs moyennes. En août, les concentrations en chlorophylle étaient élevées dans toutes les stations.

La comparaison des années **1998** et **1999** indique que les teneurs en chlorophylle du mois de juillet étaient égales au cours des deux années ou supérieures en 1999. Pour le mois d'août, les concentrations étaient supérieures en 1999 à Comprian, Bouée 7 et Courbey, inférieures en 1999 à Arès, Jacquets, Bouée 11 et Courbey et égales à Girouasse et aux Jacquets.

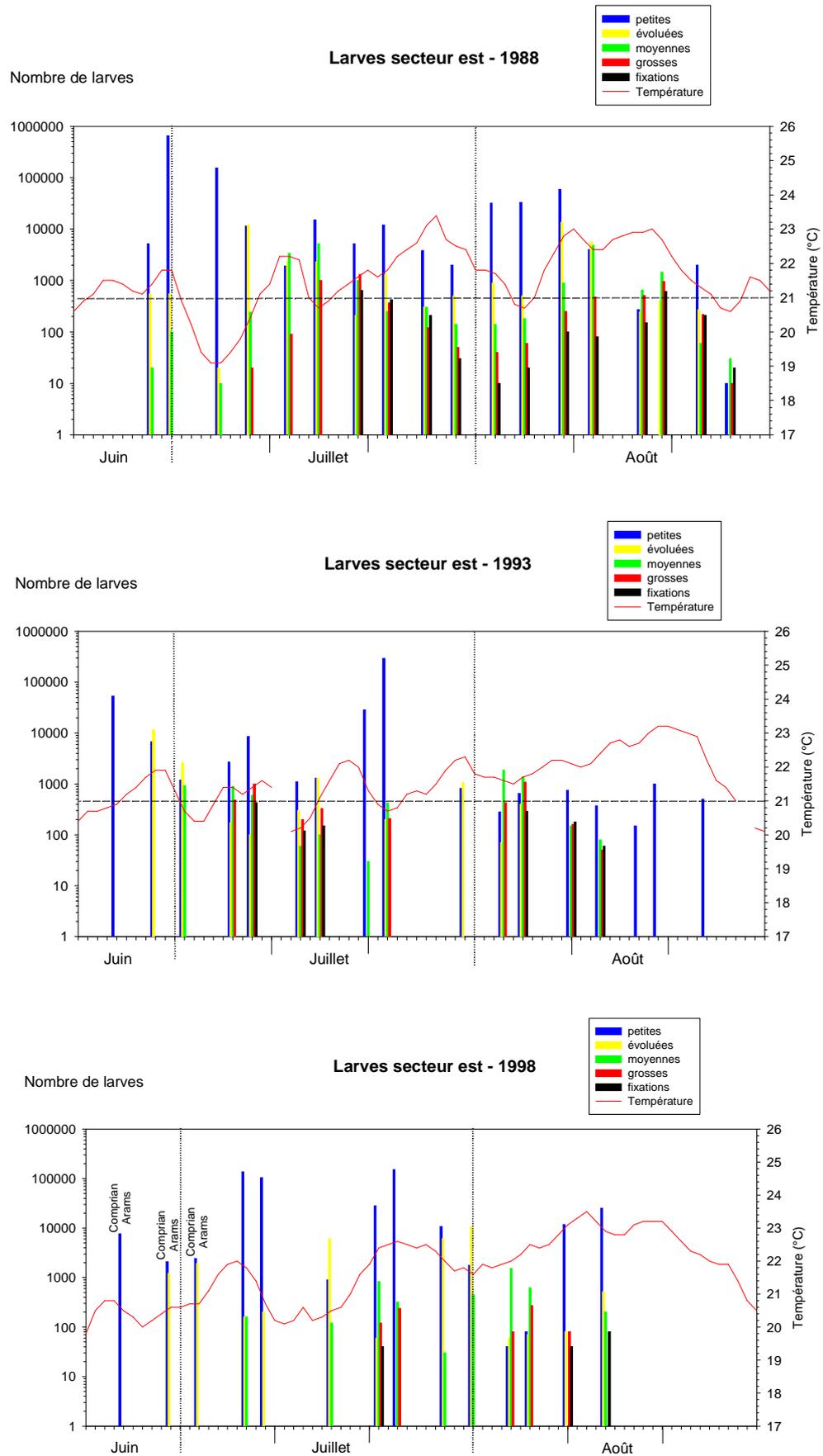
### En résumé

☞ Après un printemps exceptionnellement pluvieux et peu ensoleillé, l'année **1998** a été marquée par un été sec, relativement ensoleillé et plutôt froid, mais uniquement au mois de juillet.

Du point de vue hydrologique, le printemps **1998** a été caractérisé par des salinités très faibles et des teneurs en nitrate et en chlorophylle élevées. En été, la température était relativement basse en juillet et la salinité assez haute en août. Par ailleurs, durant cette saison, les teneurs en azote inorganique étaient faibles et les concentrations en phosphate et en chlorophylle normales à assez élevées.

☞ Au niveau météorologique, le printemps et l'été **1999** présentent des valeurs normales par rapport aux onze années précédentes.

Au printemps et en été **1999**, la température de l'eau était élevée. Les teneurs en azote inorganique étaient assez faibles entre les mois de mai et de juillet et ne se sont élevées en août que dans les zones les plus continentales. En été, les concentrations en phosphate et en chlorophylle étaient normales à élevées.



**Figure 13 :** Evolution de la température de l'eau devant le port d'Arcachon et du nombre de larves dans le secteur « est » en 1988, 1993 et 1998.

### 3. Discussion

Il est évident que la faible température de l'eau mesurée au mois de juillet 1998, ou au moins la chute thermique importante constatée après la première semaine de ce mois, a pu avoir un impact sur le développement larvaire des populations d'huîtres arcachonnaises. En effet, comme His (1991) l'a mis en évidence expérimentalement, la vitesse de la croissance larvaire est réduite de 20 à 30 % entre 25 et 20°C (chapitre 1). Ce retard de croissance augmente le temps nécessaire au développement complet des larves avant leur fixation et accroît les risques de dispersion hors des zones de captage et de prédation pour ces populations. Ce facteur pourrait donc expliquer les aléas du captage en juillet 1998.

Néanmoins, et c'est là l'avantage de disposer de données historiques, de telles conditions thermiques avaient déjà été observées dans un passé récent et n'avaient pas donné lieu à un tel déficit de captage.

Sur la figure 13, nous avons rassemblé les températures de l'eau (devant le port d'Arcachon – données Météo-France) et les dénombrements de larves au cours des trois étés récents pendant lesquels la température de juillet a été particulièrement basse par rapport à la normale : 1988, 1993 et 1998. Pendant ces années et au cours de ce mois, la température moyenne de l'eau devant le port d'Arcachon s'élevait respectivement à 21,4 - 21,3 et 21,1 °C.

Le mois de juillet **1993** a été uniformément froid par rapport à la normale mensuelle. La température a fluctué entre 20 et 22,8 °C sans présenter de variations rapides. Selon les sites, les pontes massives<sup>2</sup> ont commencé entre la mi-juin (Jacquets) et la fin juin (Le Tès) (Manaud *et al.*, 1997). Cette température relativement basse n'a pas empêché les larves d'évoluer normalement puisque les premières larves en fixation ont été observées dans la pêche du 8 juillet, soit trois semaines après les premières émissions. Nous ne disposons pas d'informations chiffrées sur le captage au cours de cette année-là, mais on a la certitude qu'il n'a pas été aussi catastrophique que celui de 1998.

Les courbes de températures des mois de juillet **1988** et **1998** présentent une allure similaire, avec une augmentation jusqu'à 22 °C suivie d'une diminution rapide jusqu'à 19,2 °C en 1988 et seulement jusqu'à 20,4 °C en 1998, juste après le premier pic de larves "petites" observé dans les pêches. Dans les deux cas, la température de l'eau reste inférieure à 21 °C pendant huit jours. Par la suite, la température remonte et oscille entre 22 et 23°C.

En **1988**, les pontes massives ont été détectées bien plus précocement sur les hauts (vers le 15 juin aux Jacquets) que dans la partie centrale du Bassin (vers le 15 juillet au Tès) (Manaud *et al.*, 1997). Les premières larves "en fixation" n'ont été observées dans les pêches que le 19 juillet. Le développement larvaire complet aurait donc pris plus de temps que la normale, c'est à dire environ un mois. Ainsi, la croissance aurait été sensiblement ralentie, mais les larves auraient pu se développer. Cette année-là, les larves en fixation ont ensuite été observées pendant tout le reste de l'été, et le captage, s'il n'a pas été pléthorique, pouvait être considéré comme correct (chapitre 2, Tableau 2).

En **1998**, les premières pontes dans les "hauts" ont vraisemblablement eu lieu entre le 18 et le 24 juin (Figure 2).

---

<sup>2</sup> Dont la date a été déterminée à partir de la date où les réserves lipidiques de la population d'huîtres diminuent brutalement (Manaud *et al.*, 1997).

Comme en 1988, on a observé les premières larves en fixation le 20 juillet, mais leur densité était apparemment beaucoup moins importante qu'en 1988. Par la suite, malgré des conditions thermiques satisfaisantes, on a toujours observé peu ou pas de larves "grosses" et "en fixation" dans les prélèvements, contrairement à ce qui s'était passé en 1988.

**Quoique assez similaires sur le plan thermique par rapport au premier pic de larve "petites" observé dans les pêches, ces deux années 1988 et 1998 ont donc conduit à des résultats très différents sur le plan du développement larvaire et de la fixation du naissain.**

On peut alors se demander ce qui distingue ces deux années du point de vue des autres facteurs chimiques et biologiques et qui pourraient expliquer cette différence de développement.

Comme nous l'avons souligné, l'été 1998 a été marqué par des **salinités relativement élevées** (mais pas exceptionnelles) par rapport à la normale dans les stations moyennes de la Baie: en juillet de cette année, la salinité atteignait 32,3 en moyenne au Tès, soit 0,4 unités de plus que la normale mensuelle calculée sur dix ans ( $31,9 \pm 1,8$  au Tès). Il faut souligner que cette légère sursalure n'atteignait pas les stations les plus internes (Arès et Comprian). En juillet 1988, la salinité était au contraire plus faible que la normale ( $29,1$  en moyenne au Tès).

Ainsi qu'il est rapporté dans le chapitre 1, les salinités préférées par les larves se situent entre 25 et 30. De ce point de vue, les conditions de salinité de l'été 1998 étaient plus favorables à la croissance larvaire que celles de l'été 1999. Néanmoins, les expériences de His (1991) ont montré que ce facteur (entre 25 et 35) n'agit que très faiblement sur la croissance larvaire, y compris à des températures relativement basses (15 et 20°C).

**On n'a alors pas de raison valable pour retenir le facteur salinité comme pouvant expliquer la différence de développement larvaire entre 1988 et 1998.**

Le mois de juillet 1998 a été marqué par des teneurs indétectables à l'analyse en **nitrate** dans la plupart des stations internes de la Baie ( $< 0,1 \mu\text{mol/l}$  en moyenne au Tès) tandis qu'en juillet 1988, on a mesuré des teneurs moyennes au Tès s'élevant à  $0,9 \mu\text{mol/l}$ , valeur proche de la normale mensuelle calculée sur 10 ans ( $1,1 \pm 1,7 \mu\text{mol/l}$ ).

On pourrait alors penser que la faible teneur en ce nutriment azoté observé en 1998 a pu retarder le développement larvaire *via* une plus faible production du petit phytoplancton dont se nourrissent les larves, dont le développement est déterminé notamment par la disponibilité d'azote dans le milieu. On ne dispose malheureusement pas de données précises sur l'abondance de ces petites espèces phytoplanctoniques, mais les mesures de **chlorophylle a** totale ne révèlent pas de déficit global particulier de ce compartiment en juillet 1998 ( $2,08 \mu\text{g chl } a / \text{l}$  en moyenne au Tès) ni par rapport à juillet 1988 ( $2,01 \mu\text{g chl } a / \text{l}$  en moyenne au Tès) ni par rapport à la normale mensuelle calculée sur dix ans ( $2,0 \pm 0,8 \mu\text{g chl } a / \text{l}$  en moyenne au Tès).

**Il est donc impossible de se prononcer en faveur de l'hypothèse d'un effet indirect des faibles concentrations en nitrate sur l'évolution des populations larvaires d'huîtres en 1998. Toutefois, nous verrons par la suite (chapitre 6) que de telles conditions de pauvreté en sels nutritifs peuvent significativement accroître l'impact de certains polluants sur les petites espèces phytoplanctoniques.**

## 4. Conclusion

La première hypothèse se rapportait aux particularités climatiques de l'année 1998 comparativement aux années précédentes et à l'année suivante. Nous avons montré que le mois de juillet de cette année a été particulièrement froid (marqué par une chute brutale de la température) et l'été peu pluvieux (salinité relativement élevée, très faibles teneurs en nitrate) par rapport à d'autres années.

Le paramètre salinité ne peut absolument pas être impliqué dans la disparition des larves au cours de l'été 1998. Les préférences de l'espèce *Crassostrea gigas* sont bien connus et sont compris entre des valeurs de 25 à 30 (His, 1991). Toutefois, il a été démontré que des salinités de 32 à 35, valeurs observées dans le Bassin au cours de l'été 1998, ne peuvent en aucun cas affecter la viabilité des larves et que leur croissance n'est que très faiblement réduite par rapport à celle mesurée à des salinités plus faibles.

La chute brutale de température observée quelques jours après la ponte massive du début du mois de juillet a sans doute ralenti le développement des larves. Cette augmentation du délai de vie larvaire agit négativement sur le recrutement du naissain en favorisant la dispersion des larves hors des secteurs de captage et en accroissant la mortalité naturelle et la prédation de ces stades larvaires particulièrement fragiles.

Toutefois, nous avons vu que le mois de juillet 1988 a présenté la même chute de température de l'eau sans que le développement larvaire en ait semblé affecté.

Par ailleurs, la température de l'eau n'a pas présenté d'anormalité après la seconde ponte importante du mois de juillet 1998. Ce facteur ne nous semble donc pas pouvoir expliquer la défaillance du développement larvaire au mois d'août.

**Les particularités des conditions climatiques et hydrologiques de l'été (défavorables sur le plan de la température) n'apportent pas, à elles seules, d'explication totalement satisfaisante à la disparition des larves d'huîtres au cours de leur évolution pendant l'été 1998.**

**Hypothèse 2 :**  
**"Défaut de l'alimentation larvaire"**



## Chapitre 4

### Alimentation larvaire : le phytoplancton en été

#### 1. Introduction

Pour que les larves puissent se développer, elles doivent trouver dans le milieu la nourriture qui leur est nécessaire à la fois en quantité et en qualité. Le facteur nutritionnel est très important. Il a été avancé par His (1991) lors de la crise TBT de 1977 à 1982 dans le Bassin, les teneurs en TBT dans le milieu n'agissant pas directement sur les larves mais sur le phytoplancton dont elles se nourrissent. De même en éclosion, la qualité de la nourriture distribuée est déterminante dans la réussite des élevages larvaires.

Le développement quantitatif et qualitatif du phytoplancton (importante source de nourriture pour les larves) est influencé par les conditions naturelles (ensoleillement, température, salinité, sels nutritifs) mais il peut être aussi affecté par divers contaminants, entre autres les herbicides utilisés en agriculture qui sont à même d'agir sur ce matériel végétal (cf. chapitre 6).

Nous avons vu que si l'alimentation des larves est bien connue en milieu contrôlé, il n'est pas de même en milieu naturel (cf. chapitre 1). Les éléments que nous avons réunis dans cette étude au cours de l'été 1999 sont donc très importants pour mieux cerner cet aspect de la problématique. Bien qu'il n'y ait pas eu d'observations spécifiques durant l'été 1998, les données issues de la surveillance du phytoplancton fournissent des informations intéressantes qui seront reprises dans cet exposé.

#### 2. Méthodes

##### 2.1. Quelques définitions

Le phytoplancton est la partie végétale du plancton (organismes entraînés passivement par les masses d'eaux). Il est microscopique et capable de photosynthèse comme tous les végétaux (autotrophe). Les organismes sont unicellulaires, parfois groupés en chaîne ou colonies. Selon un critère de taille, on distingue :

- **le picoplancton** qui regroupe les organismes dont la taille est comprise entre 0,2 et 2-3  $\mu\text{m}$  (Sieburth *et al.*, 1978),
- **l'ultraplancton** dont la taille est inférieure à 10  $\mu\text{m}$ <sup>3</sup>,
- **le microplancton** constitué des organismes supérieurs à cette dimension et qui peuvent atteindre jusqu'à 1 mm.

On différencie également les **procaryotes** (cellules dépourvues de noyau) et les **eucaryotes** (cellules plus évoluées pourvues d'un noyau distinct). Le picoplancton est constitué de procaryotes (picoprocaryotes) et d'eucaryotes (picoeucaryotes). Il est largement dominant dans les océans et joue un rôle essentiel dans d'autres écosystèmes tels que mers, baies ou lagunes (Blanchot *et al.*, 1998).

---

<sup>3</sup> Parfois, la limite est fixée à 20  $\mu\text{m}$  et l'on parle alors de nanoplancton.

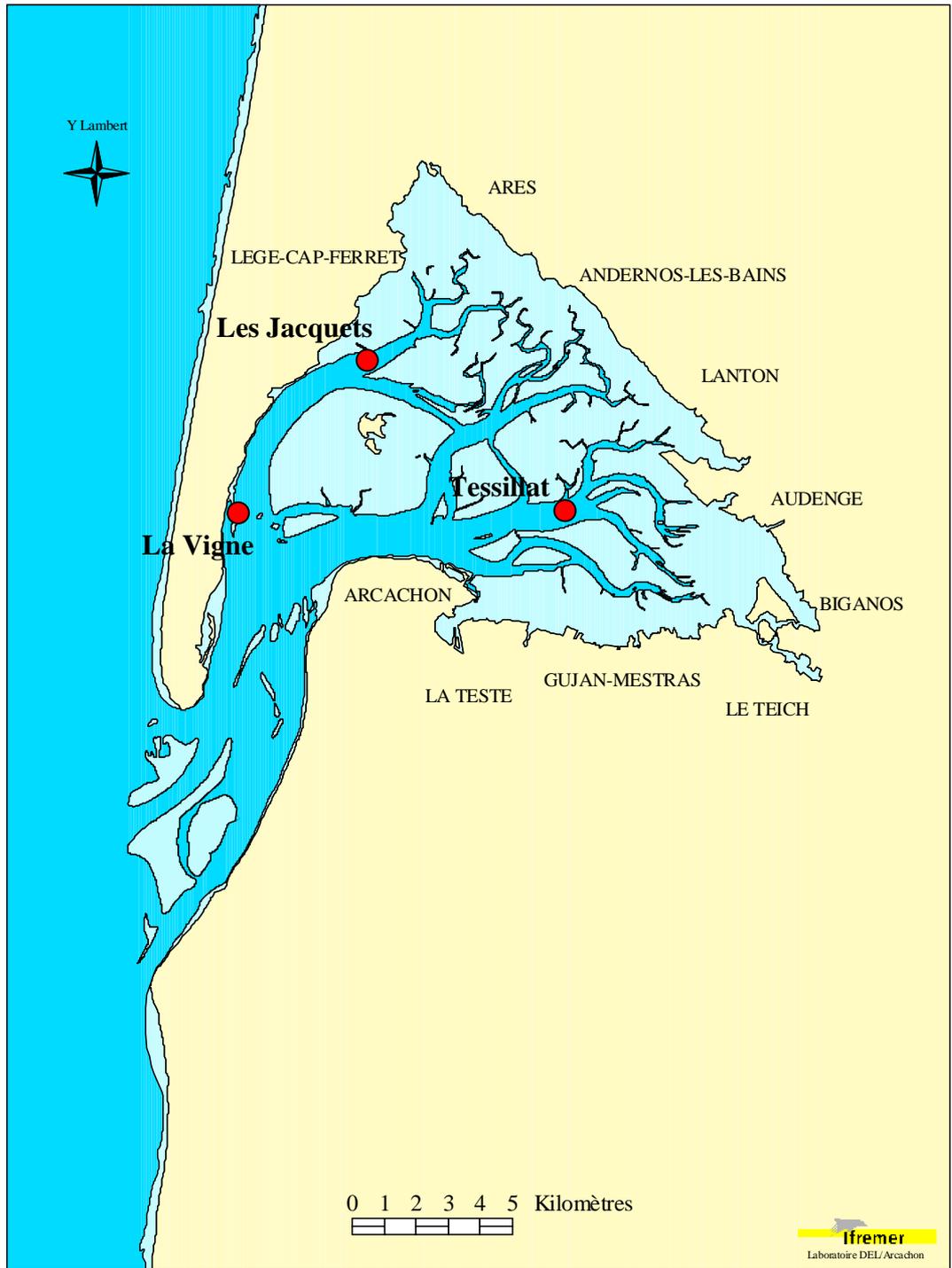


Figure 14 : Localisation des stations de prélèvement du phytoplancton.

A côté des méthodologies classiques d'étude du phytoplancton que sont les déterminations des teneurs en **chlorophylle *a*** et les **numérations cellulaires** au microscope optique inversé, des méthodes plus récentes ou plus élaborées ont aussi été mises en œuvre au cours de cette étude. Ce sont respectivement la **cytométrie en flux** et la **microscopie électronique à balayage**.

La **cytométrie en flux** permet de faire la numération précise des plus petites formes rencontrées dans le milieu qu'elles soient hétérotrophes (bactéries), autotrophes procaryotes (cyanobactéries) ou eucaryotes (pico, ultra et nanoplancton).

L'observation fine de la structure de flagellés et de Diatomées en **microscopie électronique à balayage** permet de déterminer précisément les espèces de très petite taille dont beaucoup sont à peine visibles en microscopie optique. Les résultats obtenus sont essentiellement qualitatifs.

## 2.2. Sites et fréquence des prélèvements

Des stations ont été choisies dans les principaux secteurs de captage du Bassin. Ce sont La Vigne, Les Jacquets et Tessillat (Figure 14). Elles ont été échantillonnées chaque semaine, autour de la pleine mer, du 21 juin au 24 août 1999 (soit 30 échantillons).

Les prélèvements d'eau sont effectués à -1 m de profondeur, avec une bouteille Hydrobios de 4 l de contenance.

## 2.3. Chlorophylle *a*

La chlorophylle est le pigment indispensable à la photosynthèse des végétaux. Son dosage permet d'obtenir une estimation de la biomasse végétale.

La chlorophylle *a* est dosée par fluorimétrie (fluorimètre Turner, modèle 112) en utilisant la méthode et les formules de calcul de Lorenzen (1967) d'après Aminot et Chaussepied (1983). Au laboratoire, après homogénéisation de l'eau prélevée, 100 ml sont filtrés sur filtre Whatman GFF (porosité 0,7 µm) pour le dosage de la chlorophylle *a* totale. Afin de doser la chlorophylle *a* des organismes inférieurs à 8 µm, l'eau est préfiltrée sur membrane Nucléopore (porosité 8 µm) et 100 ml de filtrat sont passés ensuite sur membrane Whatman GFF. Ces derniers dosages ont été réalisés qu'à partir du mois d'août.

## 2.4. Cytométrie en flux

Les échantillons d'eau (2 ml) prélevés dans le Bassin d'Arcachon et destinés aux analyses en cytométrie en flux ont été fixés avec du paraformaldéhyde (à 1 % en concentration finale) et stockés à l'azote liquide avant leur analyse en cytométrie en flux (Vaulot *et al.*, 1989 ; Troussellier *et al.*, 1993).

Les analyses du phytoplancton et des bactéries ont été réalisées à l'aide d'un cytomètre en flux FACScan (Becton-Dickinson, San José, CA) équipé d'un laser Argon de 35 mW émettant à 488 nm.

Pour les cellules du phytoplancton, les sous populations ont été identifiées en fonction de leurs propriétés de diffusions lumineuses aux grands angles (SSC, relatives à la taille cellulaire) et de fluorescences oranges (FL2, collectées à 530/30 nm) et rouges (FL3, collectées au dessus de 650 nm) dues à leurs pigments naturels (respectivement phycoérythrine et chlorophylle) (Olson *et al.*, 1989 ; 1990 ; Troussellier *et al.*, 1993 ; Li 1994).

La mise en évidence des bactéries dans les échantillons est réalisée par un marquage de l'échantillon au SYBR Green I (0,5 µl par ml, Molecular Probes, Inc. Eugene, OR). Le

SYBR Green est un marqueur des acides nucléiques (ADN et ARN) à fort rendement de fluorescence émettant une fluorescence verte (FL1) à 510 nm quand les cellules sont excitées à 488 nm. Les bactéries ont été discriminées et énumérées grâce leurs propriétés de diffusions lumineuses aux grands angles (SSC, relié à la taille cellulaire) et de fluorescence verte (FL1) due à leur contenu en acides nucléiques marqués (Marie *et al.*, 1997).

Pour estimer les concentrations cellulaires phytoplanctoniques et bactériennes de chaque échantillon, le volume analysé (Va) par le cytomètre est précisément calculé (Va = volume initial d'échantillon - volume restant) (Troussellier *et al.*, 1999).

Les paramètres cellulaires (SSC, FL1, FL2 et FL3) mesurés sur chaque cellule ont été recueillis sur une échelle logarithmique de 4 décades constituée de 1024 canaux et stockés en Mode List afin de pouvoir être rejoués à tout moment à l'aide du logiciel de traitement des données CELLQuest (Becton-Dickinson).

Des billes calibrées de 1,02  $\mu\text{m}$  (Polysciences Inc., Warrington, PA), utilisées comme standard interne, sont systématiquement ajoutées et analysées en même temps que l'échantillon afin de normaliser les paramètres cellulaires mesurés. La moyenne de chaque paramètre (SSC, FL1, FL2, FL3) d'une population cellulaire divisée par la moyenne des mêmes paramètres des billes donne un rapport caractérisant chaque type cellulaire discriminé. Cette normalisation, outre la standardisation des protocoles d'analyse, permet de comparer les populations discriminées d'un même échantillon, d'échantillons différents ou prélevés à des époques différentes (Troussellier *et al.*, 1993).

## 2.5. Microscopie optique

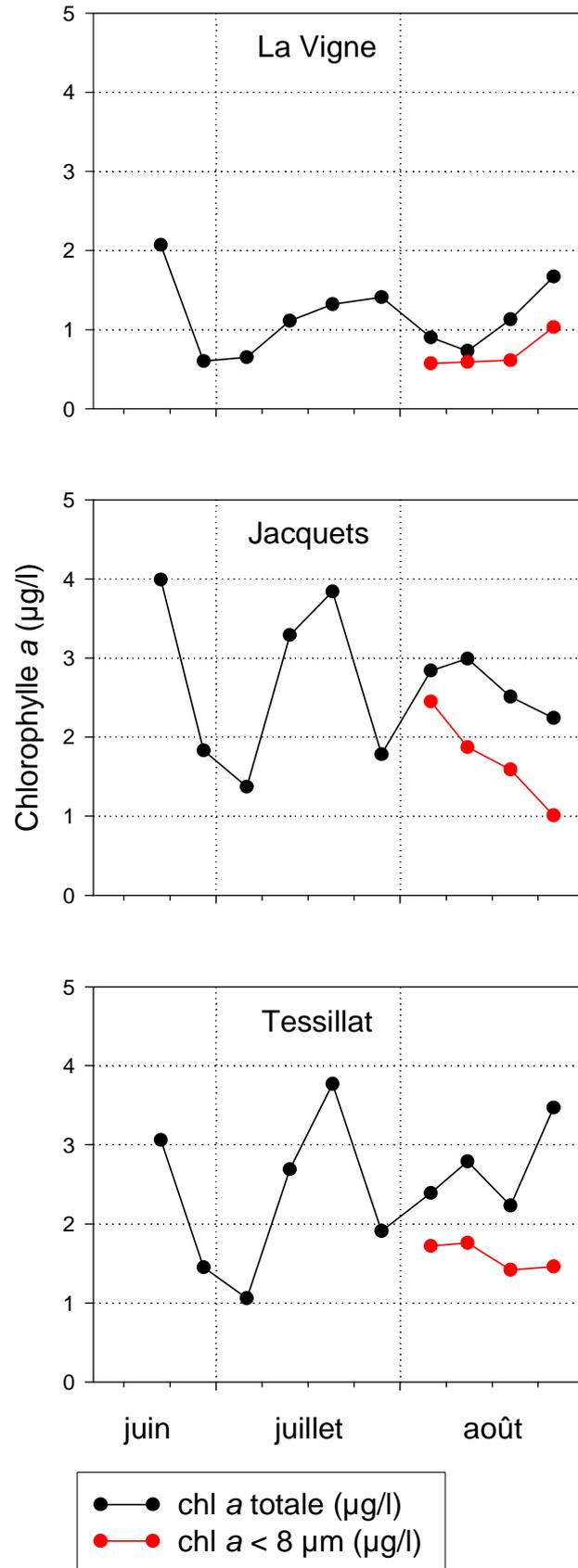
L'eau prélevée (250 ml) est fixée au Lugol acétique. Après homogénéisation de l'échantillon, un volume de 10 ml est versé dans une cuve à sédimentation puis laissé au repos au moins 4 h pendant lesquelles les cellules sédimentent sur le fond de la cuve. L'observation du fond de la cuve est faite au microscope inversé Olympus-IMT2. Les comptages sont effectués sur une demi cuve au grossissement 200 pour les espèces les plus grosses et sur un diamètre ou une portion de diamètre au grossissement 400 pour les petites espèces.

Le niveau d'identification des cellules est différent selon leur taille. La plupart des espèces du microplancton ont pu être déterminées tandis que seuls quelques ordres et genres du nanoplancton (taille < 20  $\mu\text{m}$ ) et uniquement certaines classes de l'ultraplancton (taille < 10  $\mu\text{m}$ ) ont été reconnus. Dans le cas contraire, les organismes apparaissent le plus souvent sous le terme de flagellés. Le picoplancton (taille < 2-3  $\mu\text{m}$ ) ne peut pratiquement pas être abordé en microscopie optique. Les résultats seront présentés en différenciant l'ultraplancton du microplancton.

## 2.6. Microscopie électronique à balayage

### 2.6.1. Préparation des échantillons destinés à l'observation des flagellés

Les flagellés étant fragiles, il importe de les manipuler délicatement. L'échantillon frais est laissé au repos afin de permettre aux flagellés de reprendre leur nage et de coloniser la colonne d'eau, puis un volume de 5 ml est prélevé en surface et fixé avec une goutte de Lugol acétique. Une partie (2 ml) est ensuite placée dans un tube à bouchon vissé, une lamelle circulaire, préalablement enduite de polylysine (Poly-L-Lysine 0,1 % Sigma), ayant été déposée à l'intérieur du bouchon.



**Figure 15** : Evolution de la chlorophylle *a* au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

Une centrifugation douce (1 000 g) des tubes, bouchon en bas, permet le dépôt des flagellés sur la lamelle. Les lamelles sont ensuite plongées dans des bains successifs d'éthanol à 30 % et 50 % pendant 10 minutes puis conservées dans un bain à 70 % jusqu'au traitement final.

### 2.6.2. Préparation des échantillons destinés à l'observation des Diatomées

Les Diatomées sont des algues unicellulaires caractérisées par la présence d'une capsule protectrice siliceuse, le frustule. Leur classification est essentiellement basée sur la morphologie et la structure du frustule. Ce dernier étant suffisamment résistant pour supporter des manipulations peu délicates, un volume de 10 ml est prélevé (à partir de l'échantillon d'eau préalablement homogénéisé) puis filtré à l'aide d'une seringue sur une membrane Nucléopore (porosité 0,8 µm) placé dans un support de filtration en inox. La membrane est rincée avec 2 ml d'eau distillée afin d'enlever le dépôt de sel puis mise à sécher à l'air ambiant et conservée ainsi dans une boîte jusqu'au traitement final.

### 2.6.3. Traitement des lamelles et des filtres

Les lamelles sont plongées dans un bain d'éthanol à 90 % puis pur avant d'être passées au point critique (procédé de déshydratation qui permet de conserver la forme initiale des cellules).

Membranes et lamelles sont ensuite traitées de façon identiques. Elles subissent un ombrage<sup>4</sup> avant d'être placées sur un portoir pour l'observation au microscope électronique à balayage (Hitachi S520 ou S4500). Les grossissements utilisés sont de 1 000 à 15 000 fois pour la détermination des espèces et peuvent aller jusqu'à 30 000 ou plus pour l'examen de détails particuliers.

## 3. Résultats

### 3.1. Chlorophylle a

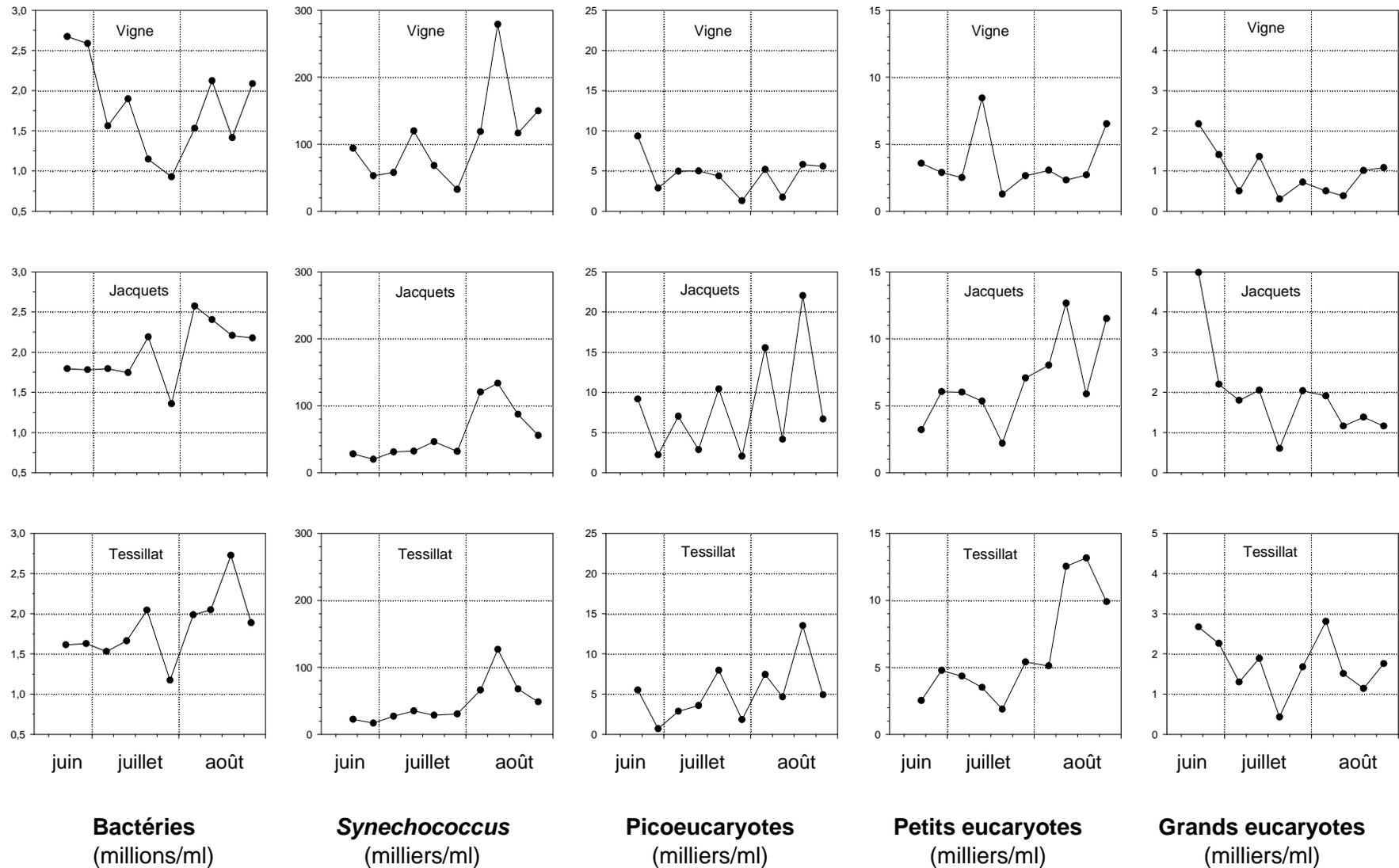
Les teneurs moyennes en chlorophylle *a* sont plus élevées aux Jacquets (2,67 µg/l) et au Tessillat (2,48 µg/l) qu'à La Vigne (1,16 µg/l) (Tableau 3).

	Moyenne chla totale sur 10 prélèvements µg/l	Moyenne chla < 8 µm sur 4 prélèvements µg/l	% représenté par la chla < 8 µm
La Vigne	1,16	0,70	60 %
Les Jacquets	2,67	1,73	65 %
Tessillat	2,48	1,59	64 %

**Tableau 3** : Teneurs en chlorophylle *a* (µg/l) dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon au cours de l'été 1999.

Les résultats du réseau hydrologique IFREMER du Bassin, présentés au chapitre 3, montrent que l'été 1999 est caractérisé par des teneurs assez élevées en chlorophylle pour cette saison, particulièrement dans les stations du nord et du centre du Bassin (Jacquets, Arès et Girouasse) ainsi qu'au Courbey. A Comprion et au Tès, cette richesse plus grande se manifeste uniquement à la fin du mois d'août.

<sup>4</sup> Il s'agit d'une métallisation par dépôt d'une fine couche d'or sur les échantillons. Le rôle est double : permettre la conductibilité de la surface de l'échantillon et augmenter le contraste.



**Figure 16 :** Evolution des effectifs des différents groupes cytométriques au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

Les observations que nous avons faites aux Jacquets sont identiques à celles du réseau, soit une richesse plus grande qu'habituellement en été. Les valeurs obtenues au Tessillat se situent dans la gamme moyenne de celles de la station Comprian du réseau. La station La Vigne se singularise quant à elle par des teneurs plus faibles que celles du Courbey, station la plus pauvre du réseau.

Rappelons qu'en 1998 (cf. chapitre 3), les teneurs en chlorophylle *a* ont aussi été assez élevées pour la saison, en juillet dans les zones internes et en août dans l'ensemble de la Baie.

L'évolution des concentrations en 1999 se déroule de façon assez similaire dans les trois stations (Figure 15). Trois périodes de relative richesse se succèdent le 21 juin, à la mi juillet et entre mi août et fin août selon les sites. Les maximums atteints sont de l'ordre de 4 µg/l aux Jacquets et au Tessillat et de 2 µg/l à La Vigne.

La chlorophylle correspondant à la fraction phytoplanctonique de taille inférieure à 8 µm représente en moyenne de 60 à 65 % de la chlorophylle totale (Tableau 3). Ces pourcentages vont dans le sens des observations de Guillocheau (1988) qui montrent que la floraison des espèces ultraplantoniques du Bassin est surtout estivale.

### 3.2. Cytométrie en flux

Les analyses de cytométrie en flux ont été réalisées par C. Courties (Laboratoire Arago Banyuls) et l'exploitation des résultats effectuée conjointement avec celui-ci.

#### 3.2.1. Les bactéries

Les concentrations en bactéries sont élevées et du même ordre de grandeur dans les trois stations, variant entre environ 1 et 2,7 millions de cellules par ml (Tableau 4). Dans l'ouest de l'Atlantique Nord, Li *et al.* (1993a) considèrent en effet les bactéries comme abondantes pour une teneur de 2 millions de cellules par ml.

L'évolution dans le temps est assez similaire pour Les Jacquets et Tessillat où des valeurs stables se maintiennent jusqu'à mi juillet avant une chute fin juillet et une remontée pendant le mois d'août où les maximums sont atteints (Figure 16). A La Vigne, si le minimum est aussi observé fin juillet, les maximums le sont en juin, le mois d'août présentant des teneurs moyennes (entre 1,5 et 2 millions de cellules par ml).

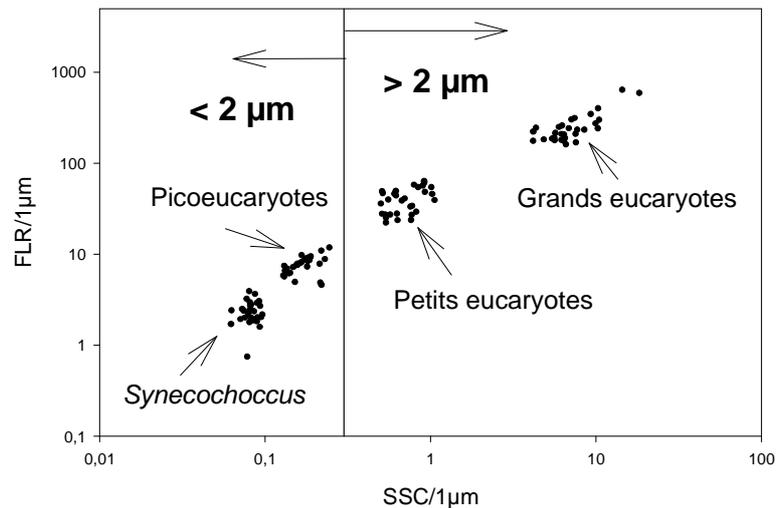
	<b>Moyenne</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
<b>La Vigne</b>	1 794 000	926 000	2 672 000
<b>Les Jacquets</b>	2 001 000	1 357 000	2 572 000
<b>Tessillat</b>	1 830 000	1 172 000	2 727 000

**Tableau 4** : Abondances des bactéries (nombre par ml) mesurées en cytométrie en flux dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

#### 3.2.2. Le phytoplancton

Les résultats obtenus en cytométrie permettent de distinguer quatre groupes de cellules selon leur fluorescence rouge (FLR) et leur taille apparente (SSC) (Figure 17). La limite de 2 µm a été déterminée sur le graphique en filtrant l'échantillon sur 2 µm avant de procéder de nouveau à son analyse en cytométrie et ainsi séparer les réponses selon un critère de

taille réelle et non plus apparente. A Arcachon, le picoplancton est constitué d'un procaryote (cellule dépourvue de noyau et capable de photosynthèse) *Synechococcus*, Cyanophycée le plus souvent solitaire, et d'eucaryotes dont l'importance dans le plancton marin est confirmée depuis quelques années. En cytométrie, les organismes de taille supérieure à 2  $\mu\text{m}$  sont des eucaryotes qui se séparent en deux groupes dont les tailles réelles ne sont pas définies. Nous les appellerons petits et grands eucaryotes pour les distinguer.



**Figure 17** : Propriétés cellulaires du phytoplancton du Bassin d'Arcachon au cours de l'été 1999

### 3.2.2.1. Abondances

Les *Synechococcus* dominent nettement le picoplancton en nombre (environ à 90 %). Leurs effectifs varient de 17 000 à 279 000 cellules par ml (Tableau 5). Ils sont en moyenne environ deux fois plus nombreux à La Vigne (109 000/ml) qu'aux deux autres stations (58 000 et 47 000/ml). Les courbes d'évolution dans le temps des trois stations présentent une allure générale similaire, les valeurs les plus élevées étant observées en août avec des maximums le 10 août, respectivement à La Vigne, Jacquets et Tessillat, de 279 000, 133 000 et 127 000 cellules/ml (Figure 16). Les variations de la station La Vigne sont un peu plus erratiques que celles des deux autres sites.

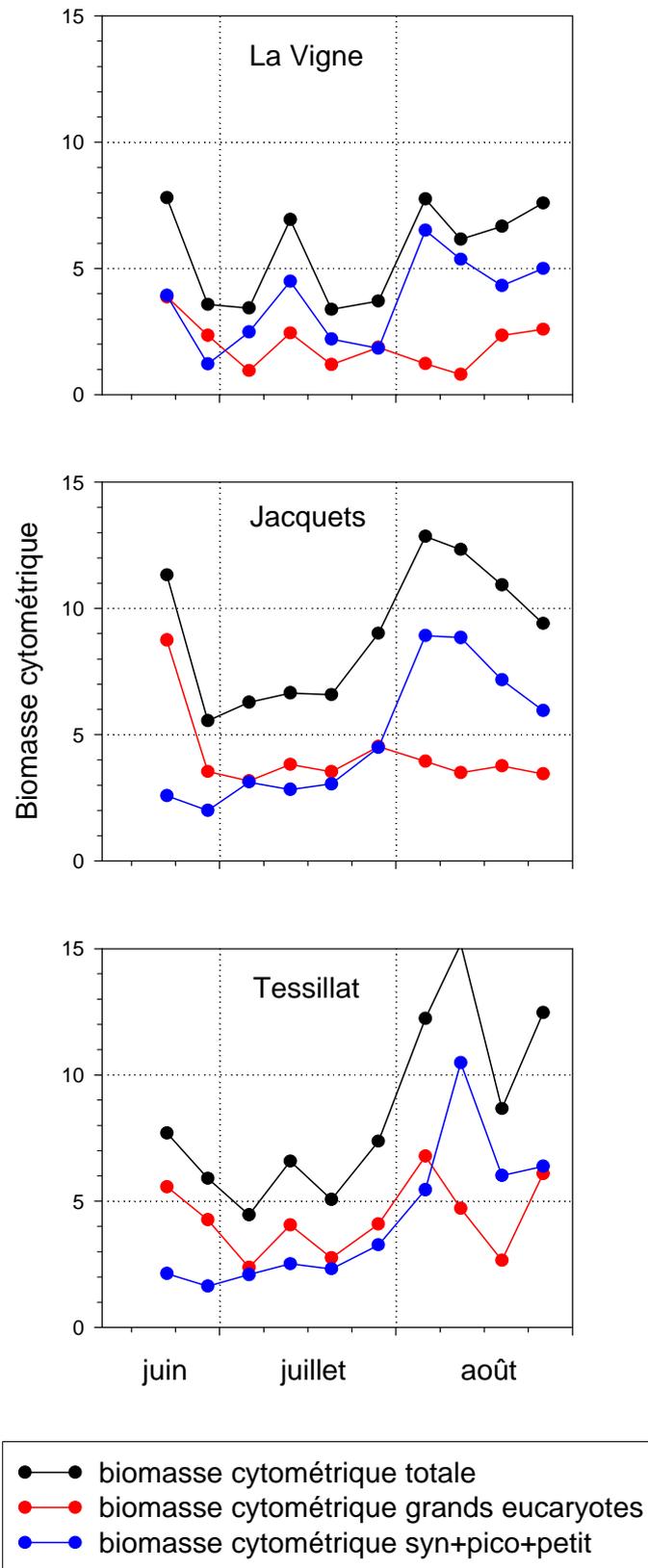
	Station	Moyenne	Minimum	Maximum
<i>Synechococcus</i>	La Vigne	109 000	32 000	279 000
	Les Jacquets	58 000	20 000	133 000
	Tessillat	47 000	17 000	127 000
Picoeucaryotes	La Vigne	4 600	1 300	9 300
	Les Jacquets	8 200	2 000	22 000
	Tessillat	5 300	700	13 500
Petits eucaryotes	La Vigne	3 600	1 200	8 400
	Les Jacquets	6 800	2 200	12 700
	Tessillat	6 300	1 900	13 200
Grands eucaryotes	La Vigne	940	300	2 200
	Les Jacquets	1 900	600	5 000
	Tessillat	1 700	400	2 800

**Tableau 5** : Abondances des différents groupes cytométriques (nombre par ml) au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin.

Les picoeucaryotes sont environ 10 fois moins abondants que les *Synechococcus*. A l'inverse, c'est la station La Vigne qui est la plus pauvre avec en moyenne 4 600 cellules/ml et un maximum de 9 300 cellules/ml le 21 juin (Tableau 5). Dans les deux autres sites, la richesse augmente au cours des trois mois de prélèvements, les valeurs les plus élevées étant obtenues au cours du mois d'août. Cette augmentation s'effectue en dents de scie dont les sommets se situent exactement aux mêmes dates dans les deux stations (Figure 16). Le secteur des Jacquets est environ 2 fois plus riche que les autres.

Les abondances des petits eucaryotes ( $> 2 \mu\text{m}$ ) sont du même ordre que celles des picoeucaryotes (Tableau 5). Les courbes d'évolution sont très similaires aux Jacquets et au Tessillat, des fluctuations en juin et juillet précédant les maximums observés au cours du mois d'août (Figure 16). Les Jacquets sont un peu plus riches que Tessillat. Comme pour les autres groupes cytométriques, la station La Vigne se différencie par les concentrations les plus faibles (d'un ordre 2) et peu de variations exceptés deux pics les 12 juillet et 24 août.

Les grands eucaryotes sont 3 à 4 fois moins nombreux que les petits eucaryotes. On retrouve le même gradient de richesse que précédemment, les valeurs aux Jacquets étant légèrement supérieures à celles du Tessillat et deux fois plus fortes que celles de La Vigne. Les évolutions sont plus ou moins semblables dans les trois stations (Figure 16). Les maximums s'observent en juin et début juillet, suivis d'une décroissance jusqu'à fin juillet (minimum le 19 juillet) avant une remontée au cours du mois d'août.



**Figure 18 :** Evolution de la biomasse cytométrique au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

### 3.2.2.2. Biomasse cytométrique

En multipliant le nombre de cellules par la fluorescence rouge moyenne émise dans chaque groupe, on peut estimer la biomasse cytométrique par groupe ainsi que la participation de chaque groupe à la biomasse totale. Ces données peuvent être comparées aux concentrations en chlorophylle *a* mesurées par fluorimétrie (Li, 1995).

Les *Synechococcus* participent à la biomasse cytométrique totale deux fois plus à La Vigne (37 %) qu'aux Jacquets et au Tessillat (14 et 13 %) tandis que les picoeucaryotes ne représentent qu'une faible proportion, voisine dans les trois stations (6-7 %) (Tableau 6). La participation des petits eucaryotes est plus élevée au Tessillat et aux Jacquets (environ 30 %) qu'à La Vigne (21 %).

Les grands eucaryotes, compensant leur nombre plus faible par leur taille plus élevée, contribuent de façon importante à la biomasse cytométrique totale aux Jacquets et au Tessillat (48 et 53 %). A La Vigne, ils ne représentent que 36 % de la biomasse, pourcentage voisin de celui des *Synechococcus*.

	<i>Synechococcus</i>	Picoeucaryotes	Petits eucaryotes	Grands eucaryotes
<b>La Vigne</b>	37 %	6 %	21 %	36 %
<b>Les Jacquets</b>	14 %	7 %	31 %	48 %
<b>Tessillat</b>	13 %	6 %	28 %	53 %

**Tableau 6** : Participation de chaque groupe cytométrique à la biomasse cytométrique totale dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

Il nous a semblé intéressant de regrouper les catégories *Synechococcus*, picoeucaryotes et petits eucaryotes car elles constituent les organismes les plus petits et les plus susceptibles de servir à l'alimentation larvaire. La figure 18 rend compte de la participation à la biomasse cytométrique totale des grands eucaryotes d'une part, et des trois autres catégories regroupées d'autre part. Pour les deux stations Les Jacquets et Tessillat, les grands eucaryotes dominent la biomasse totale en juin tandis que ce sont les autres groupes qui la dominent au mois d'août. En juillet, la biomasse totale est la plus faible surtout aux Jacquets et ne montre pas de prépondérance particulière. A La Vigne, les grands eucaryotes jouent un rôle moins important, les autres groupes semblant déterminants dans les variations de la biomasse cytométrique totale.

### 3.2.2.3. Comparaison avec d'autres milieux (Tableau 7)

Le picoplancton est l'un des composants du phytoplancton les plus abondants dans les écosystèmes marins. Les communautés picoplanctoniques sont constituées de procaryotes de deux genres : *Prochlorococcus* et *Synechococcus*, et d'eucaryotes. Les premiers sont plus nombreux que les eucaryotes dans les eaux océaniques du large.

Les espèces du genre *Prochlorococcus* sont particulièrement adaptées aux zones oligotrophes (pauvres en sels nutritifs) où elles dominent. Les *Synechococcus* et les picoeucaryotes se trouvent partout mais sont plus abondants lorsque les eaux sont plus riches en sels nutritifs. Les *Synechococcus* préfèrent les eaux de surface bien éclairées ; il en existe deux types : un des eaux bleues du large et un des eaux vertes de la côte (Blanchot *et al.*, 1998).

Lieu	eaux	Picoeucaryotes	Picocyanobactéries	Référence bibliographique
		10 <sup>3</sup> cell/ml	10 <sup>3</sup> cell/ml	
<b>Bassin d’Arcachon</b>	<b>lagune</b>	<b>6 (0,7-22)</b>	<b>70 (17-279)*</b>	<b>Cette étude</b>
Baie de Kalloni (Grèce)	lagune	1,2-2,7 (estimés)	0,09-0,22* (estimés)	Lefebvre <i>et al.</i> , 1997
Etang de Thau	lagune	33 (0,8-260)	0,02-0,2*	Vaquer <i>et al.</i> , 1996
Méditerranée Golfe du Lion	upwelling	5,1	5,6	
Méditerranée	surtout côtières	2 (estimé)	0,08-140	Magazzu et Decembrini, 1995
Méditerranée nord ouest	côtières-large	3 (0,01-16)	35-45 (max 110)*	Vaulot et Partensky, 1992
Méditerranée est	Large surface	0,5	1-10	Li <i>et al.</i> , 1993b
Adriatique nord	côtières eutrophes	2,65-4,62	28,2-41,7	Vanucci <i>et al.</i> , 1994
Southampton	estuariennes	0,08-13	0,02-13	Iriarte et Purdie, 1994
Skagerrak (mer du Nord)	côtières	14 (max)	250 (max)*	Kuylenskierna et Karlson, 1994
Eaux côtières danoises	côtières surface	0,2-9,1	6-450*	Sondergaard <i>et al.</i> , 1991
Baltique (Golfe Finlande)	oligotrophes	6-30	0-1 000	Kuosa, 1991
Atlantique nord	large	-	2,5 *	Olson <i>et al.</i> , 1990
Atlantique nord	surface	-	4-10* (estimés)	Li, 1995
Atlantique nord ouest	large	26-33	33-99	Li <i>et al.</i> , 1993a
Atlantique nord ouest	côtières-large	4,48-12,5	56-121*	Longhurst <i>et al.</i> , 1992
Atlantique nord est	large	8,1 (2,5-13,5)	2,3-12,7	Li, 1994
Atlantique nord est	mesotrophe oligotrophe	10-20 4,4	180-520* 3*	Partensky <i>et al.</i> , 1996
Mer des Sargasses	oligotrophe	0,48 (0,003-1,39)	1,3 (max 6,8)*	CHLOMAX, 1992
Côte ouest Nouvelle Zélande	upwelling côtier	0,39-12	0,63-21	Hall et Vincent, 1990
Côte ouest Nouvelle Zélande	upwelling côtier	0,68-5,8	4-71	Hall et Vincent, 1994
Pacifique	côtières	-	2,5*	Olson <i>et al.</i> , 1990
Pacifique nord (Hawaï)	subtropicales	0,1-10	4,4 (max)*	Campbell et Vaulot, 1993
Pacifique ouest	subsurface	1-5	1-30*	Shimida <i>et al.</i> , 1993

**Tableau 7** : Abondance du picoplancton dans différents secteurs géographiques Moyenne et (ou) minimum-maximum - \* *Synechococcus*

Selon Partensky *et al.* (1996), *Synechococcus* est trouvé en basses concentrations dans les océans subtropicaux oligotrophes tandis qu'il est très dense ( $10^5$  cellules/ml) dans les aires côtières (Olson *et al.*, 1988 ; Vaultot et Ning Xiuren, 1988). Les teneurs moyennes trouvées dans le Bassin d'Arcachon ( $50$  à  $100 \cdot 10^3$  cellules/ml) sont du même ordre de grandeur. Elles montrent la richesse de ce milieu en picoprocaryotes ainsi que le caractère marin de la Baie d'autant plus marqué à son entrée (La Vigne).

Depuis quelques années, l'importance des picoeucaryotes en milieu côtier est confirmée par de nombreuses études. Ainsi, une contribution élevée des eucaryotes au picoplancton a été rapportée dans des secteurs d'upwelling côtiers (Hall et Vincent, 1990), des lagunes (Courties *et al.*, 1994 ; Vaquer *et al.*, 1996 ; Chrétiennot-Dinet et Courties, 1997 ; Lefebvre *et al.*, 1997) et parfois dans des estuaires (Iriarte et Purdie, 1994). Les concentrations en picoeucaryotes du Bassin d'Arcachon se situent à des niveaux comparables à ceux observés en mer Méditerranée et dans les océans Atlantique et Pacifique, dans des eaux mésotrophes (richesse moyenne en sels nutritifs) (Tableau 7).

Dans les lagunes méditerranéennes de Kalloni (Grèce) et de Thau, les picoeucaryotes sont très nettement dominants puisqu'ils représentent, en effectifs, environ 90 % du phytoplancton quantifié en cytométrie. A l'extérieur de l'étang de Thau, le pourcentage diminue mais reste cependant élevé (41 %). Dans le Bassin d'Arcachon, ce rapport est beaucoup plus faible (voisin de 7 %). Il indiquerait le caractère relativement peu confiné du Bassin malgré un renouvellement certainement limité des eaux de l'intérieur de la Baie.

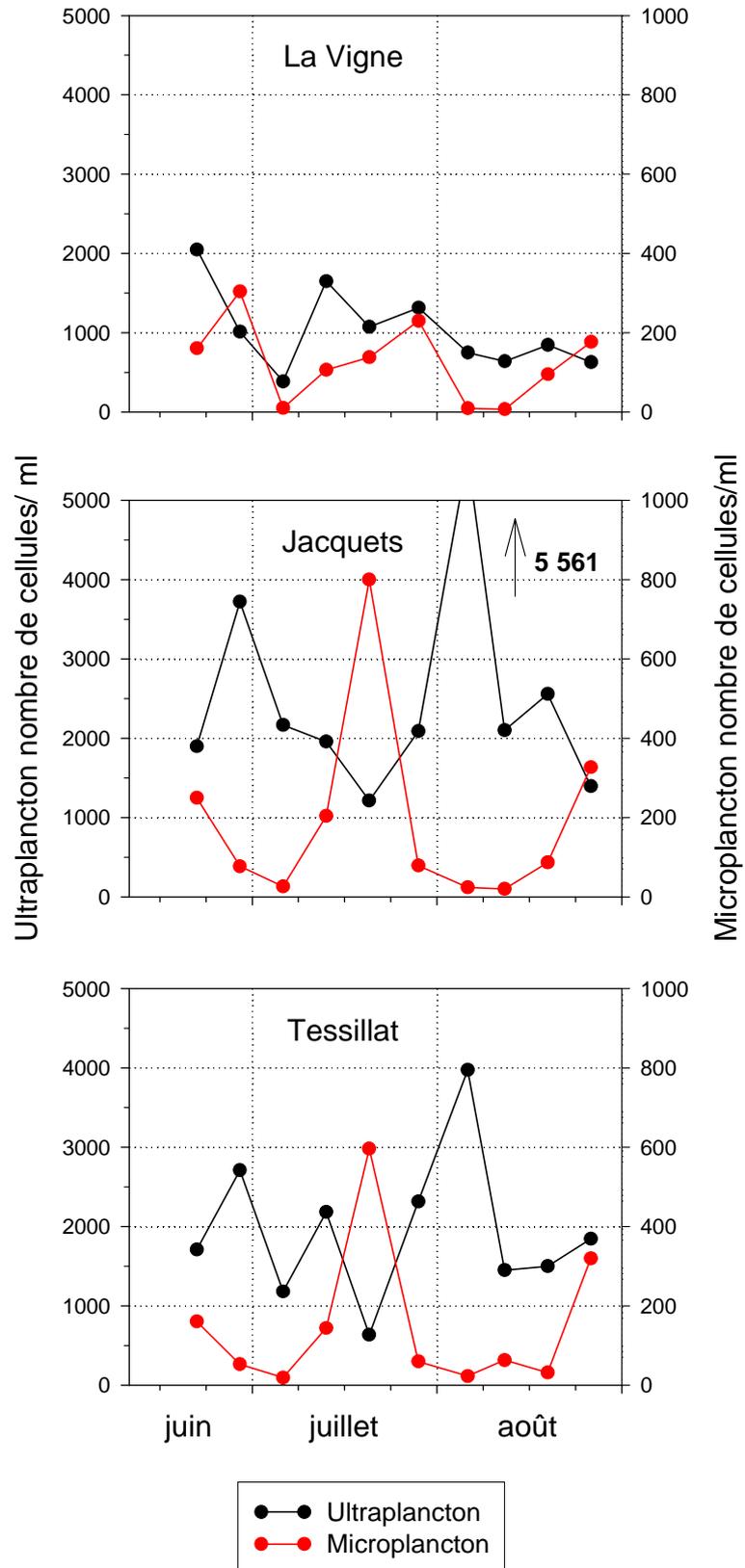
En conclusion, pendant l'été 1999, le Bassin était riche en picoplancton aussi bien procaryotes qu'eucaryotes, avec une dominance des premiers qui reflète le caractère marin de la Baie. Il faut souligner aussi l'importance des formes ultraplantoniques, en quantité voisine de celles des picoeucaryotes, mais dont la biomasse est bien supérieure puisqu'elle représente en moyenne de 60 à 80 %, selon les stations, de la biomasse cytométrique totale.

### **3.3. Microscopie optique**

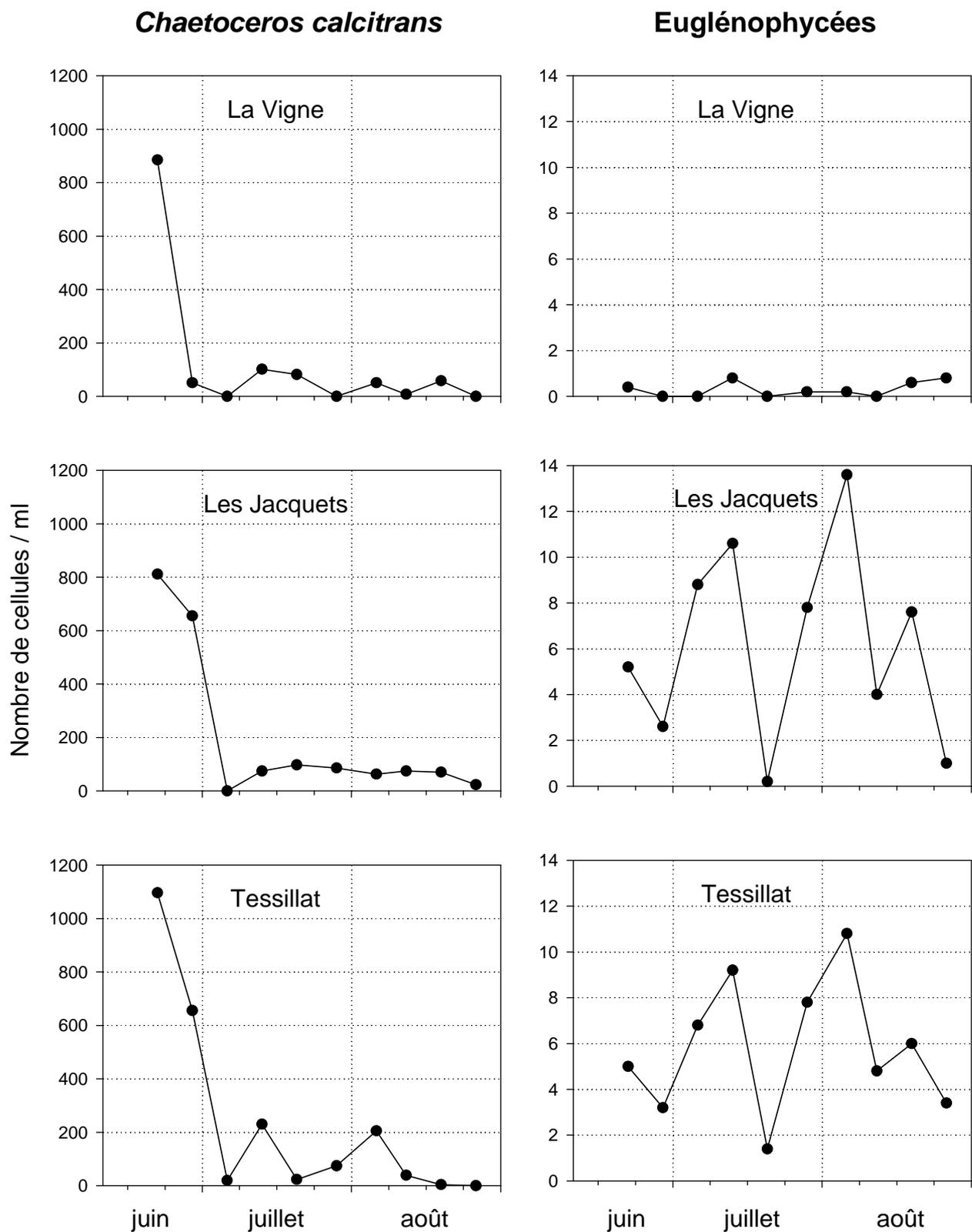
Les résultats que nous présentons seront commentés en se référant à ceux de Guillocheau (1988), qui a effectué une étude de l'ultra et microphytoplancton du Bassin d'Arcachon au cours des années 1984 à 1986, et à ceux de Masson-Neaud (1998) obtenus dans le cadre du Réseau de surveillance du Phytoplancton d'IFREMER (REPHY), mis en place sur le Bassin depuis 1987.

#### **3.3.1. Aspect quantitatif**

L'ultraplancton est environ 10 fois plus abondant que le microplancton. La station Les Jacquets est la plus riche pour les deux catégories, La Vigne la plus pauvre tandis que Tessillat est intermédiaire (Tableau 8).



**Figure 19** : Evolution des effectifs ultra et microplanctoniques au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.



**Figure 20** : Evolution de l'abondance de *Chaetoceros calcitrans* et des Euglénophycées au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

	Station	Moyenne	Minimum	Maximum
Ultraplancton	La Vigne	1 000	400	2 000
	Les Jacquets	2 500	1 200	5 600
	Tessillat	1 900	600	4 000
Microplancton	La Vigne	120	7	300
	Les Jacquets	190	20	800
	Tessillat	150	19	600

**Tableau 8 :** Abondances planctoniques (cellules/ml) au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

L'évolution de l'ultraplancton est assez erratique avec un pic très important, commun aux Jacquets et à Tessillat, début août, et un minimum le 19 juillet (Figure 19). Ces points remarquables ne s'observent pas à La Vigne où les variations sont moins amples et asynchrones par rapport à ces deux stations.

En ce qui concerne le microplancton, les deux stations internes montrent une évolution similaire avec trois pics d'inégale importance le 21 juin, le 19 juillet et le 24 août, le plus important étant celui du 19 juillet. A La Vigne, l'échelle de variations est moindre. Deux valeurs plus fortes apparaissent une semaine après les maximums des deux autres stations en juin et en juillet. Le 24 août, un troisième maximum des concentrations se manifeste à la même date qu'aux Jacquets et au Tessillat.

### 3.3.2. Aspect qualitatif

#### 3.3.2.1. L'ultraplancton

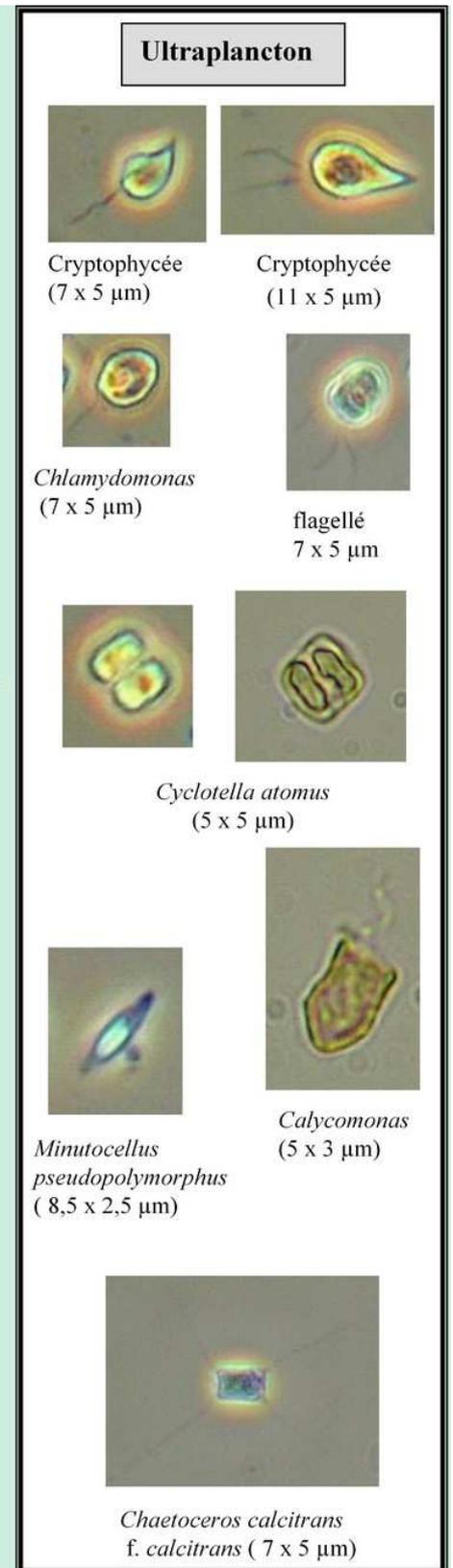
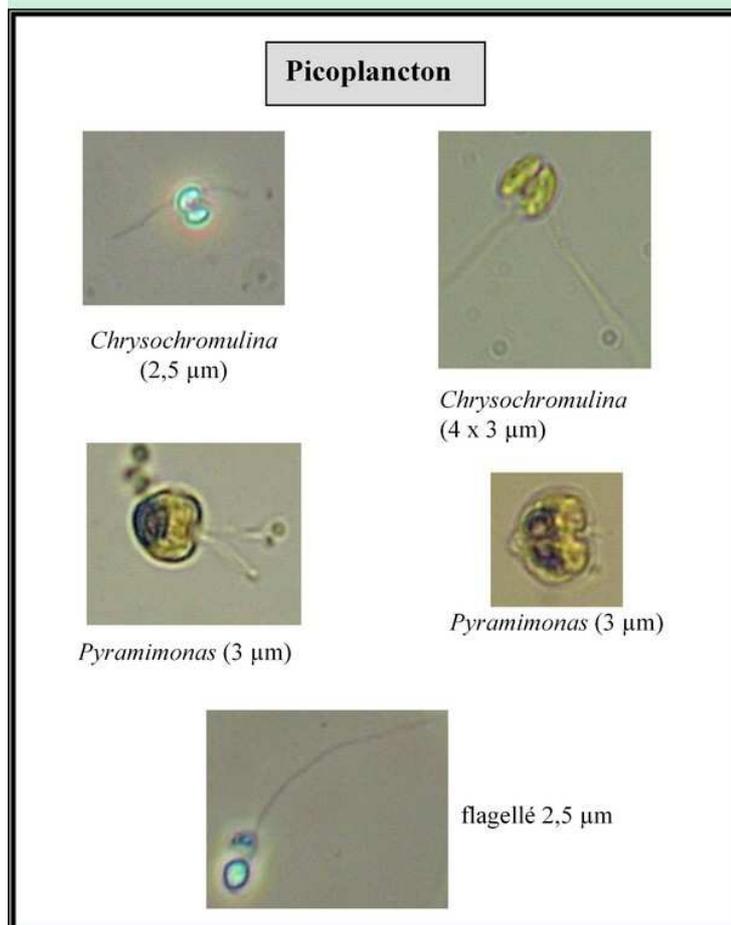
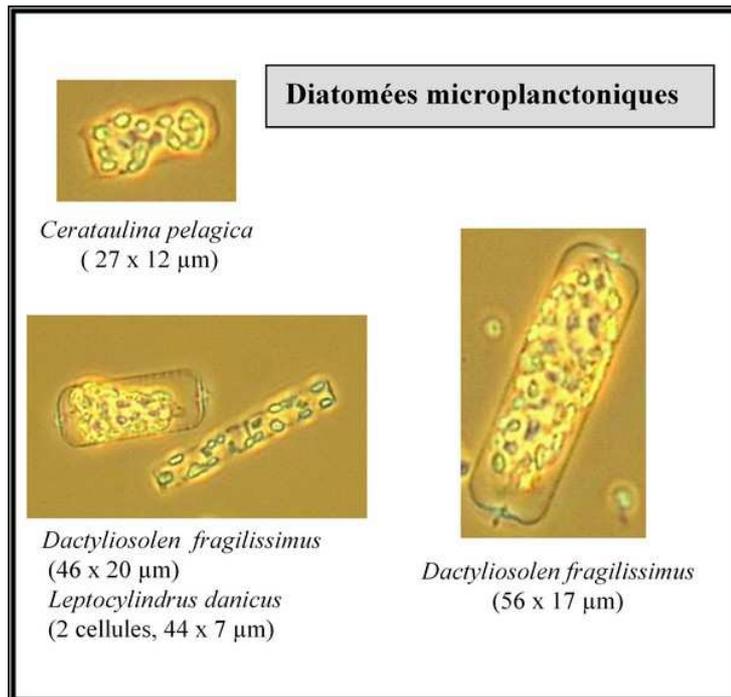
L'observation de l'ultraplancton en microscopie optique permet de distinguer certaines formes.

Ainsi la classe des Diatomées et certains genres de cette classe sont très reconnaissables. Tout d'abord, deux formes de petits *Chaetoceros* en cellules isolées (chez la plupart des espèces de ce genre, les cellules sont en chaîne), l'une avec des soies relativement courtes, l'autre avec des soies plus longues, ont été très bien repérées. Leur taille est de 6-8 x 2,6-5 µm. Ces petits *Chaetoceros* sont très abondants dans les trois stations au début des prélèvements, le 21 juin (de 900 à 1 100 cellules/ml) (Figure 20). Ils se maintiennent aux Jacquets et au Tessillat (environ 600 cellules/ml) le 28 juin tandis que leur nombre chute fortement à La Vigne (100 cellules/ml). Ils sont présents par la suite tout l'été avec des fluctuations, les effectifs variant de quelques dizaines à 200 cellules/ml. Ils sont identifiés en microscopie électronique à balayage (MEB) comme deux formes de *Chaetoceros calcitrans*, f. *pumilus* et f. *calcitrans* (cf. 3.4.).

De très petites Diatomées centriques isolées, de diamètre variant de 2-3 µm à une dizaine de µm, ont été répertoriées. Elles constituent une part importante de l'ultraplancton avec des effectifs variant de 30 à 2 000 cellules/ml. Elles sont vraisemblablement constituées de différents genres et espèces incluant *Cyclotella* et *Thalassiosira*, cités par Guillocheau (1988).

Les petites Diatomées pennées apparaissent moins diversifiées. Une seulement a été repérée dans les trois stations tout au long de l'été, en quantités relativement importantes bien que très fluctuantes (de 8 à 750 cellules/ml). Ses dimensions sont d'environ 8x2 µm. D'après les observations en MEB, il s'agit de *Minutocellus pseudopolymorphus*.

Les Diatomées représentent en moyenne de 24 à 40 % de l'ultraplancton selon les stations (tableau 9).



Espèces phytoplanctoniques observées au microscope photonique inversé  
(échantillons fixés au Lugol) - (Photos N. Masson)

	Diatomées		Flagellés	
	Effectifs	%	Effectifs	%
<b>La Vigne</b>	260	24	770	76
<b>Les Jacquets</b>	1 070	40	1 400	60
<b>Tessillat</b>	800	39	1 150	61

**Tableau 9** : Abondances totale (en cellules/ml) et relative (%) des Diatomées et des flagellés ultraplantoniques au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

Parmi les flagellés, de nombreuses formes différentes, déjà citées par Guillocheau (1988), ont pu être identifiées ce qui montre l'extrême diversité de cette flore. Les principaux genres reconnus sont, parmi les Chlorophycées : *Chlamydomonas*, parmi les Chrysophycées : *Calycomonas*, parmi les Cryptophycées : *Hillea*, *Plagioselmis*, parmi les Prasinophycées : *Pyramimonas*, *Tetraselmis*, parmi les Prymnesiophycées : *Chrysochromulina*, et parmi les Dinoflagellés : *Gymnodinium*. Cependant, de très nombreuses petites cellules flagellées non déterminables, d'une taille de 2 ou 3  $\mu\text{m}$ , constituent une part très importante de ce phytoplancton. C'est pourquoi tous les organismes flagellés ont été dénombrés ensemble, exceptées les Cryptophycées qui ont fait l'objet d'un comptage particulier car facilité par la forme très caractéristique de leurs cellules. Les flagellés représentent en moyenne 60 à 76 % de l'ultraplanton selon les stations (Tableau 9).

Les Cryptophycées sont particulièrement abondantes aux Jacquets et en quantité équivalente dans les deux autres stations (Tableau 10). Leur évolution dans le temps est assez erratique et différente d'un site à l'autre. Guillocheau (1988) indique que les Cryptophycées montrent des pics d'abondance durant les mois d'été juillet et août où elles peuvent atteindre 260 à 430 cellules/ml. De même Masson-Neaud (comm. pers) les observe régulièrement l'été, dans des gammes de densités tout à fait comparables à celles que nous trouvons. Au Tès en 1998, elles ont atteint leurs maximums (de 200 à 350 cellules/ml) fin juillet et début août.

	Moyenne	Minimum	Maximum
<b>La Vigne</b>	100	8	290
<b>Les Jacquets</b>	220	16	580
<b>Tessillat</b>	110	20	210

**Tableau 10** : Abondances des Cryptophycées (cellules/ml) au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon

### 3.3.2.2. Le microplancton

Dans les deux stations internes, les trois pics observés sont dus à un développement de Diatomées : le premier (21 juin), de différentes espèces de *Chaetoceros* et de *Leptocylindrus danicus*, le second (19 juillet) de *Dactyliosolen fragilissimus*, *Cerataulina pelagica* et *Leptocylindrus danicus*, le troisième (24 août) de *Thalassionema nitzschioides* et *Rhizosolenia setigera*. Même si ces espèces sont aussi présentes à La Vigne, les espèces dominantes y sont souvent différentes en particulier lors des maximums observés : le premier est constitué de *L. danicus* mais surtout de *Pseudo-nitzschia* et aussi d'un Dinoflagellé *Gymnodinium chlorophorum*, le second, de *Chaetoceros spp*, ainsi que de *L.*

*danicus* et de *D. fragilissimus* comme dans les autres stations, enfin le troisième de *Nitzschia longissima* et *Cylindrotheca closterium*.

Dans l'ensemble, ce sont les Diatomées qui dominent la population microplanctonique tout au cours de cet été, représentant en moyenne plus de 70 % des effectifs.

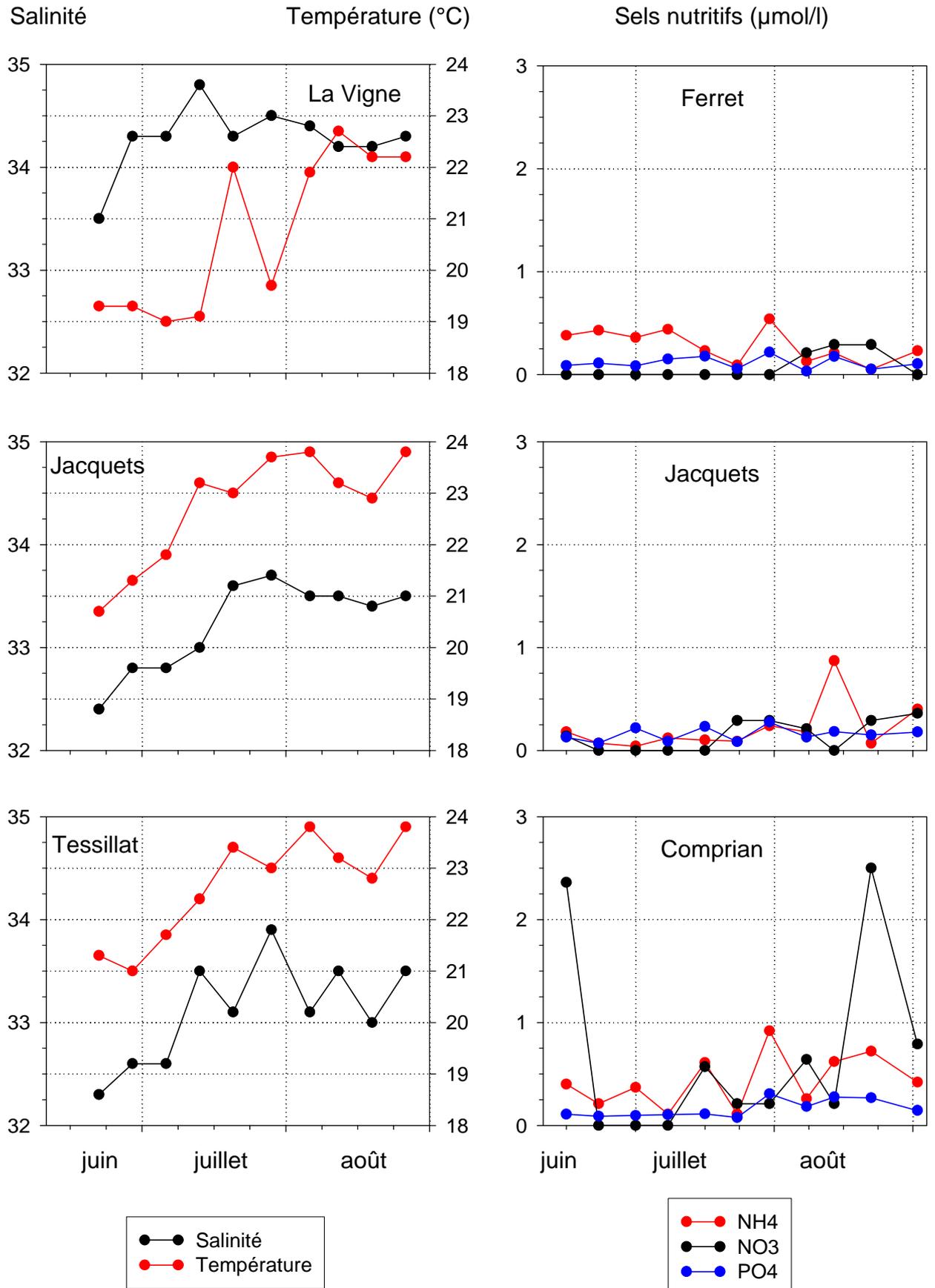
Une classe de flagellés, peu abondante mais caractéristique des eaux riches en matière organique, est présente tout au long des prélèvements dans les deux stations internes. Il s'agit des Euglénophycées avec une espèce du genre *Eutreptiella*. Ses effectifs varient de 0,2 à 13,4 cellules /ml, de façon tout à fait concomitante dans les deux sites (Figure 20). Le 4 août, elles constituent près de 50 % de la population microplanctonique, par ailleurs peu abondante à cette date. Guillocheau (1988) signale qu'il s'agit d'un genre présent toute l'année, n'atteignant jamais des concentrations très élevées (6 cellules/ml).

### 3.3.3. Discussion

Guillocheau (1988) a décrit le cycle annuel du phytoplancton dans le Bassin d'Arcachon. Il est caractérisé par deux floraisons microplanctoniques (printemps et automne) et une floraison ultraplanctonique se produisant l'été. Ces floraisons sont toujours dominées par des Diatomées. La succession des populations se fait donc entre différentes classes de taille plutôt qu'entre différents groupes taxonomiques (Diatomées et flagellés par exemple). Les deux classes de taille répondent à des conditions d'environnement différentes (Guillocheau et Dinet, 1988). Le développement des cellules microplanctoniques est favorisé par les fortes teneurs en sels nutritifs observées au printemps, associées à des températures modérées (< 17°C). Une limitation par les nitrates met fin à cette production. En revanche, les cellules de petite taille ont un caractère essentiellement estival du fait de la température élevée (> 20 °C), de la relative faiblesse en sels nutritifs et du rayonnement important, ces trois conditions leur convenant particulièrement. La salinité n'intervient pas dans ces préférences.

Les résultats que nous avons obtenus s'intègrent bien dans ce schéma pour l'ultraplancton. Les effectifs de cette classe de taille relevés par Guillocheau (1988) sont d'un ordre de grandeur voisin de celui que nous avons observé. Ils fluctuent entre 400 et 8 000 cellules/ml. Si nous n'observons pas une dominance marquée des Diatomées, c'est parce que nos pourcentages sont calculés sur les effectifs tandis que ceux de Guillocheau (1988) le sont sur la biomasse. La participation importante de cette classe à l'ultraplancton s'impose cependant de toute évidence.

En revanche, le microplancton estival semble assez peu abondant au cours des deux années étudiées par cet auteur (7 à 150 cellules/ml et un pic à 560 cellules/ml dominé par *L. danicus*). Les observations faites par Masson-Neaud sur plus de dix années (de 1987 à 1998) montrent que des développements de Diatomées microplanctoniques ne sont pas rares à cette saison. En 1999, les effectifs sont assez élevés lors des maximums. La floraison du 19 juillet (600 à 800 cellules/ml) est constituée principalement de *Leptocylindrus danicus* parfois abondant l'été et d'autres espèces apparaissant habituellement dans les floraisons printanières (*Cerataulina pelagica* et *Dactyliosolen fragilissimus*) (Guillocheau, 1988). Le déterminisme d'apparition de cette floraison n'est pas manifeste. En effet, les espèces sont plutôt de grande taille (bien qu'assez petites dans la catégorie microplancton), printanières donc *a priori* nécessitant des sels nutritifs en quantité assez élevée. Or, les relevés des pluies locales ou ceux du débit des rivières ne montrent pas d'augmentation particulière (donc un apport en nutriments), pas plus que les mesures de sels nutritifs effectuées dans le Bassin à cette date (Figure 21).



**Figure 21** : Evolution de la salinité, de la température, et des concentrations en nutriments au cours de l'été 1999 dans trois secteurs du Bassin d'Arcachon.

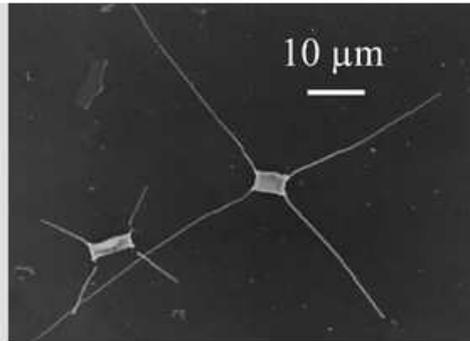
Une réponse se trouve peut être dans les vents plus forts des 13 et 14 juillet (en moyenne supérieurs à 7 m/s) qui, en provoquant un brassage des eaux, favoriseraient le développement de cellules de plus grande taille (Chisholm, 1992). Il est certain toutefois que ce bloom microplanctonique s'accompagne d'une faiblesse des effectifs ultraplanctoniques. Réciproquement, la floraison ultraplanctonique de début août correspond à des quantités très basses de microplancton. **Ces deux catégories apparaîtraient donc bien antagonistes, tout au moins lors de développements importants** (Figure 19).

La petite floraison de fin août, quant à elle, s'expliquerait assez bien par la série de pluies d'orage du début du mois qui a provoqué une augmentation des teneurs en nitrate dans l'ensemble du Bassin.

Au cours de l'été 1998, une floraison de Diatomées a été constatée tout au long du mois de juillet avec des effectifs allant de 600 à 850 cellules/ml. Les espèces principales en étaient *L. danicus* (230 cellules/ml) début juillet, puis simultanément *Chaetoceros spp.* (103 et 257 cellules/ml) et *Skeletonema costatum* (330 et 380 cellules/ml). Cette dernière espèce fait partie de l'ultraplancton du fait de la taille de ses cellules ( $4 \times 10 \mu\text{m}$ ) mais elle a souvent été dénombrée parmi le microplancton car elle forme des chaînes assez longues.

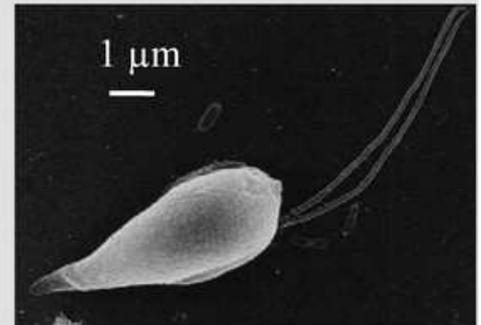
L'analyse qui vient d'être faite s'applique aux deux stations internes de la Baie. La station de La Vigne se distingue sur le plan du phytoplancton aussi bien quantitativement que qualitativement. Les caractéristiques physico-chimiques de ses eaux, plus salées et moins chaudes que celles des deux autres sites, montrent que cette zone est fortement sous influence océanique (Figure 21). Les paramètres température et salinité permettent d'identifier des masses d'eaux différentes mais ils ne détermineraient pas la distribution spatiale du phytoplancton. Malone (1971, in Guillocheau, 1988) explique les variations géographiques d'abondance du microplancton et du nanoplancton à la fois par le schéma de circulation des eaux et par l'équilibre qui peut exister entre la pression du grazing et le taux de production du phytoplancton. La structure physique du Bassin d'Arcachon induirait vraisemblablement dans les "hauts" de la Baie un moindre renouvellement des eaux, un hydrodynamisme moins intense et une tendance au confinement qui, par un phénomène de piégeage, contribueraient à accroître la biomasse dans ces zones (Guillocheau, 1988). Ajoutons qu'à l'inverse, les "bas", où se trouvent concentrés les parcs ostréicoles, pourraient être le siège d'un grazing par les huîtres plus intense que dans les secteurs internes du Bassin.

Le grazing exercé par le zooplancton (et en particulier les larves d'huîtres) ne doit pas non plus être négligé comme élément régulant les différents effectifs phytoplanctoniques. Ainsi, la chute des abondances nanoplanctoniques le 19 juillet peut aussi être rapprochée de la ponte massive des huîtres observées les 12 et 13 juillet.

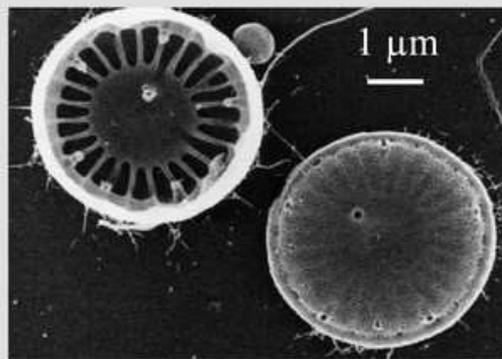


A droite, *Chaetoceros calcitrans* f. *calcitrans*  
(6 x 3,5 μm).

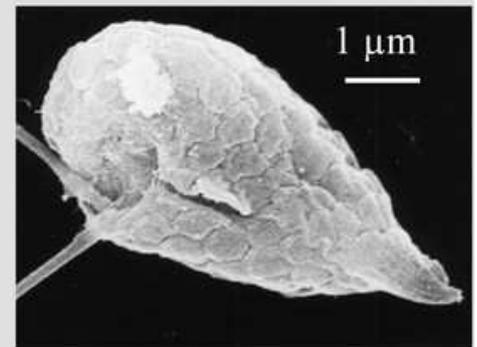
A gauche, *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus*  
(8 x 2,6 μm)



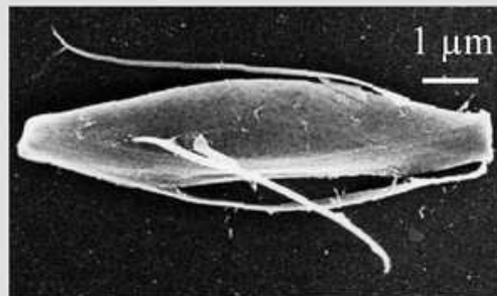
*Hillea fusiformis* (8,5 x 3 μm)



2 valves de *Cyclotella atomus* (diamètre 4 μm)  
A gauche, vue interne, à droite vue externe

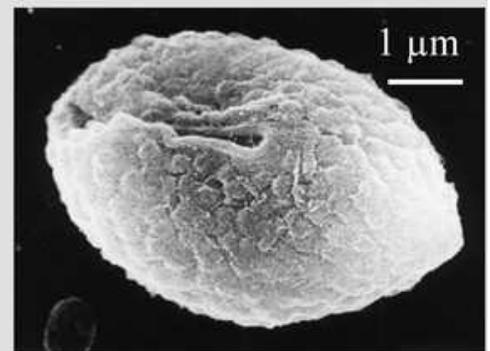


*Plagioselmis prolunga*  
(5,6 x 2,8 μm)



*Minutocellus pseudopolymorphus*  
(8 x 2 μm)

### Diatomées



Petite *Cryptophycées* non identifiée  
(5,5 x 3,5 μm)

### Cryptophycées

Espèces phytoplanctoniques observées en microscopie électronique à balayage  
(Photos M.J. Dinet)

### 3.4. Microscopie électronique à balayage

Les observations et les identifications en microscopie électronique à balayage ont été réalisées par M.J. Chrétiennot-Dinet (Laboratoire Arago Banyuls). Elles ont permis de déterminer de nombreuses formes du pico et de l'ultraplancton qui montrent la grande diversité des populations du Bassin d'Arcachon. Dinet et Guillocheau (1987) avaient déjà réalisé ce type de travail dans le Bassin d'Arcachon en 1985.

\* : espèces citées par Dinet et Guillocheau (1987)

#### Diatomées

*Chaetoceros calcitrans* f. *calcitrans* (5x4 µm)

*Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* (7x2,5 µm)

*Cyclotella atomus* \* (4-5 µm)

*Minidiscus trioculatus* \* (2,5-3 µm)

*Minutocellus pseudopolymorphus* (8,5x2 µm)

*Thalassiosira pseudonana* \* (6-7 µm)

*Thalassiosira delicatula* \* (23 µm)

D'autres *Cyclotella* d'un diamètre de 4 µm et diverses *Thalassiosira* de diamètre allant de 3,8 à 12,5 µm ont été aussi observées.

#### Flagellés

##### Chlorophycées :

*Chlamydomonas*

*Sphenochloris*

##### Cryptophycées :

*Plagioselmis prolonga* (5,5x2,5 µm)

*Hillea fusiformis* (8x3 µm)

##### Chrysophycées :

*Meringosphaera mediterranea* (8-10 µm)

*Calycomonas wulffii* (3-4 µm)

##### Prymésiophycées :

*Calyptrolithina wettsteinii*

*Chrysochromulina ephippium*

*Chrysochromulina eyei* ash

*Chrysochromulina vexillifera* (8 µm)

*Phaeocystis* (de 2,2 à 3,5 µm)

*Emiliania huxleyi* (6 µm) Cocolithophoride

*Syracosphaera halldalii* (11 µm) Cocolithophoride

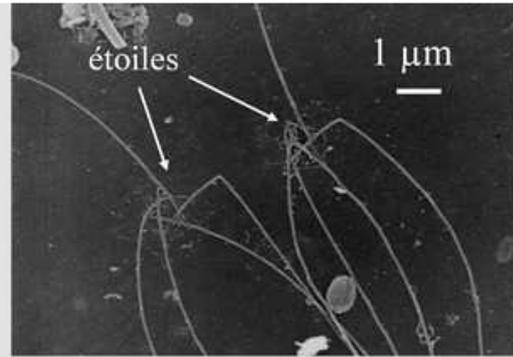
Nombreuses *Chrysochromulina* d'une taille allant de 1,6 à 5 µm.

##### Prasinophycées :

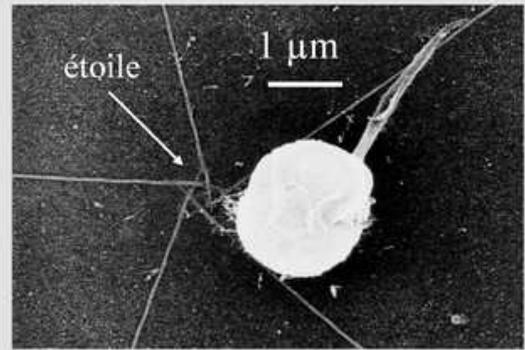
*Micromonas pusilla* (1,3-1,5 µm)

*Pseudoscurfieldia* (3x2 µm)

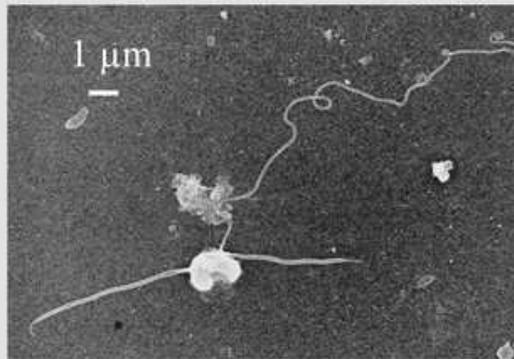
Les genres *Pyramimonas* (2,5-3-4 µm) et *Tetraselmis* sont également souvent repérés.



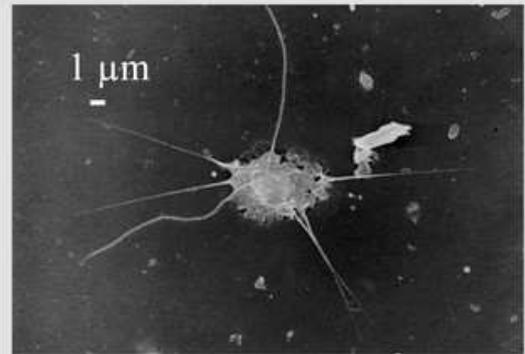
Etoiles de *Phaeocystis sp.*



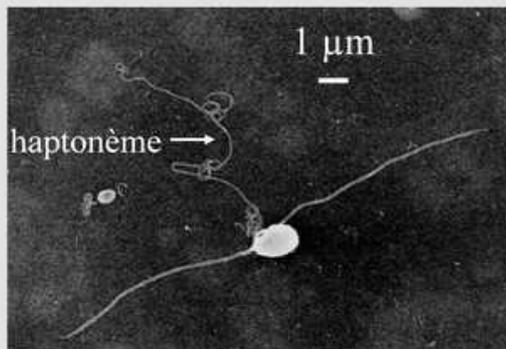
*Phaeocystis sp.* (2 µm) et son étile



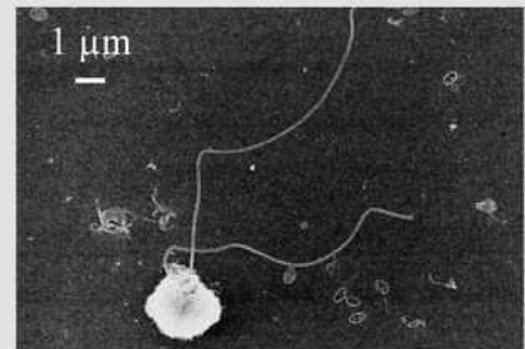
*Chrysochromulina sp.* (2 µm)



*Chrysochromulina vexillifera* "in toto" (8 µm)



*Chrysochromulina sp.* (3 µm)  
avec un long haptonème



*Chrysochromulina sp.* (4,5 µm)

### Prymnésiophycées

Espèces phytoplanctoniques observées en microscopie électronique à balayage  
(Photos M.J. Dinet)

Enfin un flagellé incolore *Telonema subtilis* (5 µm) ainsi que des nombreux flagellés (de 1,1 à 3 µm) et des cellules indéterminées (de 0,6 à 4 µm) ont été observés.

Ces déterminations nous permettent de compléter utilement les résultats obtenus en microscopie optique.

Ainsi, les petits *Chaetoceros* très abondants fin juin s'avèrent être deux formes de l'espèce *calcitrans*, f. *pumilus* et f. *calcitrans*. La forme *pumilus* est cultivée en éclosérie (Takano, 1968) et considérée comme de très bonne qualité nutritionnelle pour les larves de Bivalves. Les petites Diatomées centriques sont constituées d'un mélange de genres et d'espèces extrêmement variés. Il est intéressant de constater qu'un certain nombre de ces espèces sont les mêmes que celles identifiées par Dinet et Guillocheau (1987) près de 15 ans auparavant. Maurer *et al.* (1984) avaient aussi observé l'importance du genre *Cyclotella* pendant l'été 1982 dans le Bassin.

La variété dans les espèces et les formes de Cryptophycées est également une constante de l'ultraplankton estival de la Baie. Dinet et Guillocheau (1987) remarquent que cette classe n'est pas utilisée en éclosérie car on ne parvient pas à la cultiver mais que son rôle nutritionnel dans le milieu naturel pourrait être important.

Dans le picoplankton, si la composante procaryotique n'est composée que d'un genre, les picoeucaryotes possèdent eux une très grande diversité comme l'ont constaté Blanchot *et al.* (1998).

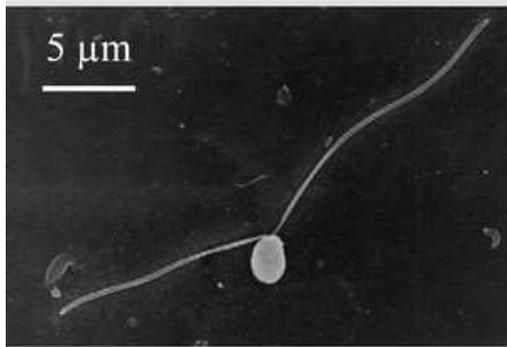
La variété dans la taille et les espèces qui se trouvent à la disposition des larves constitue *a priori* une condition favorable à la satisfaction de leurs besoins nutritionnels. La probabilité de la présence de souches de bonne qualité nutritive et la possibilité d'une alimentation plurispécifique répondent en effet aux exigences des larves de Bivalves, tout au moins telles qu'elles ont été définies expérimentalement.

## 4. Discussion

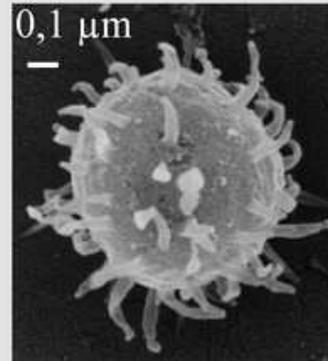
### 4.1. Année 1999

Douillet (1993a) a montré que les larves de *Crassostrea gigas* étaient capables de capturer et d'ingérer facilement des bactéries (< 1 µm). A toutes les concentrations testées par cet auteur (de  $10^5$  à  $10^7$  cellules/ml), le carbone bactérien était digéré et assimilé par les larves. Les larves D (longueur 100 µm), nourries avec des bactéries à raison de  $1,5 \cdot 10^7$  cellules/ml, peuvent ainsi combler jusqu'à 147 % de leurs besoins métaboliques en carbone par le carbone bactérien qu'elles ingèrent (Douillet, 1993b). Lorsque les larves grandissent, la contribution potentielle des bactéries au métabolisme diminue. Pour des larves de 283 µm de longueur, elle n'est plus que de 41 % de leurs besoins métaboliques en carbone. Les bactéries dans le Bassin d'Arcachon, avec des teneurs moyennes de  $2 \cdot 10^6$  cellules/ml, sont donc susceptibles de constituer une part de l'alimentation larvaire.

Gallager *et al.* (1994), par leurs travaux en éclosérie sur le Bivalve *Mercenaria mercenaria*, montrent que la croissance de larves nourries avec *Synechococcus*, en concentrations similaires à celles trouvées dans les eaux côtières ( $10^5$  cellules/ml), est possible bien que deux fois plus faible qu'avec une monoculture d'*Isochrysis galbana* à raison de  $10^4$  cellules/ml. En revanche, au dessus de  $8,6 \cdot 10^5$  *Synechococcus*/ml, une inhibition de la croissance et une atrophie de la glande digestive se manifestent.



*Pseudoscurfieldia marina* (3 x 2  $\mu\text{m}$ )

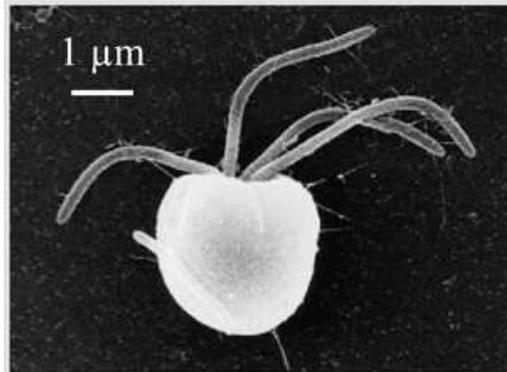


Petit eucaryote  
indéterminé (0,6  $\mu\text{m}$ )

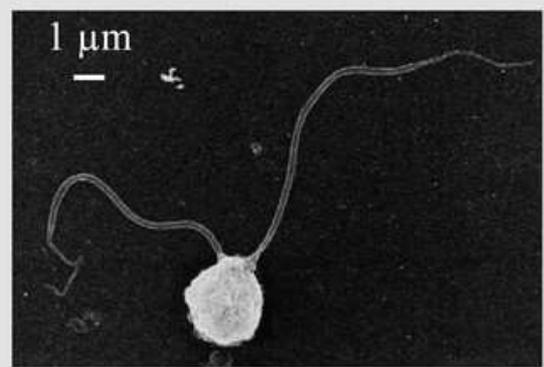


*Synechococcus sp.*  
en division (1  $\mu\text{m}$ )

**Cyanophycée**

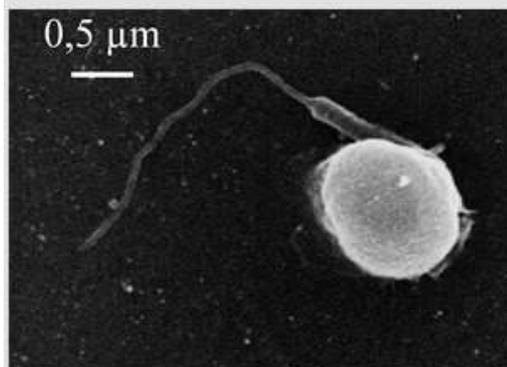


*Pyramimonas sp.* (3  $\mu\text{m}$ )



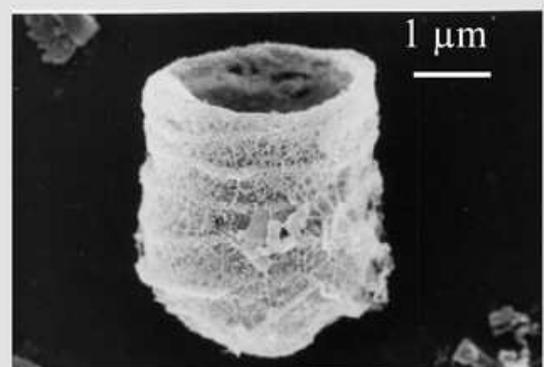
*Sphenochloris sp.* (2,8 x 2,4  $\mu\text{m}$ )

**Chlorophycée**



*Micromonas pusilla* (1  $\mu\text{m}$ )

**Prasinophycées**



*Calycomonas wulfii* (3,4  $\mu\text{m}$ )

**Chrysophycée**

Espèces phytoplanctoniques observées en microscopie électronique à balayage  
(Photos M.J. Dinét)

La croissance est meilleure avec  $5.10^4$  *Synechococcus*/ml lorsque que les quantités d'*I. galbana* sont limitées. Ces auteurs concluent que les larves peuvent exercer un grazing sur *Synechococcus* et en tirer un complément alimentaire bénéfique quand le nanoplancton est rare par ailleurs. La station La Vigne pourrait donc compenser sa relative pauvreté en pico et nanoeucaryotes par sa richesse en Cyanophycées de ce genre ( $10^5$  cellules/ml en moyenne).

La part respective de chaque source de nourriture (bactéries, Cyanophycées, pico et nanoplancton) dans le milieu naturel semble dépendre à la fois de la taille des larves et des caractéristiques de la biomasse nutritionnelle qui se trouve à leur disposition.

Raby *et al.* (1997) ont observé des contenus stomacaux de larves de Bivalves collectées dans le Golfe du St Laurent (Canada). Ces auteurs constatent que la sélection est différente selon les espèces de Bivalves et les tailles des végétaux dans chaque espèce. Dans tous les cas, les petites larves contiennent plus de cellules inférieures à 5  $\mu\text{m}$  que les larves plus grosses.

Baldwin et Newell (1995a), poursuivant des travaux antérieurs (Baldwin, 1991), ont étudié expérimentalement l'activité alimentaire de *Crassostrea virginica*, espèce très voisine de *C. gigas*, à partir d'assemblages naturels de plancton de la Baie de Chesapeake. Ces auteurs observent que les petites larves (110 à 125  $\mu\text{m}$ ) et les grandes (200 à 280  $\mu\text{m}$ ) ingèrent des particules entre 0,5 et 12  $\mu\text{m}$  (0,5  $\mu\text{m}$  étant la limite inférieure de la mesure). Une grande partie du volume de nourriture ingérée (20 à 90 %) est constituée de picoplancton (0,5 à 3  $\mu\text{m}$ ). Ce pourcentage est d'autant plus élevé que la larve est petite. Pour les deux classes de larves, 2 à 40 % du volume ingéré provient de particules dont la taille est comprise entre 3 et 5  $\mu\text{m}$  tandis que 5 à 20 % correspondent à des particules de 5 à 10  $\mu\text{m}$ . En présence de blooms de plus grandes cellules (Dinoflagellés de 10 à 30  $\mu\text{m}$ ), des larves de 110, 220 et 280  $\mu\text{m}$  augmentent la taille maximale ingérée respectivement jusqu'à 16, 20 et 30  $\mu\text{m}$ . Les cellules supérieures à 10  $\mu\text{m}$  peuvent alors représenter 20 à 30 % du volume ingéré. Les auteurs concluent que les larves exploitent la nourriture selon les caractéristiques des pics de biomasse présents dans l'estuaire et qu'elles semblent s'adapter aux variations qualitatives et quantitatives de cette biomasse.

D'autres expériences menées par Baldwin et Newell (1995b) suggèrent que l'ingestion des larves dans le milieu naturel est régulée par la quantité (volume total) et la qualité de la nourriture et non par la taille des particules ou leur abondance numérique.

His (1991) confirme l'importance des petites formes lors d'observations de contenus stomacaux de larves du Bassin d'Arcachon durant l'été 1985 (Tableau 11).

Taille des particules ingérées	Pourcentage en effectifs
< 2 $\mu\text{m}$	52 %
3 - 4 $\mu\text{m}$	36 %
5 - 6 $\mu\text{m}$	9,5 %
> 7 $\mu\text{m}$	2,5 %

**Tableau 11** : Pourcentages représentés par les différentes classes de taille de particules ingérées par des larves de *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon (His, 1991).

Toutes les références qui viennent d'être présentées indiquent que les multiples cellules dénombrées dans le Bassin, qu'elles soient bactériennes, procaryotes ou eucaryotes, sont susceptibles de servir à l'alimentation des larves d'huîtres.

Au cours de l'été 1999, les organismes de taille inférieure à 10  $\mu\text{m}$  (toutes variétés confondues) ont été abondants pendant la fin du mois de juin et pendant le mois d'août. La relative pauvreté en pico et nanoplancton de la station La Vigne pourrait être compensée en partie par les bactéries (en juin) et les *Synechococcus* (en août) qui y sont plus nombreux. Dans les deux autres stations, fin juin, *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* a pu fournir aux larves une nourriture abondante tandis qu'en août, les différentes formes de pico et ultraeucaryotes, qui se sont multipliées, ont pu y pourvoir.

Seul le mois de juillet a présenté une relative pauvreté en cette catégorie de cellules. Apparemment, les larves n'en auraient pas souffert compte tenu du succès de la reproduction observé cette année là. Les éléments suivants peuvent être avancés pour tenter de l'expliquer sans pour autant conclure.

- La pauvreté ultraplantonique résulterait du grazing effectué par les larves, en particulier la ponte massive des 12-13 juillet conduirait au minimum observé le 19 juillet.
- La pauvreté ne serait que relative, les niveaux restant suffisants pour alimenter les populations zooplanctoniques présentes, même nombreuses.
- Seules les larves les plus âgées n'auraient pas souffert. Ayant atteint une taille supérieure à 200  $\mu\text{m}$ , elles sont susceptibles de se nourrir d'organismes de dimensions plus grandes en particulier d'une des espèces microplanctoniques qui se sont développées à cette période. Il s'agit de *Cerataulina pelagica* qui n'est pas de très grande taille (25x7  $\mu\text{m}$  pour les plus petites cellules) et qui a été le plus souvent observée en cellules isolées<sup>5</sup>. Rappelons les travaux récents de Baldwin et Newell (1995a), cités ci-dessus, indiquant la possibilité d'une modification du comportement alimentaire des larves de *C. virginica* en réponse à la structure du peuplement dont elles se nourrissent, en particulier une augmentation de la taille maximale des particules ingérées jusqu'à 16, 20 et 30  $\mu\text{m}$  pour des larves de 110, 220 et 280  $\mu\text{m}$ .

## 4.2. Année 1998

### 4.2.1. Alimentation larvaire

Les résultats en chlorophylle *a* de l'été 1998 indiquent la présence d'une biomasse phytoplanctonique moyenne à élevée dans le Bassin pour cette saison. En l'absence d'observations plus précises, il est difficile de savoir si la biomasse présente était adaptée à l'alimentation des larves d'huîtres. Cependant quelques éléments peuvent être apportés.

Des développements de Diatomées se sont produits au cours de l'été. Il s'agit de résultats par genre qui ne permettent pas toujours de séparer les catégories ultra et microplancton et ainsi émettre des hypothèses basées sur l'antagonisme fréquent de leur développement.

Remarquons cependant que pendant le mois de juillet, une espèce ultraplantonique formant des chaînes de cellules souvent longues, *Skeletonema costatum*, a été très abondante. Lorsque les chaînes sont cassées (10 à 50  $\mu\text{m}$  de longueur), cette espèce constitue une très bonne nourriture, fréquemment utilisée en écloserie pour des larves de plus de 150  $\mu\text{m}$  (Sauriau et Baud, 1994). His et Robert (1987) signalent la présence de *Skeletonema sp* dans des contenus stomacaux de larves de *C. gigas*. En 1998, nous ne

---

<sup>5</sup> Guillocheau (1988) signale aussi la petitesse des cellules pour l'espèce lors de ses floraisons en 1985 dans le Bassin d'Arcachon (10x15  $\mu\text{m}$ ).

possédons pas d'informations permettant de savoir dans quelles proportions cette espèce a pu être ingérée.

Par ailleurs, le développement de la classe ultraplanctonique des Cryptophycées a été semblable à celui observé d'autres années en saison estivale. En particulier, ses pics d'abondance se sont produits fin juillet et début août, à la suite de la seconde ponte importante.

En conclusion, les éléments dont nous disposons (présence d'une biomasse phytoplanctonique élevée, développement de certaines espèces ultraplanctoniques) semblent indiquer que rien d'anormal ne se soit passé sur le plan algal. Nous ne pouvons cependant affirmer, sans observations spécifiques, que durant l'été 1998, les larves aient disposés d'une nourriture suffisante et adaptée à leurs besoins.

#### **4.2.2. Phytoplancton toxique**

His *et al.* (1999) rapportent des cas de mortalités de larves de Bivalves associées à des eaux rouges (développements importants de Dinoflagellés) de différentes espèces.

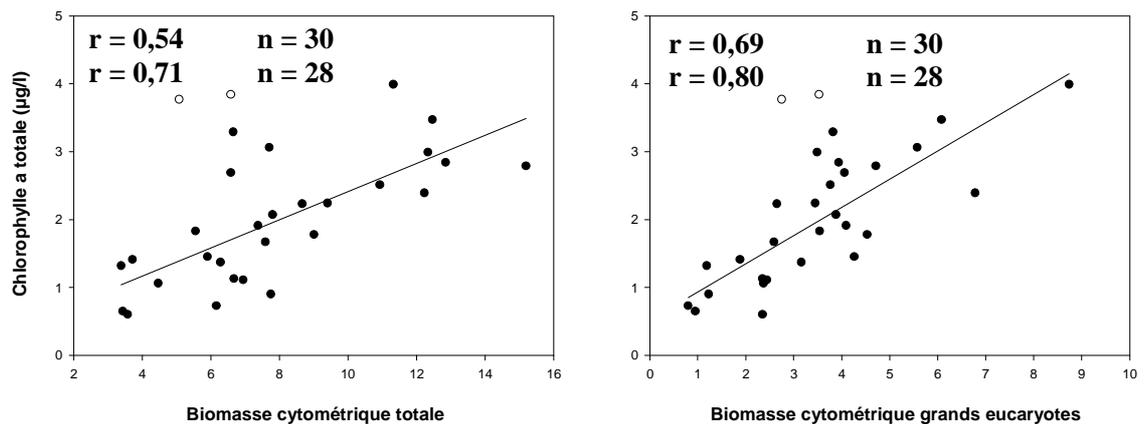
Au cours de l'été 1998, de tels phénomènes ne peuvent avoir été impliqués dans la disparition d'une grande partie des larves d'huîtres. En effet, le réseau de surveillance phytoplanctonique de l'IFREMER a pour but de suivre la présence des espèces toxiques. Aucune n'a été signalée dans le Bassin à cette période. De plus, des échantillons ont été envoyés à C. Billard (Université de Caen), spécialiste de ces questions. De la même façon, aucune espèce toxique n'a été identifiée.

#### **4.3. Méthodes d'investigation**

Les différentes méthodes d'investigation que nous avons déployées pour étudier la nourriture des larves dans le Bassin d'Arcachon se sont avérées très complémentaires les unes des autres.

Le dosage de la chlorophylle *a* totale et de sa fraction inférieure à 8 µm fournit une estimation globale de la biomasse végétale présente dans les eaux du Bassin. La cytométrie en flux permet d'apprécier les nombres et les biomasses des particules bactériennes et phytoplanctoniques les plus petites, susceptibles de servir de nourriture aux larves.

La relation linéaire entre la chlorophylle *a* totale et la biomasse cytométrique est assez bonne ( $r = 0,54$   $p < 0,005$ ) comme le montre la figure 22. Cette relation s'améliore nettement lorsque l'on écarte deux points correspondant aux stations Les Jacquets et Tessillat le 19 juillet. Le coefficient de corrélation est alors de 0,71. La relation est encore plus forte entre la biomasse cytométrique des grands eucaryotes et la chlorophylle *a* totale ( $r = 0,69$  avec les 30 points et  $r = 0,80$  lorsque l'on écarte les deux points déjà cités).



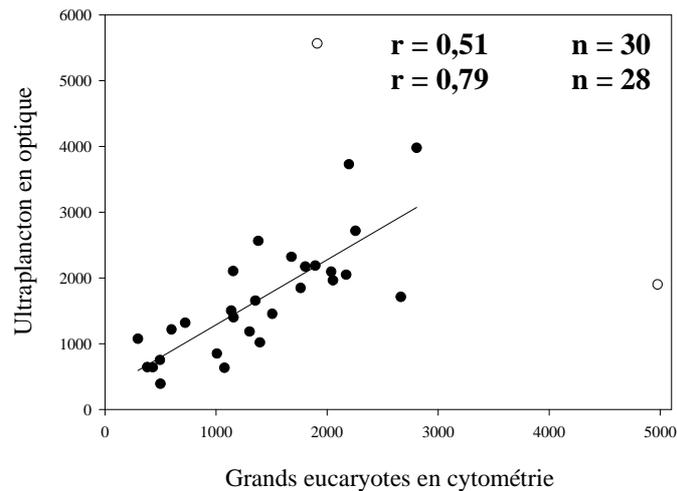
**Figure 22** : Relations linéaires entre les biomasses cytométriques et la chlorophylle *a* totale au cours de l'été 1999.

Il est intéressant de remarquer que les deux prélèvements écartés sont ceux présentant le bloom microplanctonique décrit précédemment. La cytométrie en flux travaille sur de très petits volumes où les grosses cellules (moins nombreuses) ont peu de chances de se trouver. C'est pourquoi, dans le cas de ces floraisons, la biomasse cytométrique peut être sous évaluée.

Les deux méthodes fournissent donc des informations importantes et complémentaires. Elles nécessitent un appareillage spécialisé et une compétence particulière mais sont ensuite assez aisées à mettre en œuvre et permettent d'analyser un nombre élevé d'échantillons. C'est pourquoi nous proposons de les poursuivre dans le cadre d'un suivi allégé de la reproduction s'il était mis en place dans les années à venir.

La comparaison des résultats fournis par le comptage en microscopie optique et par la cytométrie indique que l'ordre de grandeur de l'ultraplancton (microscopie optique) n'est équivalent qu'à celui des grands eucaryotes (cytométrie). Les petits eucaryotes (cytométrie) sont en effet trois fois plus nombreux. Par ailleurs, la seule corrélation linéaire significative est obtenue entre ces mêmes groupes, grands eucaryotes et ultraplancton ( $r = 0,51$   $p < 0,005$ ) (Figure 23). Ces résultats indiqueraient que la fenêtre de taille des "grands eucaryotes" est plus petite que celle habituellement considérée, comprise entre 10 et 20  $\mu\text{m}^6$ . Ajoutons que deux points sont très décalés. L'un correspond à la station Les Jacquets le 4 août (très forte concentration en ultraplancton), l'autre à cette même station le 21 juin (grands eucaryotes très nombreux). Si on les écarte, la corrélation se révèle encore plus forte ( $r = 0,79$   $p < 0,005$ ).

<sup>6</sup> Ce n'est cependant que par une filtration différentielle, préalable à l'analyse en cytométrie, que cette hypothèse pourrait être confirmée.



**Figure 23** : Relation linéaire entre les numérations des grands eucaryotes en cytométrie et les comptages d'ultraplancton en microscopie optique au cours de l'été 1999.

La bonne corrélation obtenue nous conduit à proposer de ne plus effectuer systématiquement les comptages en microscopie optique à l'avenir. En effet, les méthodes de microscopie, en plus de la compétence qu'elles requièrent, nécessitent un long travail avant l'obtention des résultats. Les échantillons pourraient être prélevés mais analysés partiellement selon l'information recherchée. Cette stratégie pourrait être aussi appliquée à la microscopie électronique.

## 5. Conclusion

La saison estivale dans le Bassin d'Arcachon est caractérisée par une grande richesse quantitative et qualitative en ultraplancton (organismes  $< 10 \mu\text{m}$ ) (Guillocheau, 1988). Les observations faites en 1999 confirment celles de Guillocheau (1988) et les complète. Le Bassin d'Arcachon présente en période estivale les caractéristiques d'une eau marine côtière compte tenu des composantes du plancton qui s'y développent et de leur richesse relative (Iriarte et Purdie, 1994) : dominance du picocaryote *Synechococcus*, importance qualitative et quantitative des picoeucaryotes, grande abondance et diversité de l'ultraplancton. Durant l'été 1999, ces composantes du plancton ainsi que les bactéries, toutes susceptibles de servir à l'alimentation larvaire, s'y sont bien développées. Les niveaux observés se situent dans des gammes apparemment suffisantes pour assurer la réussite complète de la vie larvaire. La variété des aliments disponibles (en particulier richesse spécifique importante du pico et de l'ultraplancton) semble aussi un très bon atout quant à la qualité de la nourriture. La très bonne réussite du captage lors de cet été 1999 le confirme sans équivoque.

En l'absence d'observations spécifiques au cours de l'été 1998, seules quelques réflexions peuvent être apportées.

- Les éléments dont nous disposons semblent indiquer que rien d'anormal ne se soit passé sur le plan microalgal. La biomasse phytoplanctonique a été plutôt élevée et les deux formes ultraplanctoniques qui ont été dénombrées se sont bien développées. L'une, l'espèce *Skeletonema costatum*, pourrait servir à l'alimentation des larves en milieu naturel. Nous n'avons pas d'éléments quant à l'autre. Nous ne savons pas si ces deux formes suffiraient à assurer le bon développement des véligères d'huîtres ni si

d'autres sources de nourriture ont été à la disposition des larves, même si rien ne permet d'affirmer le contraire.

- En revanche, il est certain qu'il n'y a pas eu de développement d'espèces phytoplanctoniques toxiques pouvant être incriminées dans les problèmes de survie larvaire.

Les connaissances sur l'alimentation larvaire en milieu naturel ne sont pas encore très développées. C'est pourquoi les observations que nous avons faites, ainsi que celles menées sur le Bassin depuis plusieurs années maintenant, constituent des références indispensables si l'on veut suivre et comprendre le recrutement des huîtres. Il faudrait poursuivre le recueil de données chaque année, sous forme allégée, afin de constituer les séries chronologiques qui sont indispensables à l'analyse de tout événement exceptionnel.



**Hypothèse 3 :**  
**"Pathologie larvaire"**

## Chapitre 5

### Recherche d'une pathologie larvaire

Parmi les hypothèses retenues pour expliquer la déficience du développement des larves d'huîtres en 1998, celle d'une atteinte pathologique a fait l'objet d'un examen particulier réalisé par le Laboratoire de Génétique et Pathologie (Station IFREMER de La Tremblade).

En effet, comme nous le verrons par la suite, on peut suspecter dans certains cas que les stades jeunes de *Crassostrea gigas* subissent des mortalités liées à la présence d'un agent viral de type herpès.

Néanmoins, parce que l'on considère qu'il s'agit d'un virus ubiquitaire, le virus de type herpès de l'huître n'est pas considéré comme un agent de maladie grave ni à déclaration obligatoire. Sa surveillance répond à une demande d'information sur une maladie virale. A cet égard, on peut rappeler que des mortalités massives sont associées à d'autres types de viroses. Par exemple, les populations de *Crassostrea angulata* ont été décimées par un virus d'une autre famille, les Iridoviridae.

Les techniques de mise en évidence de ce virus et les connaissances relatives à sa biologie se sont considérablement améliorées au cours de ces dernières années, permettant d'établir des diagnostics fiables d'infection. Quelques observations ont été réalisées en 1998 sur les larves d'Arcachon. En 1999, une analyse systématique des larves des différents secteurs du Bassin a été réalisée afin de détecter la présence éventuelle de ce virus dans ces populations.

#### 1. Introduction

Depuis le début des années 1990, de fortes mortalités sporadiques de larves d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* ont été observées, au cours de l'été, dans différentes écloséries françaises. Dans certains cas, des mortalités concomitantes sont apparues chez des larves d'*Ostrea edulis* (huîtres plates) élevées dans les mêmes installations.

Par ailleurs, à partir de 1993, des mortalités ont touché des lots de naissain d'huîtres creuses provenant d'écloserie ou de captage naturel. Pour le naissain, ces mortalités avaient la caractéristique de rester en taches, sans extension à l'ensemble d'un site. Ce phénomène s'est répété annuellement pour atteindre son maximum en 1994 et 1995 en affectant les principaux bassins ostréicoles.

La présence d'un virus de type herpès<sup>7</sup> a été ponctuellement détectée dans les lots de larves (*C. gigas* et *O. edulis*) et de naissain affectés par ces mortalités (Nicolas *et al.*, 1992, Renault *et al.*, a et b, 1994).

---

<sup>7</sup> La présence de virus de type herpès chez des espèces de mollusques marins posaient la question de leur parenté avec d'autres virus de la famille des *Herpesviridae* et tout particulièrement avec les herpesvirus humains. Les travaux génétiques de séquençage, grâce à la purification du virus, ont montré qu'il n'existait pas de relation étroite ou d'identité entre ce virus avec les herpesvirus déjà décrits, qui peuvent affecter les poissons, les mammifères, et parmi ceux-ci les êtres humains.

Il ne s'agissait pas du premier cas connu d'infection de mollusques par un virus de ce type. En effet, le premier virus de type herpès a été décrit en 1972 sur *Crassostrea virginica* (Farley *et al.*, 1972). Des virus de type herpès ont été aussi décrits sur des espèces d'huîtres exotiques comme *Ostrea angasi* (Hine et Thorne, 1997) et *Tiostrea chilensis* (Hine *et al.*, 1998).

La question se posait de savoir si le virus de type herpès des côtes françaises pouvait être responsable des mortalités observées. La mise en œuvre d'une série d'expériences a permis de répondre à ces questions.

Le pouvoir pathogène de ce virus a été démontré par reproduction expérimentale de mortalités chez des larves axéniques (Le Deuff *et al.*, 1994). De même, Renault *et al.* (1997) ont montré que du naissain mis en présence de larves vivantes porteuses du virus pouvait être infecté et que cette infection était associée à des mortalités significatives.

Si la pathogénécité potentielle de ce virus a pu être ainsi mise en évidence, la biologie particulière des *Herpesviridae* fait que la présence du virus dans les organismes n'occasionne pas obligatoirement une maladie chez les individus infectés. En effet, ces virus peuvent exister dans les cellules de l'hôte sous trois formes :

- une **forme latente**, dans laquelle l'ADN (acide désoxyribonucléique) viral est présent dans la cellule mais ne produit pas de particules virales (absence de symptômes et de mortalités) ;
- une **forme peu productive**, aboutissant à un nombre restreint de virions (induction non systématique d'infection clinique) ;
- une **forme aiguë**, dans laquelle la multiplication intense du virus aboutit à une maladie clinique.

Le virus ne rentre en phase de multiplication active que lorsqu'il rencontre des conditions favorables à son développement. Chez les larves d'écloserie, la température pourrait favoriser ce processus (Le Deuff *et al.*, 1996).

La purification du virus a été obtenue en 1995 (Le Deuff *et al.*, 1995, Le Deuff et Renault, 1999), ce qui a permis la mise au point d'outils de diagnostic en biologie moléculaire pour la détection de l'ADN viral. En effet, la technique histologique utilisée auparavant, qui n'autorisait qu'un diagnostic de suspicion, ne permettait pas d'étudier la présence du virus sur de grands échantillons d'animaux, compte tenu de nombreuses lourdeurs techniques.

## 2. Observations préalables réalisées sur les larves et les naissains du milieu naturel

Si l'ADN viral du virus de type herpès est régulièrement mis en évidence dans les phénomènes de mortalité larvaire en écloserie, peu d'analyses ont été réalisées jusqu'à présent dans le milieu naturel à ce stade de développement.

En 1994 et 1995, des larves issues de l'estuaire de la Seudre ont fait l'objet de recherche en microscopie électronique en vue de la détection de particules virales (T. Renault, com. pers.). Les résultats de l'époque étaient négatifs.

En août 1998, deux lots de larves du Bassin d'Arcachon ont été analysés par la méthode PCR décrite dans le paragraphe 3. Ces analyses n'ont pas permis de mettre en évidence l'ADN de ce virus.

Date pêche	Secteur	Filet	Commentaire	Analyses
28.06.99	Est	60 µm	Larves petites	PCR
29.06.99	Ouest	60 µm	Larves petites	PCR
06.07.99	Est	60 µm	Très peu de larves.	PCR
12.07.99	Ouest	60 µm	Beaucoup de larves petites de la ponte du 9 et 10.07.99	PCR – MET
13.07.99	Est	60 µm	Beaucoup de larves petites.	PCR
15.07.99	Ouest	60 µm 125 µm	Beaucoup de larves petites. Beaucoup de larves petites.	PCR – MET PCR
20.07.99	Ouest	60 µm 125 µm	Mélange de tailles de larves. Mélange de tailles de larves.	PCR PCR
22.07.99	Est	60 µm 125 µm	Beaucoup de larves petites et évoluées. Larves moyennes et grosses.	PCR PCR
23.07.99	Ouest	60 µm 125 µm	Peu de larves évoluées. Gastéropodes. Peu de larves moyennes.	PCR PCR
27.07.99	Ouest	60 µm 125 µm 125 µm	Beaucoup de larves à la limite petites et évoluées + larves d'autres Bivalves + débris. Larves moyennes et grosses + autre zooplancton. Larves évoluées.	PCR – MET PCR – MET PCR – MET
29.07.99	Ouest	125 µm 125 µm	Beaucoup de larves évoluées et surtout moyennes. Beaucoup de larves moyennes et surtout évoluées.	PCR – MET PCR – MET
04.08.99	Ouest	60µm 60 µm 125 µm 125 µm	Larves petites et évoluées Larves œillées mélangées avec du zooplancton Larves évoluées et moyennes Beaucoup de larves œillées	PCR PCR PCR – MET PCR – MET
06.08.99	Ouest	60 µm 60 µm 60 µm 125 µm 125 µm	Beaucoup de larves œillées Beaucoup de larves petites et évoluées Mélange de larves évoluées, moyennes et grosses Beaucoup de larves œillées + zooplancton Larves moyennes, grosses + zooplancton.	PCR – MET PCR PCR PCR – MET PCR
10.08.99	Ouest	125 µm	Larves évoluées et moyennes, gastéropodes, autres larves, zooplancton.	PCR
16.08.99	Est	125 µm	Quelques larves petites	PCR
17.08.99	Ouest	60 µm	Larves petites.	PCR
23.08.99	Est	125 µm	Larves évoluées presque moyennes, beaucoup de phytoplancton et de gastéropodes	PCR
30.08.99	Est	125 µm	Quelques larves œillées et beaucoup de gros gastéropodes	PCR

**Tableau 12** : Caractéristiques des échantillons de larves prélevés dans le Bassin d'Arcachon analysés en PCR et en microscopie électronique à transmission (MET) pendant l'été 1999.

En 1998, ce type d'analyse a été réalisé sur un certain nombre de lots de naissains prélevés dans le milieu et provenant à la fois d'écloserie et de zone de captage naturel, soit la Bretagne sud, la Charente Maritime et Arcachon (Thébault *et al.*, 1999).

Ces analyses ont révélé que l'ADN du virus de type herpès est présent sur les zones de captage naturel, aussi bien à Arcachon qu'en Charente Maritime (tableau 13).

Origine du lot de naissain	date	Résultats
Rivière Auray	juillet	1 lot à 1/6
Charente	juin	3 lots à 1/6
Charente	début juillet	8 lots à 1/6 3 lots à 2/6
Charente	fin juillet	4 lots à 1/6
Arcachon	avril	1 lot à 1/6 3 lots à 2/6 2 lots à 3/6
Arcachon	mai	1 lot à 4/6
Origine Arcachon mais après ré immersion en Baie de Quiberon	août	1 lot à 1/6
Ecloserie	mai	2 lots à 6/6
Ecloserie	juin	2 lots à 1/6
Ecloserie	juillet	1 lot à 1/6

**Tableau 13** : Infection par le virus de type herpès de lots de naissain de différentes origines en 1998 (Technique PCR).

Toutefois, ce tableau ne rend pas compte de la répartition géographique réelle de cette infection. D'une part, toutes les zones de captage naturel n'ont pas été échantillonnées. D'autre part, ces lots ont été analysés après leur achat et avant ré immersion dans une autre zone, c'est-à-dire qu'ils ne résultent pas d'un échantillonnage représentatif de ces zones de captage.

### 3. Analyses réalisées sur les populations larvaires du Bassin d'Arcachon en 1999

#### 3.1. Matériel et méthodes

##### 3.1.1. Prélèvements et préparation des échantillons

Au cours de chaque pêche de larves destinées au comptage (cf chapitre 2), un second jeu de filets était utilisé pour la récolte des échantillons destinés aux analyses de pathologie. Les récoltes d'un même secteur étaient rassemblées dans deux pots, correspondant aux deux mailles de filets utilisés (60 et 125  $\mu\text{m}$ ). Au laboratoire, les échantillons étaient tamisés sur différentes mailles (afin de tenter de séparer les différents stades larvaires) et soigneusement rincés avec de l'eau de mer filtrée à 0,22  $\mu\text{m}$  pour éliminer les particules fines.

Au total, 17 échantillons contenant suffisamment de larves ont été préparés pour le laboratoire de Génétique et Pathologie (tableau 12).

### 3.1.2. Techniques d'analyse

Deux techniques complémentaires ont été utilisées pour rechercher le virus de type herpès dans les larves d'huîtres : la PCR (3.1.2.1), dans laquelle on recherche l'ADN viral dans les échantillons et l'observation des particules virales elles-mêmes au microscope électronique à transmission (3.1.2.2.).

#### 3.1.2.1. La technique de détection par PCR (Polymérase Chain Reaction) de virus de type herpès sur larves et naissain d'huîtres

Le principe de cette technique consiste à réaliser une amplification enzymatique permettant une multiplication exponentielle des copies de l'ADN viral recherché dans l'échantillon testé de manière à le détecter plus facilement.

Cet ADN viral a préalablement été cloné (multiplié en utilisant des bactéries transformées) puis séquencé (décodage des séries d'éléments constitutifs de cet ADN). Des séquences cibles ont été choisies dans cet ADN viral, et des couples d'amorces (fragments de ces séquences) correspondant à ces séquences cibles ont été déterminés.

L'échantillon est alors mis en présence de ces amorces, et soumis aux différentes phases de l'amplification. On utilise un ou plusieurs cycles d'amplification (de 25 à 40 cycles). Un cycle d'amplification est défini comme la période au cours de laquelle la quantité d'ADN cible est multipliée par 2.

En 1997, les amorces utilisées étaient A3-A4, A5-6 et la réaction était une Nested PCR (deux réactions d'amplification successives) (Renault et Lipart, 1998).

En 1998 et 1999 les amorces utilisées sont différentes ; il s'agit d'OHV3-OHV4, et la réaction est une simple PCR (une seule réaction) (Renault et Lipart, 1998). Les animaux entiers sont analysés le plus souvent par pools d'un grand nombre de larves.

Après ces phases d'amplification, les produits de la réaction sont soumis à une électrophorèse (application d'un courant électrique sur un gel d'agarose où le produit a été déposé) et les bandes obtenues sur le gel sont comparées avec celles d'un témoin contenant de l'ADN viral à différentes concentrations et servant de **témoins positifs**.

Pour contrôler l'absence de contaminations, des **témoins négatifs** sont systématiquement ajoutés à chaque analyse.

Par ailleurs, dans la mesure où les échantillons récoltés dans le milieu ne peuvent être très purs en larves de *Crassostrea gigas*, il semblait judicieux de vérifier l'absence d'**inhibition** de la réaction par les autres organismes en présence. L'utilisation d'un standard interne mis au point par Renault *et al.* (1999), destiné à mettre en évidence ce type d'inhibition, permet d'accorder une plus grande confiance aux résultats négatifs et de contrôler en partie la validité de la préparation des échantillons.

Enfin, dans la mesure où les échantillons analysés ne contenaient pas que des larves de *C. gigas*, il fallait s'assurer qu'on disposait d'assez de matériel pour effectuer les analyses et que l'ADN de ces larves n'était pas affecté par la préparation. A cet effet, d'autres types d'amorces (Gaffney *et al.*, 1996), spécifiques de l'ADN de *Crassostrea gigas* ont également été testés sur les échantillons préparés pour la technique de détection de l'Herpès. Ces vérifications ont donné des résultats positifs ; en effet, on a retrouvé de l'ADN intègre de *C. gigas* dans les échantillons de larves préparées pour la PCR.

Le traitement des échantillons destinés à l'analyse en PCR consiste en une centrifugation (5 min, 3000 tours / min) puis à une congélation rapide après aspiration de l'eau surnageante.

Les analyses en PCR ont été réalisées sur l'ensemble des échantillons présentés dans le tableau 12.

### 3.1.2.2. *Analyse en microscopie électronique des échantillons de larves d'huîtres creuses*

Les larves ont été fixées à froid (8°C) au glutaraldéhyde 3% préparé en tampon cacodylate (0,2 M, pH 7,4 ; 1100 mosm), puis conservées dans ce fixateur au réfrigérateur. Les échantillons ont été ensuite décalcifiés après déshydratation. Pour cela, les larves sont déshydratées par des bains successifs d'éthanol (éthanol 70°, une fois 10 minutes ; éthanol 95°, deux fois 15 minutes ; éthanol absolu, trois fois 20 minutes), puis réhydratées partiellement par un bain de 10 minutes en tampon cacodylate. Cette déshydratation et cette réhydratation partielle des échantillons facilitent en effet la décalcification ultérieure. Les larves ainsi traitées sont placées dans un bain d'EDTA 5% (poids/volume) en tampon cacodylate pendant 15 à 20 heures à 4°C. Suite à ce traitement, l'EDTA est éliminé par deux bains successifs en tampon cacodylate de 10 minutes chacun.

Les échantillons sont déshydratés de nouveau suivant le protocole indiqué au paragraphe précédent. La déshydratation est achevée par deux bains de 15 minutes en oxyde de propylène. Ce solvant prépare également l'imprégnation ultérieure en résine Epon.

Les larves sont imprégnées progressivement en résine Epon. Un premier bain d'une heure est réalisé dans un mélange d'oxyde de propylène/Epon (volume/volume). Un second bain, d'une durée de une heure, est ensuite effectué en Epon seul. Les échantillons sont alors placés dans des microtubes Eppendorf remplis de résine Epon pure. Les larves sont concentrées au fond de ces tubes par simple sédimentation. Une étiquette, identifiant l'échantillon, est disposée dans chaque tube. Les tubes sont placés 48 heures à 60°C dans une étuve de manière à induire la polymérisation de la résine Epon.

Après l'étape de polymérisation, les blocs sont démoulés et servent à la confection de coupes semi-fines et de coupes ultra fines à l'aide d'un ultra microtome LKB.

Des coupes semi-fines d'une épaisseur de 1 µm sont réalisées et déposées sur lames histologiques. Elles sont colorées à chaud (100°C) par une solution de bleu de toluidine à 1% en solution de borate de sodium (1% poids/volume, pH 11). Après élimination de l'excès de colorant par rinçage à l'eau bidistillée, les lames sont séchées et montées entre lame et lamelle en présence de résine synthétique (Eukitt). Elles sont ensuite observées au microscope photonique pour rechercher d'éventuelles anomalies cellulaires pouvant être associées aux infections à virus de type herpès chez les larves d'huître.

Des coupes ultra fines de 80 à 100 nm d'épaisseur sont réalisées et déposées sur des grilles de cuivre. Après une étape de contraste par l'acétate d'uranyl et le citrate de plomb, les coupes sont observées au moyen d'un microscope électronique à transmission JEOL JEM 1200 EX sous une tension d'accélération de 80 kVolts.

Les examens en microscopie électronique ont été réalisés sur dix des échantillons de larves prélevés pendant l'été (Tableau 12). Par ailleurs, les quatre lots de larves obtenus en fin de la seconde expérience d'écotoxicologie (chapitre 7) ont également été analysés.

### 3.2. Résultats et interprétation

Tous les résultats des analyses de **PCR** sont négatifs.

Ces résultats peuvent être considérés comme de vrais négatifs dans la mesure où les résultats du contrôle interne ont montré l'absence d'inhibition sur tous les lots à concentration majoritaire de *Crassostrea gigas*.

Néanmoins, il n'est pas impossible que la non détection d'ADN du virus de type herpès dans les échantillons soit due à une charge virale trop faible pour être décelée par la technique (seuil de sensibilité).

L'absence de virus de type herpès dans les larves d'Arcachon est toutefois confirmée par l'ensemble des analyses réalisées en **microscopie électronique** à transmission sur les lots sélectionnés, qui n'ont pas permis de mettre en évidence des particules virales de type herpès dans les échantillons récoltés durant l'été 1999.

## 4. Conclusion

Les résultats obtenus lors de l'étude réalisée pendant l'été 1999 n'ont pas révélé la présence du virus herpès dans les populations de larves d'huîtres creuses du Bassin d'Arcachon. De même, les quelques lots de larves analysés en 1998 (PCR) ne semblaient pas porteurs de cette maladie.

Par contre, comme nous l'avons déjà souligné, ce virus a déjà été détecté dans certains lots de naissain arcachonnais au cours du printemps 1998. Ce virus est donc présent dans la Baie, ainsi que dans d'autres bassins ostréicoles et dans certaines écloseries françaises.

Quoique sa pathogénicité à l'égard des larves ait pu être établie expérimentalement, nous avons vu qu'en raison de sa biologie particulière, la présence de ce virus dans les populations d'huîtres n'occasionne pas obligatoirement le déclenchement de la maladie. Par exemple, en 1998, aucune mortalité importante de naissain n'a été observée dans le Bassin. D'un autre côté, le faible nombre d'analyses réalisées sur les larves en 1998 et la méconnaissance des facteurs influant sur le déclenchement de la multiplication active de ce virus (conditions peut-être favorables pendant l'été 1998) rendent difficile d'affirmer avec certitude qu'il n'a pas été impliqué dans les problèmes de survie larvaire de cette année-là.

Pour cette raison, il paraîtrait souhaitable de poursuivre le prélèvement et la fixation d'échantillons de larves lors de chaque saison de reproduction, afin de pouvoir déterminer, *a posteriori* et si ces problèmes se reproduisaient, si ce virus est associé à des mortalités larvaires dans le milieu naturel, comme cela a été évoqué en écloserie et démontré expérimentalement en laboratoire.

**Hypothèse 4 :**  
**"Contamination du milieu"**



## Avant-propos

La question d'une éventuelle contamination du milieu influant négativement sur le développement larvaire a été étudiée en utilisant deux démarches. L'une directe, consistant en la compilation et l'acquisition de données concernant les polluants dans l'eau du Bassin ; l'autre indirecte, consistant à vérifier si la qualité de cette eau permet le développement des stades larvaires de l'espèce cible de notre étude, *Crassostrea gigas*.

Pour cette raison, cette partie comprend 2 volets.

Le premier volet présente des données relatives aux **sources et aux niveaux de contamination des principaux polluants susceptibles être incriminés dans les problèmes du développement larvaire des huîtres du Bassin d'Arcachon.**

Le second volet est dédié aux études d'**écotoxicologie larvaire** réalisées pendant l'été 1999, en testant la qualité des différentes masses d'eau du Bassin.



## **Chapitre 6**

### **Sources et niveaux de contamination des principaux polluants pouvant être incriminés dans les problèmes du développement larvaire des huîtres du Bassin d'Arcachon**

#### **Introduction**

Lorsque l'hypothèse d'une pollution du milieu a été émise pour expliquer l'échec de la reproduction des huîtres en 1998, nous nous sommes interrogés à la fois sur les activités et les types de molécules susceptibles de générer une pollution pour la Baie.

Cette pollution devait être suffisamment nouvelle ou l'augmentation de son niveau suffisamment importante pour expliquer ce brutal effet négatif sur la reproduction des huîtres, après des années pendant lesquelles le captage avait été pléthorique.

A priori, les principaux types d'activités polluantes auquel est soumis le Bassin peuvent être listées de la sorte : activités culturelles sur le bassin versant (agriculture, sylviculture, entretien des espaces verts publics et privés), entretien des routes et des voies ferrées, lutte contre les insectes nuisibles hors agriculture (démoustication), activités nautiques directes ou associées à l'entretien des ports.

Certains des éléments ou molécules généré(e)s par ces activités étaient déjà étudiés dans le cadre de suivis réguliers (métaux lourds, dans le cadre du RNO) ou de travaux spécifiques (TBT, dans le cadre d'études d'impact, travaux réalisés par l'Université de Pau ou l'IFREMER). Si le niveau de concentration de certains de ces composés est présenté dans ce chapitre, nous n'avons pas particulièrement prospecté ces pistes-là puisqu'elles étaient abordées par ailleurs.

Par contre, il nous est apparu que la majorité de ces types d'activités polluantes font intervenir l'usage de pesticides et que, malgré la toxicité avérée de certains de ces composés pour la faune et la flore aquatique, leur niveau de concentration dans les eaux du Bassin n'avait jusque là fait l'objet d'aucune étude. Pour cette raison, nous avons jugé qu'il était temps de s'y intéresser, au moins au cours de la saison estivale pendant laquelle se développent les larves d'huîtres. L'étude de ces composés supposait d'effectuer des enquêtes préalables afin de déterminer lesquels étaient susceptibles de se trouver dans les eaux du Bassin pendant l'été puis d'y mesurer leur concentration.

Par ailleurs, nous nous sommes préoccupés des teneurs dans l'eau des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), molécules principalement d'origine pyrolytique, potentiellement toxiques pour les organismes aquatiques, parce qu'ils n'avaient jusque là fait l'objet d'aucune étude systématique. Les résultats de cette campagne de prélèvements sont rapportés en annexe 5.

Dans certains cas, nous avons pu comparer les niveaux de concentration (ou d'utilisation) actuels de ces polluants avec ce qui était observé pendant les années précédentes. Dans d'autres cas, nous avons dû nous contenter de mesurer leurs niveaux actuels et de nous

référer à la littérature concernant leur toxicité sur le milieu afin de déterminer si ces concentrations pouvaient être toxiques pour la faune et la flore du Bassin.

## 1. Généralités sur les pesticides

### 1.1. Définitions

Le terme de pesticide provient du nom anglais "pest" signifiant fléau. Les pesticides ou produits phytosanitaires, sont utilisés à trois fins principales : herbicide (lutte contre les végétaux), fongicide (lutte contre les champignons) et insecticide (lutte contre les insectes). Par ailleurs, d'autres substances sont destinées à supprimer des cibles très spécifiques notamment les acariens (acaricides), les rongeurs (rodenticides), les limaces et les escargots (molluscicides) et les nématodes (nématicides). En France, ces pesticides sont utilisés principalement (90 %) en agriculture.

Les pesticides sont des substances minérales (sulfate de cuivre par exemple) ou des molécules organiques de synthèse. Parmi ces dernières, on distingue les principales familles chimiques suivantes, classées par leur ordre d'invention par les chimistes :

- les organo-chlorés : insecticides
- les organo-phosphorés : insecticides
- les acides phénoxyalcanoïques : herbicides
- les urées substituées : herbicides
- les triazines : herbicides
- les carbamates : insecticides
- les benzimidazoles : fongicides
- les imidazoles : fongicides
- les triazoles : fongicides
- les pyréthrénoïdes : insecticides
- les sulfonylurées : herbicides

Dans le cadre de leur utilisation en agriculture, les produits phytosanitaires font l'objet d'une homologation. Au cours de cette procédure, la Commission des Toxiques évalue les risques opérateur, consommateur et écotoxicologique. Les études d'écotoxicité sont réalisées sur différentes espèces animales et végétales. En ce qui concerne le domaine aquatique, les études sont réalisées sur les daphnies (crustacés de petite taille) et sur plusieurs espèces d'algues et de poissons. Cette évaluation du risque aboutit à une classification toxicologique du produit et à des phrases de risque (R) et conseils de prudence (S) mentionnés sur l'étiquette.

D'après Tronczynski (1990), les herbicides étaient, en 1985, les substances les plus utilisées en France (36 000 tonnes) suivis par les fongicides (21 580 tonnes) et les insecticides (6260 tonnes). En Aquitaine, en 1988, cet ordre était similaire, les tonnages s'élevant respectivement à 864, 368 et 226 tonnes (Tronczynski, 1990).

Après leur application sur le milieu, les pesticides peuvent se dégrader lentement (on parle alors de produits rémanents) ou rapidement (produits non rémanents). Cette dégradation, c'est-à-dire l'élimination du composé en tant que molécule mère peut être le fait de facteurs abiotiques (lumière, pH, température, présence d'argiles ou de matière organique) ou biochimique (mise en jeu des enzymes contenues dans l'être vivant, végétal ou animal, qui les absorbe).

Toutefois, le risque que présente un pesticide pour le milieu n'est pas systématiquement fonction de sa vitesse de dégradation. En effet, selon les pesticides, les produits de dégradation issus des molécules mères peuvent être moins ou plus toxiques que celles-ci. Par ailleurs, ces produits de dégradation sont généralement plus polaires (plus hydrophiles) que les molécules mères et pourront, de ce fait, être plus facilement entraînés par l'eau (Lartiges, 1994).

Le risque présenté par les différents pesticides est apprécié selon un certain nombre de critères mettant en jeu leur aptitude à être transportés dans le milieu aquatique (solubilité), leur tendance à être accumulés par les organismes vivants et leur toxicité pour les êtres vivants. La compilation de ces critères permet d'effectuer différents classements de leur nocivité pour le milieu, selon les modalités décrites dans le paragraphe suivant.

## 1.2. Les critères de risque et les classements des matières actives

La rédaction de cette partie s'appuie sur une étude récente (MAZOYER, 1998), dans laquelle l'auteur a décrit les différents classements en vigueur et en a proposé un nouveau type adapté à l'impact des phytosanitaires en zone côtière conchylicole. Le classement proposé par cet auteur est volontairement simplifié dans le but d'aboutir à la constitution de listes de produits à rechercher dans ces zones côtières.

### 1.2.1. Les critères de risque des produits pour ce qui concerne la zone côtière

• *La solubilité -S- (g/l)*: C'est un indicateur de la tendance d'un produit à être entraîné par les eaux sous forme soluble. Mazoyer (1998) propose de définir trois classes pour cet indice :

- $S < 0,01$  : substance peu soluble
- $0,01 < S < 0,2$  : substance moyennement soluble
- $S > 0,2$  g/l : substance soluble

• *Le coefficient de partage carbone organique – eau -KOC- ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )* : Cet indice représente la capacité qu'a un produit à se fixer sur les particules organiques d'un sol. Il peut également être interprété comme la capacité de la matière active à être relarguée dans l'environnement aquatique. Mazoyer (1998) propose de définir deux classes pour cet indice :

- $\text{KOC} < 1000$  : produit se retrouvant facilement dans l'eau
- $\text{KOC} > 1000$  : produit ayant tendance à rester fixé sur le sédiment

• *Le coefficient de partage n-octanol – eau -log P ou log KOW-* : La valeur de log P caractérise la lipophilie de la substance, c'est-à-dire sa tendance à s'accumuler dans les membranes biologiques puis dans les cellules des êtres vivants (bioaccumulation).

Le GESAMP (Joint Group of Experts on Scientific Aspects of Marine Pollution, des Nations Unies) propose le classement suivant :

- $\log P < 1$  ou  $> 7$  : substance non bioaccumulable
- $1 < \log P < 2$  : potentialité très lente à la bioaccumulation
- $2 < \log P < 3$  : potentialité lente à la bioaccumulation
- $3 < \log P < 4$  : bioaccumulation légère ( $< 1$  mois)
- $4 < \log P < 5$  : substance bioaccumulable ( $> 1$  mois)
- $5 < \log P < 7$  : substance très bioaccumulable (plusieurs mois)

Mazoyer (1998) simplifie ce classement en :

- $\log P < 3$  : substance peu ou pas bioaccumulable
- $\log P > 3$  : substance bioaccumulable ou très bioaccumulable

• *La toxicité* : La toxicité aiguë d'une substance s'évalue en effectuant des tests de survie de mammifères ou d'organismes aquatiques à des concentrations croissantes de la substance étudiée. Les tests sont généralement conduits pendant 96 heures ; on calcule la concentration du produit (en mg/l) pour laquelle 50 % de la population testée est morte au bout de ce laps de temps. Pour les tests effectués chez les mammifères, on parle de DL50 (Dose Létale), et de LC50 (Concentration Létale) pour les organismes aquatiques.

La toxicité chronique d'une substance est évaluée à partir du NOEC (No Observable Effect Concentration : concentration à laquelle on n'observe pas d'effet de la substance).

En ce qui concerne les organismes aquatiques, le GESAMP propose les classements suivants pour le LC50 et le NOEC :

LC50 > 1000 mg/l	: substance non toxique
100 > LC50 > 1000 mg/l	: substance quasiment non toxique
10 > LC50 > 100 mg/l	: substance peu toxique
1 > LC50 > 10 mg/l	: substance modérément toxique
0,1 > LC50 > 1 mg/l	: substance assez toxique
0,01 > LC50 > 0,1 mg/l	: substance très toxique
LC50 < 0,01 mg/l	: substance extrêmement toxique

NOEC > 1 mg/l	: faible toxicité chronique
0,1 > NOEC > 1 mg/l	: toxicité chronique moyenne
0,01 > NOEC > 0,1 mg/l	: forte toxicité chronique
0,001 > NOEC > 0,01 mg/l	: très forte toxicité chronique
NOEC < 0,001 mg/l	: produit à toxicité chronique extrêmement forte

Pour le LC50, Mazoyer (1998) simplifie ainsi le classement :

LC50 < 1 mg/l	: substance toxique
LC50 > 1 mg/l	: substance peu ou pas toxique

• *Les effets insidieux* : Certaines substances ont des effets cancérigènes, tératogènes (malformation chez le fœtus), mutagènes (provoquant une altération du patrimoine génétique d'une espèce) ou oestro-mimétiques (se substituant à certaines hormones).

Dans son classement, Mazoyer (1998) fait intervenir la présence ou l'absence d'effet insidieux.

### 1.2.2. Les classements des produits selon le risque d'écotoxicité

• **MARPOL** : Ce classement relatif à la pollution marine est réalisé par le GESAMP. Il fait intervenir le KOW, le LC50, le DL50 et les effets insidieux.

• **SIRIS** (Système d'Intégration des Risques par Interaction des Scores) : Cette méthode de classement a été élaborée au niveau national par le Comité de liaison "eau-produits parasitaires". Différentes listes sont fournies par ce classement. Celle qui nous intéresse est la liste ESU Ecotox, prenant en compte la LC50, la solubilité, la bioaccumulation et les quantités épandues.

- "**VALERIE**" : C'est le classement proposé par Mazoyer (1998) comme étant particulièrement adapté à l'étude de l'impact des épandages de pesticides sur les bassins versants d'une zone côtière. Il prend en compte le KOC, le KOW, le LC50 et les effets insidieux.

Ces trois types de classements, appliqués aux listes de pesticides utilisés sur les bassins versants de la Baie, nous ont servi pour établir la liste des pesticides à analyser dans le cadre de cette étude.

*NB : Actuellement, les PNEC (Predicted Non Effect Concentration) et les PEC (Probable Environmental Concentration) sont utilisés pour quantifier les risques. Ces indicateurs n'ont pas été utilisés pour l'instant.*

## 2. Sources de contamination en pesticides dans le Bassin

### 2.1. Activités culturelles et démoustication

#### 2.1.1. L'agriculture sur les bassins versants du Bassin d'Arcachon

Une synthèse de l'évolution de l'agriculture (1970–1990) autour du Bassin d'Arcachon a été réalisée par LAPLANA *et al* (1993). Ce chapitre reprend les principaux résultats de cette étude.

Le bassin versant total affluent au Bassin d'Arcachon couvre une superficie de 4138 km<sup>2</sup> comprenant 1136 km<sup>2</sup> de bassins de type indirect, via les lacs (au nombre de 2) et 3000 km<sup>2</sup> de bassins de type direct, via les cours d'eau (au nombre de 18). Le bassin de l'Eyre représente à lui-seul 70 % de la surface des bassins de type direct.

Environ 95 % de cette superficie sont occupés par l'activité agro-sylvicole ; ce pourcentage a peu varié entre 1970 et 1990. Par contre, l'occupation du bassin versant s'est modifiée de façon significative (Tableau 14).

	1970	1990
<b>Forêt (ha)</b>	263000	251000 (≈ - 5 %)
<b>Agriculture totale (SAU en ha)</b>	22300	33900 (≈ + 52 %)
Agriculture traditionnelle (ha)	9200	6000
Céréales autres que maïs (%)	1	1
Maïs (%)	25	45
Cultures spéciales (%)	5	3
Fourrages (%)	69	51
Agriculture intensive (ha)	13000	27900
Céréales autres que maïs (%)	9	0,1
Maïs (%)	73	89
Cultures spéciales (%)	8	8
Fourrages (%)	10	3
<b>Maïs (ha)</b>	<b>11796</b>	<b>27573</b>
<b>% de la SAU</b>	<b>53 %</b>	<b>81 %</b>

**Tableau 14** : Occupation agricole et sylvicole des sols sur les bassins versants du Bassin d'Arcachon (SAU : Surface Agricole Utile).

En 20 ans, les superficies occupées par la forêt et par l'agriculture traditionnelle à dominante fourragère ont régressé au profit de l'agriculture intensive très largement dominée par la maïsiculture.

On peut tirer deux enseignements de ces chiffres.

Tout d'abord, en raison de la large prépondérance de la pratique de la maïsiculture, il semble adéquat, au moins en première approximation, de ne prendre en compte que les pesticides utilisés dans ce type de pratique agricole.

Par ailleurs, comme l'ont montré les travaux de Laplana *et al.* (1993) et Auby *et al.* (1994), cette évolution des pratiques culturales n'est pas anodine quant à leur impact sur le milieu, au moins en matière d'augmentation des teneurs en nitrate dans les cours d'eau. Il était donc bien justifié de s'intéresser également aux apports potentiels en pesticides au Bassin liés à cette intensification de l'agriculture sur les bassins versants.

### **2.1.2. La démoustication**

Autour du Bassin d'Arcachon, cinq espèces de moustiques culicidae sont largement dominantes. Il s'agit d'espèces du genre *Aedes*, parmi lesquels dominent les espèces halophiles (dont la larve se développe dans l'eau salée ou saumâtre). Chez ce genre, la ponte a lieu dans une zone asséchée. Lorsque le substrat est inondé (par la marée, par l'introduction d'eau dans un marais ou par les pluies), l'éclosion de l'œuf se produit. Elle est stimulée par la diminution de la teneur en oxygène dans l'environnement de l'œuf provoquée par cette submersion. Cinq à six jours seront alors nécessaires pour que la larve aquatique se transforme en nymphe. C'est pendant ce laps de temps que les techniciens de l'Entente Interdépartementale de Démoustication (EID) doivent traiter les gîtes afin d'éviter l'émergence des moustiques adultes.

Ces traitements sont réalisés par l'EID sur le Bassin depuis 1982 dans le nord Bassin et depuis 1986 dans le sud Bassin. Ils sont effectués mensuellement à partir du mois de janvier.

La molécule principalement utilisée par ces techniciens est le téméphos, répandu à raison de 50 à 100 g de matière active par hectare, par voie terrestre pour les sites accessibles, par voie aérienne pour les zones non accessibles. Cet insecticide agit par contact, en bloquant l'influx nerveux des larves (organophosphoré agissant sur un neuro transmetteur, l'acétylcholine). Dans de rares cas, les techniciens de l'EID utilisent également de la delthaméthrine.

Il paraissait évident de s'intéresser au devenir du téméphos et de la delthaméthrine dans les eaux de la Baie.

### **2.1.3. Méthodologie du choix des matières actives d'origine culturelle et de la démoustication à rechercher dans les eaux**

Il s'agissait de dresser la liste des matières actives épandues sur les bassins versants du Bassin et potentiellement dangereuses pour le milieu aquatique (flore et/ou faune).

La liste des pesticides d'origine agricole à rechercher a été constituée en plusieurs étapes.

- a) Le Service Régional de la Protection des Végétaux (SRPV) d'Aquitaine a constitué trois listes de matières actives :

- **Liste 1** : Matières actives utilisées pour la maïsiculture (source : liste des ventes réalisées par la Société Maisadour dans les Landes et le sud du département de la Gironde) ;
- **Liste 2** : Matières actives utilisées pour l'entretien des communes (source : Enquête réalisée auprès de 3 communes riveraines ou proches du Bassin d'Arcachon, Arcachon, Gujan-Mestras, Lacanau) ;
- **Liste 3** : Matières actives utilisées pour le traitement des forêts (source : Rapport ANTEA, 1995).

Grâce à la méthode SIRIS appliquée sur les deux premières listes, le SRPV a retenu treize matières actives :

<i>1-3 dichloropropène</i>	<i>Alachlore</i>
<i>Aldicarbe</i>	<i>Aminotriazole</i>
<i>Atrazine</i>	<i>Carbofuran</i>
<i>Chlormephos</i>	<i>Diméthénamid</i>
<i>Diuron</i>	<i>Lindane</i>
<i>Mancozèbe</i>	<i>Oxadiazon</i>
<i>Sulcotrione</i>	

En raison de la superficie importante occupée par la forêt sur le bassin versant du Bassin d'Arcachon, nous avons décidé d'adjoindre à cette première liste l'ensemble des matières actives utilisées dans cette activité

<i>Delthaméthrine</i>	<i>Glyphosate</i>
<i>Hexazinone</i>	<i>Triclopyr</i>

Enfin, nous avons également rajouté les matières actives utilisées par l'Entente Interdépartementale de Démoustication (EID) pour le traitement des larves de moustiques, notamment pendant la saison estivale.

<i>Téméphos</i>	<i>Delthaméthrine</i>
-----------------	-----------------------

Par ailleurs, le SRPV a fourni deux listes complémentaires, l'une correspondant à la maïsiculture (**Liste 4**), l'autre à l'entretien des communes (**Liste 5**), regroupant les matières actives épandues en grande quantité, dont l'un ou plusieurs critères physico-chimiques ne sont pas définis, ou bien ayant une écotoxicité relativement importante sans rang SIRIS.

- b) Dans un second temps, nous avons ajouté à notre liste les matières actives utilisées en maïsiculture (liste 1) et caractérisées dans le classement "VALERIE" comme présentant un danger important (classe 3) à très important (classe 4) pour le milieu aquatique et désignées par cet auteur comme "à surveiller".

<i>2-4 D sels</i>	<i>2-4 MCPA</i>
<i>Bromoxynil</i>	<i>Fluzilazole</i>
<i>Terbutylazine</i>	<i>Trifluraline</i>

- c) Dans un troisième temps, nous avons extrait des listes complémentaires (listes 4 et 5) fournies par le SRPV les matières actives affectées des indices 3 à 4 dans le classement VALERIE et/ou A dans le classement MARPOL

<i>Chlorpyrifos – éthyl</i>	<i>Folpel</i>
<i>Isopenphos</i>	<i>Linuron</i>
<i>Néburon</i>	<i>Phosalone</i>

- d) Enfin, cette liste a été complétée par l'équipe du laboratoire IFREMER spécialiste des pesticides (DEL/PC) qui nous a conseillé de rajouter quelques matières actives courantes et des formes de dégradation de deux des molécules déjà inscrites dans la liste (DEA et DIA pour l'atrazine, DET pour la terbuthylazine).

<i>DEA</i>	<i>DIA</i>
<i>DET</i>	<i>Cymoxanil</i>
<i>Imazamethabenz</i>	<i>Isoproturon</i>
<i>Métolachlor</i>	<i>Simazine</i>
<i>Tébutame</i>	

La liste complète des matières actives d'origine agricole étudiées se compose ainsi.

<b>Matière active</b>	<b>Propriété</b>
1-3 dichloropropène	Nématicide
2-4 D sels	Herbicide
2-4 MCPA	Herbicide
Alachlore	Herbicide
Aldicarbe	Nématicide - Insecticide
Aminotriazole	Herbicide
Atrazine	Herbicide
Bromoxynil	Herbicide
Carbofuran	Insecticide
Chlormephos	Insecticide
Chlorpyrifos – éthyl	Insecticide
Cymoxanil	Fongicide
DEA	Produit de dégradation
Delthaméthrine	Insecticide
DET	Produit de dégradation
DIA	Produit de dégradation
Diméthénamid	Herbicide
Diuron	Herbicide
Fluzilazole	Fongicide
Folpel	Fongicide
Glyphosate	Herbicide
Hexazinone	Herbicide
Imazamethabenz	Herbicide
Isopenphos	Nématicide - Insecticide
Isoproturon	Herbicide
Lindane	Insecticide
Linuron	Herbicide
Mancozèbe	Fongicide
Métolachlor	Herbicide
Néburon	Herbicide
Oxadiazon	Herbicide
Phosalone	Insecticide
Simazine	Herbicide
Sulcotrione	Herbicide
Tébutame	Herbicide
Téméphos	Insecticide
Terbuthylazine	Herbicide
Triclopyr	Herbicide
Trifluraline	Herbicide

## 2.2. Le nautisme

### 2.2.1. Introduction

On distingue trois origines principales de pollution dues aux navires et à leur moteur.

- Le rejet de polluants organiques et bactériens par suite de l'habitation des bateaux, phénomène temporaire lié à la saison touristique.

- Le rejet d'hydrocarbure, d'oxyde d'azote, de plomb, particules liées au fonctionnement des moteurs marins, phénomène également temporaire.
- La dissolution des anodes de protection et des peintures antisalissure. Ce phénomène est permanent tant que le navire est à flot.

Au cours de cette étude, nous avons abordé le problème des **hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)**, potentiellement toxiques pour les organismes vivants. Les résultats et l'interprétation des niveaux de concentration de ces polluants dans le Bassin sont consignés dans l'annexe 5. Les conclusions sont que les teneurs en HAP mesurées au mois d'août 1999 dans les eaux du Bassin sont basses et caractéristiques d'eaux marines faiblement contaminées. On ne dispose pas de renseignements concernant la toxicité de ces concentrations vis à vis du phytoplancton mais il apparaît qu'elles sont inoffensives pour le développement larvaire des huîtres creuses.

Nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux **peintures antisalissure**. En effet, le souvenir de la crise récente du TBT (tributylétain contenu dans les peintures antisalissure utilisées dans les années 1970-80) et de son impact catastrophique sur l'ostréiculture arcachonnaise reste vivant dans toutes les mémoires. De ce fait, il semblait fondamental de prendre en compte les substances contenues dans les peintures dans la liste des polluants ayant pu affecter le développement des larves en 1997.

Il s'agissait donc de faire le point sur les quantités et la qualité des peintures utilisées sur le Bassin d'Arcachon notamment afin de déterminer si une ou plusieurs nouvelles molécules avaient été introduites dans leur formulation entre 1997 (année de captage pléthorique) et 1998 (année de captage presque inexistant), et/ou si les quantités de produits employés avaient significativement augmenté entre ces deux années.

Avant d'aborder la méthodologie et les résultats de cette étude, quelques rappels sur le nautisme arcachonnais et les caractéristiques des peintures antisalissure nous ont semblé opportuns.

### **2.2.2. Le nautisme à Arcachon**

Traditionnellement le nautisme est l'activité de loisir dominante du Bassin, activité qui, depuis le XIX<sup>ème</sup> siècle, est intimement liée à l'essor même de la station balnéaire d'Arcachon (CASSOU-MOUNAT, 1975). Cette navigation de plaisance a pris son essor depuis les années 1960 et, au regard des immatriculations recensées par le quartier des Affaires Maritimes d'Arcachon, n'a cessé d'augmenter depuis cette époque.

Par ailleurs, la présence d'un certain nombre d'embarcations professionnelles sur le plan d'eau est liée aux activités de petite pêche et d'ostréiculture.

La pollution émise à la fois par les bateaux professionnels et la flottille plaisancière s'apprécie en fonction de la surface de la carène et de la durée de leur séjour à flot. L'appréciation de leur impact sur le milieu est donc mieux caractérisée par le nombre de bateaux simultanément à flot que par l'évaluation du nombre d'immatriculations enregistrées.

Le résultat de deux photo-comptages, réalisés à 20 ans de distance lors d'une période de pointe (mi-août), permet d'apprécier le nombre des bateaux simultanément à flot et leur évolution au cours du temps.

**En août 1974**, un dénombrement par photo-comptage des bateaux à flot a été effectué par le cabinet S.I.D.E.A-B.E.T.U.R.E. a donné les résultats suivants (Manaud, 1974).

Le total observé était de **9100** bateaux à flot dont 2250 bateaux professionnels et 6850 bateaux de plaisance. Le taux d'utilisation (nombre de bateaux utilisés/nombre de bateaux à flot) était alors de 25% (1700 bateaux navigants), contre 4500 bateaux sur les corps morts et 2900 bateaux sur les ports.

**En août 1995** (E.R.E.A., 1995), le total observé était de **12500** bateaux à flot, dont 11500 bateaux de plaisance et 1000 bateaux professionnels. Le taux d'utilisation atteignait alors seulement 16% en période de pointe (1987 bateaux en mouvement) contre 6224 bateaux sur les corps morts et 4324 bateaux sur les ports.

En 20 ans, le nombre de bateaux à flot au cours de la période de pointe a donc progressé de 37 % du fait de l'augmentation importante du nombre de bateaux de plaisance. On peut également remarquer que le nombre de bateaux circulants s'est peu élevé au cours du temps, au contraire du nombre de bateaux stationnés au corps-mort et dans les ports.

La pollution potentielle liée au relargage des produits utilisés dans les peintures antisalissure s'est donc accrue dans les mêmes proportions au cours du temps.

### **2.2.3. Les peintures antisalissure : généralités**

Les peintures marines antisalissure sont des revêtements de finition destinés à empêcher la fixation d'organismes vivants, animaux et végétaux, sur les carènes de bateaux et diverses structures ou équipements flottants : bouées, cages et filets d'aquaculture. Leur efficacité repose sur leur capacité à relarguer en permanence un ou des biocides autour de la structure peinte, permettant de maintenir autour de celle-ci une couche toxique pour les organismes.

Ces peintures sont employées pour des raisons de sécurité - comme le maintien de la manœuvrabilité du navire - et de lutte contre la corrosion et l'alourdissement des structures flottantes (LOUIS, 1998). Par ailleurs, le traitement des coques a une raison économique : en limitant la résistance à l'avancement due au "fouling", les peintures permettent de réduire la consommation en carburant.

#### **2.2.3.1. Composition chimique**

Les différentes formulations de peintures antisalissure disponibles sur le marché sont des mélanges complexes constitués de **biocides** incorporés dans un **liant**, auxquels sont additionnés un **solvant** qui facilite l'application et divers **adjuvants** assurant la cohésion et la pigmentation du film protecteur (Alzieu *et al.*, 1989).

- **Les liants** ont pour fonction principale d'assurer à la surface de la carène un film continu à partir duquel les biocides diffusent dans l'eau. Selon leur degré de solubilité dans l'eau, la concentration en biocides dans la couche d'eau située à proximité de la surface de la coque sera plus ou moins élevée, et l'épuisement du film de peinture plus ou moins rapide.

- **Les adjuvants** sont des solvants (tels que le xylène, le white spirit ou le naphta) qui sont incorporés aux peintures pour en faciliter l'application. Leur volatilité élevée permet un séchage rapide de la couche déposée et réduit à quelques heures le temps nécessaire à la remise à l'eau.

Oxydes de fer, zinc et titane sont également utilisés pour assurer la pigmentation des peintures et faciliter la diffusion de certains biocides.

De plus, des agents épaississants ou gélifiants peuvent être introduits dans les formulations afin d'en faciliter le conditionnement.

#### • Les biocides

Pour être efficaces, ils doivent avoir une action létale à large spectre pour de très faibles concentrations, et une solubilité convenable en eau de mer. De ce fait, ils sont peu nombreux :

- Le TBT présente l'avantage d'être efficace pour un taux de lixiviation<sup>8</sup> relativement faible (proche de  $1\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jour}^{-1}$ ). Toutefois, compte tenu de son extrême toxicité démontrée pour le milieu marin, l'utilisation de cette molécule a été drastiquement réglementée<sup>9</sup> et elle va être bientôt éliminée de la composition des peintures antisalissure au niveau mondial et pour tout type de bateau.

- Les dérivés du mercure et de l'arsenic ont été progressivement abandonnés au profit de l'oxyde cuivreux ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ). Celui-ci est utilisé dans tous les types de peintures depuis les années 1960. Il pose un problème de corrosion au niveau des coques métalliques et ne peut empêcher la formation du "voile gras" (bactéries, diatomées) préalable à toutes incrustations que si le taux de lixiviation est élevé (supérieur à  $20\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jour}^{-1}$ ).

- Enfin, une tendance à associer à l'oxyde cuivreux des biocides à toxicité nettement plus importante s'est mise en place afin d'augmenter les durées d'efficacité de la peinture. Ces "boosters" sont en particulier des systèmes bactéricides/algicides empêchant la formation du "voile gras".

Par dissolution, diffusion ou érosion du film de peinture, les toxiques parviennent à la surface de la carène et créent une barrière toxique pour les organismes vivants (comme les Cirripèdes -balanes plus particulièrement-, les serpules tubicoles, etc.). Quel que soit leur type d'action, ces peintures nécessitent un renouvellement régulier de la barrière antisalissure, c'est à dire un apport constant de toxiques (LOUIS, 1998). Cet apport constant est nécessaire pour empêcher la diminution de la concentration du toxique par effet de dilution dans le milieu et de destruction par oxydation ou divers autres processus de dégradation.

#### 2.2.3.2. Les différents types de peintures antisalissure

##### • Les matrices dures

Ce sont les peintures traditionnelles qui, une fois appliquées, constituent un film insoluble à base de résine dans lesquels se trouvent dispersés les biocides qui migrent vers la surface par des pores microscopiques.

Ce type de peintures présente deux types d'inconvénients : diffusion excessive du toxique par le film récent, immobilisation d'une fraction importante du biocide dans le film résiduel. Le taux de lixiviation, très élevé le premier mois après application, décroît rapidement.

La durée d'efficacité de ce type de peintures est de l'ordre de un à deux ans.

##### • Les érodables

Elles ont récemment été mises au point en vue d'accroître la longévité de l'efficacité de la peinture en facilitant la migration des biocides depuis les couches profondes du film vers la

<sup>8</sup> La quantité de matière active restituée quotidiennement par unité de surface de film de peinture est appelée taux de lixiviation (exprimé en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{jour}$ ).

<sup>9</sup> Depuis 1982, l'usage du TBT est interdit sur les coques des bateaux d'une longueur de 25 m.

surface. Le système érodable est constitué par un liant mixte, soluble-insoluble, qui se désagrège au cours du temps sous l'action des forces de frottement de l'eau contre la carène.

Il faut donc que le bateau avance pour que les biocides soient libérés de la résine qui se décroche.

L'avantage notable que présentent ces peintures est de permettre d'éviter le surcouchage, c'est à dire l'amoncellement de couches de peintures qui, année après année, forment une couche très préjudiciable à la vitesse du bateau. De ce fait, elles permettent de substantielles économies de carburant.

Les durées d'efficacité sont de un à deux ans

#### • **Les autolissantes (ou autopolissantes)**

Cette nouvelle génération de peintures tend à remplacer l'effet mécanique des érodables par une réaction chimique. Ces peintures sont constituées par un copolymère de méthacrylate (ou méthylméthacrylate) sur lequel est greffé le biocide et connues sous le nom de "Self Polishing Copolymer"(SPC). La substance active est libérée par un mécanisme de saponification du copolymère au contact de l'eau de mer qui renouvelle constamment l'état de surface du film.

Ces peintures présentent les mêmes avantages que les érodables et, de plus, leur taux de lixiviation est plus faible que pour les autres types de peintures et demeure constant à long terme : 5 ans de protection de carène pour les autolissantes à base de TBT.

#### • **Les anti-adhérentes**

Ces peintures sont basées sur les propriétés des polymères silicone ou téflon. Elles ne fonctionnent pas par relargage de composés actifs (biocides) mais grâce à l'obtention d'une surface très lisse, dite à faible énergie de surface, sur laquelle les organismes ont de grandes difficultés à adhérer. Ceux qui y parviennent malgré tout sont facilement éliminés par l'effet anti-adhérent et la vitesse du navire qui permet un auto-nettoyage de la carène. Ce type de peintures est idéal pour les navires à grande vitesse et/ou à grande activité.

Ces peintures présentent les avantages d'être exemptes de tout biocide, c'est à dire non-toxiques et de constituer une couche légère et faiblement rugueuse, permettant de faire des économies de carburant. A l'opposé, elles présentent certains inconvénients : faible résistance à l'abrasion, problèmes de stabilité en pot. Par ailleurs, elles n'offrent pas de protection totale aux bateaux à l'arrêt et les vitesses nécessaires à l'auto-épuration des organismes ayant réussi à adhérer à la surface de la carène sont de l'ordre de 18 à 20 nœuds.

### **2.2.4. Les peintures antisalissure utilisées à Arcachon en 1997 et 1998**

#### *2.2.4.1. Méthodologie de l'enquête*

Le but de l'enquête était de comptabiliser, pour les années 1997 et 1998, la quantité des différentes molécules actives contenues dans les peintures antisalissure utilisées sur les bateaux présents dans le Bassin d'Arcachon.

Deux types d'informations devaient être collectés pour aboutir au résultat souhaité :

- Quantités vendues par marque et type de peinture ;
- Composition chimique de ces différentes marques et types.

Substances actives (l)	Type	Fournisseurs 1997	Fournisseurs 1998	Marchands locaux 1997	Marchands locaux 1998	Pourcentage de la somme des biocides utilisés (%)
Oxyde cuivreux	Biocide	2535.9 - 3805.3	2296.5 - 3263.1	3073 - 4479.8	3242.4 - 4763.7	85,5 – 90,1
Chlorothalonil	Biocide	90.4 - 155.1	97.5 - 165	131.2 - 273.8	134 - 276.6	3,4 – 4,7
Diuron	Biocide	29.2 - 157.1	36.8 - 187.2	29.9 - 176.6	28.8 - 141.2	1,9 – 2,6
Thiocyanate de cuivre	Biocide	50.7 - 105.1	44.8 - 85.5	16.7 - 20.1	22.4 - 29.5	0,4 – 2,1
Thiocyanate de sodium	Biocide	29.7 - 74.3	33.2 - 83	72.1 - 180.3	31 - 77.5	1,2 – 2,9
Copolymère méthacrylate tributylétain	Biocide	22 - 55	14 - 35	0 - 0	0 - 0	0 – 1,1
Etain (composés organiques) en Sn	Biocide	2.8 - 14	1.8 - 9	0 - 0	0 - 0	0,2 – 0,2
Oxyde de tributylétain	Biocide	1.5 - 3.8	1.7 - 4.1	1.5 - 3.8	1.7 - 4.1	0,06 – 0,09
Zinc Pyrithione	Biocide	9 - 26.1	9.7 - 27.3	12.5 - 35.5	10.2 - 28.1	0,4 – 0,6
Zineb	Biocide	7.7 - 18.8	6.9 - 16.2	9.7 - 26.8	14.5 - 46.6	0,4 – 0,7
Irgarol 1051	Biocide	7.2 - 29.7	6.6 - 25.9	6.4 - 23.8	3.1 - 9.5	0,1 – 0,5
Dichlofluanid	Biocide	3.4 - 5.1	4 - 6.1	3.4 - 5.1	4 - 6.1	
Kathon 5287	Biocide	2 - 7.8	2.5 - 9.8	1.8 - 7.2	1.7 - 6.8	
Tolyfluanide	Biocide	2.1 - 5.3	0.5 - 1.5	2.1 - 5.3	0.5 - 1.5	
Sulfocyanate de cuivre	Biocide	0 - 0	11.9 - 11.9	0 - 0	0 - 0	
Xylène	Solvant ou autre	934.2 - 1992.2	950.9 - 2007.7	1029.3 - 2087.8	997.6 - 1994.2	
Colophane	Solvant ou autre	416.2 - 1009.9	409.7 - 870.6	506.1 - 1194.6	589.9 - 1366.1	
Solvant naphta	Solvant ou autre	241.9 - 391.5	242.8 - 442.7	313.5 - 502.3	323.6 - 593.6	
1,2,4-triméthylbenzène	Solvant ou autre	161.9 - 366.7	136.7 - 298.3	168.3 - 394.6	152.1 - 324.6	
White spirit	Solvant ou autre	75 - 150	83.8 - 167.5	33.3 - 66.5	112 - 224	
1,3,5-triméthylbenzène	Solvant ou autre	19.6 - 116.5	14.7 - 93.7	17.9 - 125.6	13.5 - 78.3	
5-méthyl-2-hexanon	Solvant ou autre	10.7 - 44.5	18.7 - 87.3	6.1 - 30.4	5.3 - 26.4	
1,2,3-triméthylbenzène	Solvant ou autre	8.9 - 41.5	6.4 - 29.8	3.1 - 15.5	2.9 - 14.5	
Acetate de méthoxypropyle	Solvant ou autre	8 - 13	12.3 - 28.6	8 - 13	11.8 - 28.1	
Toluène	Solvant ou autre	6 - 15	6.8 - 17	6 - 15	6 - 15	
Di-(2-éthylhexyl)-phtalat	Solvant ou autre	5.3 - 21.2	1.1 - 4.5	5.3 - 21.2	1.1 - 4.5	
Tricresyl phosphate	Solvant ou autre	3.8 - 15.3	4.1 - 16.5	3.8 - 15.3	4.1 - 16.5	
Dimethylether	Solvant ou autre	1.4 - 1.4	0 - 0	1.4 - 1.4	0 - 0	
1-méthoxy-2-propanol	Solvant ou autre	1.3 - 5	2.2 - 8.6	3.8 - 15.2	2.2 - 8.8	
Butanol	Solvant ou autre	0.8 - 0.8	1.1 - 1.1	0.8 - 0.8	1.1 - 1.1	
Acide méthacrylique	Solvant ou autre	0.6 - 3	0.4 - 2	0 - 0	0 - 0	
Propylbenzène	Solvant ou autre	0.5 - 1.1	0.2 - 0.6	0.5 - 1.1	0.2 - 0.6	
Méthylacrylate de méthyle	Solvant ou autre	0 - 0	2 - 4	0 - 0	0 - 0	
<b>Quantité totale de peinture (l)</b>		<b>9387</b>	<b>9381.5</b>	<b>10725.5</b>	<b>10904</b>	

**Tableau 15 :** Quantités (l) des différents constituants des peintures antisalissure utilisées sur le Bassin d'Arcachon en 1997 et 1998.

La collecte des données sur les **quantités vendues** a fait l'objet d'une double enquête, l'une auprès des revendeurs et chantiers locaux (55 entreprises contactées, à partir de la liste fournie par Monsieur Mouliets), l'autre auprès des fabricants (10 fabricants ont été contactés : LIM, BOERO, NAUTIX, INTERNATIONAL, SOROMAP, PLASTIMO, OLERONLAC, STOPPANI, JOTUN, GABI PAINTS). Ces fabricants nous ont demandé que leurs chiffres restent confidentiels. Pour cette raison, il ne sera jamais fait allusion aux quantités vendues par fabricant.

La **composition chimique** de ces marques et types de peintures a été obtenue à partir des fiches de sécurité fournies par les fabricants.

Ces fiches de sécurité contiennent la liste des composants entrant dans la composition des peintures et présentant un "danger" aux termes de la Directive Substances Dangereuses 67/548/CEE - Arrêté du 10 octobre 1983. Ce danger potentiel est essentiellement basé sur une toxicité humaine (inhalation, contact avec la peau, ingestion, etc...).

Dans la grande majorité des cas, les fabricants ne donnent pas un pourcentage précis de chacune des molécules rentrant dans la préparation mais une fourchette (parfois très large) de concentrations.

#### 2.2.4.2. Résultats de l'enquête (Tableau 15)

##### • *Quantités totales et types de peintures*

La majorité des peintures utilisées sur le Bassin est du type "matrice dure", notamment parce qu'elles sont moins coûteuses que les autres types. L'essentiel de la diffusion des produits toxiques se produit donc dans les mois suivant leur mise à l'eau après peinture (printemps-été).

Les quantités totales calculées à partir des deux sources d'information sont du même ordre de grandeur : environ **9400 l** pour les fabricants et environ **11 000 l** pour les marchands locaux. Pour les deux années, les quantités calculées à partir de l'enquête locale sont légèrement plus élevées (110 à 120 %) que celles récoltées auprès des fabricants.

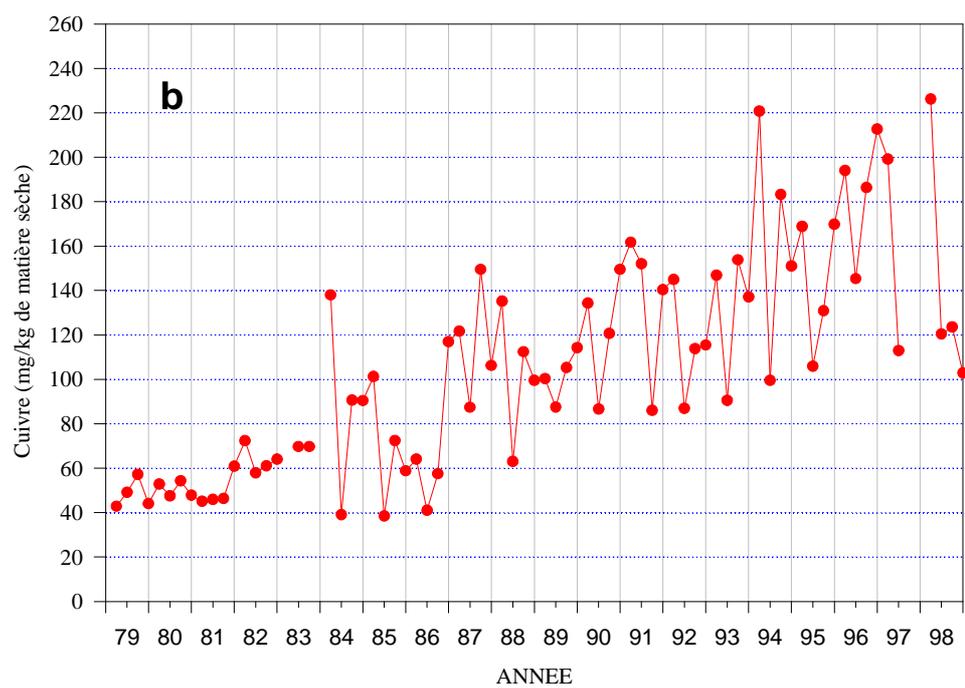
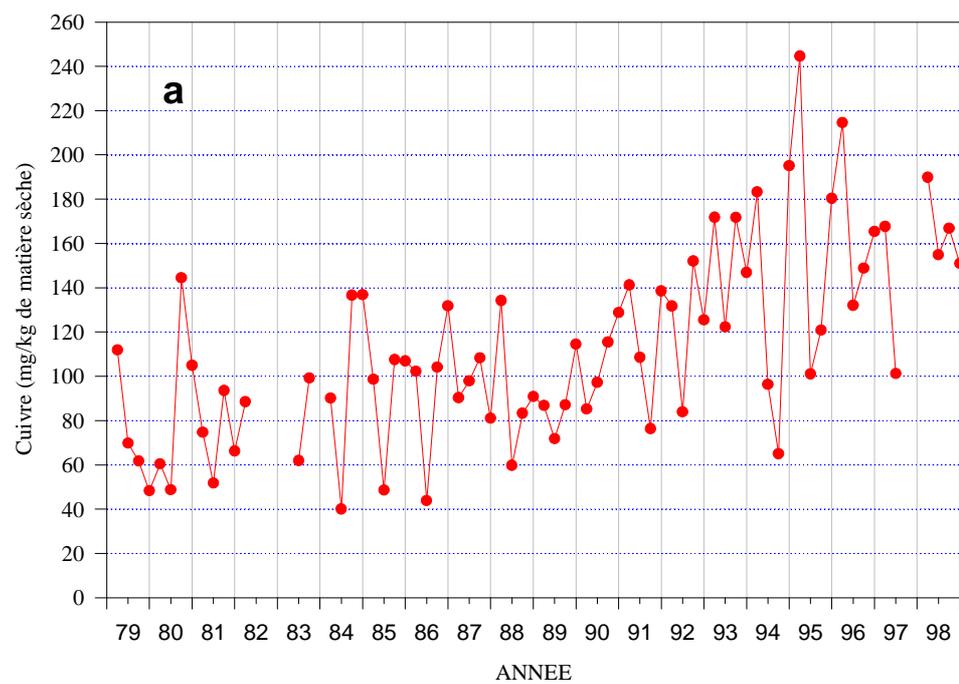
Dans les deux cas, on n'observe aucune augmentation des quantités globales utilisées entre 1997 et 1998.

##### • *Matières actives*

La liste des matières actives contenues dans les peintures antisalissure utilisées à Arcachon est recensée dans le tableau 15. Les principales molécules sont l'oxyde cuivré, le chlorothalonil, le diuron et les thiocyanates de cuivre et de sodium. Par ailleurs, on trouve dans les peintures de faibles proportions de zinc pyrithione, zineb, irgarol 1051, dichlofluanid, Kathon 5287, tolylfluanide et sulfocyanate de cuivre.

D'une façon générale, les mêmes molécules à propriété biocide sont présentes dans les mêmes proportions dans les peintures utilisées au cours des deux années.

La seule "nouvelle" molécule apparaissant entre 1997 et 1998 est le sulfocyanate de cuivre, contenu dans un seul type de peinture, dont seulement 34 litres auraient été vendus sur le Bassin cette année-là.



**Figure 24** : Evolution de la teneur en cuivre dans les huîtres du Bassin d'Arcachon (source RNO). (a. Secteur de Comprian ; b. Secteur des Jacquets).

**L'oxyde cuivreux** est présent dans la majorité des peintures utilisées. Cette molécule constitue 85 à 90 % du volume total des biocides utilisés pour la protection des carènes, soit environ 10 000 litres par an.

Ce métal est suivi dans le cadre du Réseau National d'Observation (analyse dans les huîtres de différentes zones de la Baie 4 fois par an). Comme l'indiquent les figures 24a et 24b, la teneur en cuivre des huîtres de certaines zones de la Baie ne cesse d'augmenter depuis les années 1980 et Claisse et Alzieu (1993) ont attribué cette élévation à l'utilisation intensive du cuivre dans les peintures antisalissure générant une augmentation de sa concentration dans les eaux de la Baie.

Néanmoins, en moyenne (période 1995-97), ces teneurs (162,5 mg/kg de poids sec aux Jacquets et 157,6 mg/kg de poids sec à Comprian) restent inférieures à la moyenne du littoral Manche-Atlantique (222,5 mg/kg de poids sec). Il faut également préciser que les teneurs en cuivre des huîtres d'Arcachon restent bien inférieures (environ 10 fois moindres) que celles des huîtres de l'estuaire de la Gironde.

Voulvoulis *et al.* (1999) discutent longuement de la toxicité du cuivre sur les organismes aquatiques et sur sa spéciation dans l'eau de mer. Ces auteurs indiquent que le cuivre a tendance à se lier avec des substances organiques, les ions  $\text{Cu}^{++}$  se transformant ainsi en molécules inertes et permettant ainsi à la majorité du cuivre de ne plus se trouver sous forme ionique toxique pour les organismes. Par contre, ils relèvent dans la littérature des indications d'effets combinés des pesticides et du cuivre, *via* la formation de complexes plus lipophiles, donc plus susceptibles d'être bioaccumulés. D'après ces auteurs, la toxicité du cuivre varie non seulement en fonction des espèces, mais également en fonction des conditions abiotiques dans lesquelles se déroulent les tests.

On remarquera cependant que la quantité de cuivre dans les huîtres d'Arcachon ne s'est pas particulièrement élevée en 1998 par rapport à 1997 (Figure 24).

**L'étain** est contenu dans trois des peintures utilisées par les chantiers installés sur le pourtour du Bassin d'Arcachon.

A priori, ces peintures sont utilisées sur les carènes d'embarcations de dimension importante (> 25 m), ne stationnant que de manière très ponctuelle dans le Bassin d'Arcachon (vedettes destinées à l'exportation). A priori, le TBT ne devrait plus (ou seulement de manière très sporadique) être apporté dans les eaux du Bassin par cette source.

Le TBT est toujours présent dans le Bassin, comme l'ont montré diverses analyses réalisées dans l'eau, les sédiments et la matière vivante du Bassin d'Arcachon (Michel et Averty, 1996, 1998 ; Résultats d'analyses Institut Européen d'Environnement de Bordeaux dans les sédiments portuaires ; O. Donnard, comm. pers.), ainsi que l'observation récente de phénomènes d'imposex chez les bigorneaux perceurs arcachonnais (Fernandez-Castro *et al.*, 1996). Toutefois, cette présence ne signifie pas qu'il est toujours apporté par des sources extérieures mais plutôt qu'il est toujours contenu dans les sédiments, dans lesquels il se dégrade très lentement, et à partir desquels il subit un lent relargage vers le compartiment aquatique.



**Figure 25** : Localisation des stations de prélèvement des pesticides dans le Bassin d'Arcachon et les cours d'eau pendant l'été 1999.

Si l'on en croit les mesures réalisées par P. Michel et B. Averty (DEL PC-IFREMER Nantes) dans les eaux du Bassin en 1992 (Michel et Averty, 1996), 1997 (Michel et Averty, 1998) et durant le mois d'août 1998 (résultats non publiés), les teneurs en TBT (exprimées ng/l d'ion TBT) dans les eaux du Bassin auraient d'ailleurs tendance à diminuer : 0,5-3,9 (moyenne 1,2) en 1992, non détectable ( $< 0,4$  ng/l)–4,2 (moyenne 0,94) en 1997, et 7 échantillons inférieurs à la limite de détection ( $< 0,4$  ng/l) en août 1998.

La non détectabilité du TBT dans les eaux de la Baie en août 1998, ainsi que l'absence de chambrage des huîtres dans les parcs proches de la zone portuaire draguée au printemps 1998<sup>10</sup> sont autant d'arguments permettant de penser que ce composé n'est pas responsable des problèmes de la reproduction en 1998. A cet égard, il faut souligner que c'est précisément à partir de cette année 1998 que l'immersion des boues portuaires a été effectuée au large du Bassin, alors qu'elle avait lieu auparavant dans les Passes.

Les recherches de polluants provenant des coques des peintures antisalissure ont donc été axées sur les pesticides utilisés comme "boosters". Les molécules qui ont été recherchées dans les eaux sont les suivantes :

<i>Diuron</i>	<i>Chlorothalonil</i>
<i>Irgarol 1051</i>	<i>Dichlofluanid</i>

### **3. Analyse des pesticides dans les eaux des principaux exutoires et du Bassin d'Arcachon au cours de l'été 1999**

Il s'agissait de déterminer le niveau de contamination en pesticides dans les eaux du Bassin pendant l'été et de distinguer l'origine de chacune de ces molécules. Le plan d'échantillonnage a été déterminé de façon à tenter de répondre à ces deux questions.

#### **3.1. Matériel et méthodes**

##### *Points de prélèvements*

En ce qui concerne les eaux continentales (pesticides d'origine agro-sylvicole et/ou provenant de l'entretien des communes riveraines des rivières), l'échantillonnage a porté sur 6 cours d'eau présentant les débits affluents au Bassin les plus importants, soit du nord au sud : Canal du Porge, Cirès, Lanton, Ponteils, Eyre, Canal des Landes (Figure 25). Les prélèvements ont été effectués conjointement avec le SRPV Aquitaine.

Pour le Bassin, nous avons choisi d'échantillonner les principales zones de captage soit : la Vigne, les Jacquets et Tessillat (Figure 25).

Par ailleurs, une station supplémentaire localisée dans le port d'Arcachon était destinée à mettre en évidence les apports de pesticides provenant des peintures antisalissure.

<sup>10</sup> On sait que le chambrage des huîtres est le phénomène apparent qui intervient le plus précocement dans une zone polluée par le TBT.

### *Echantillonnage*

Les prélèvements dans les cours d'eau et dans le Bassin étaient réalisés en marée de morte eau, le même jour pour les ruisseaux et le Bassin, autour de l'étale de haute-mer pour les stations du Bassin et pendant le jusant (pour éviter la pénétration des eaux marines) pour les cours d'eau.

Cet échantillonnage a été réalisé à six reprises au cours de l'été 1999 : 2 juin, 21 juin, 5 juillet, 19 juillet, 4 août, 17 août.

Le volume des échantillons prélevés était différent pour les cours d'eau (4 litres) et le Bassin (10 litres). En effet, pour ce dernier, la plus faible concentration en pesticides à laquelle on pouvait s'attendre nécessitait de récolter un volume d'eau plus important pour pouvoir y détecter les matières actives en présence.

Les bouteilles destinées à contenir les échantillons d'eau et de plancton étaient soigneusement rincées à plusieurs reprises avec de l'eau milliQ puis séchées à l'étuve. Elles étaient ensuite bouchées à l'aide d'une feuille d'aluminium et passées au four (450°C, 8 h).

La pompe et les filets destinés à la pêche de plancton étaient rincés pendant 1 heure à l'acide chlorhydrique à 10 %, puis à l'eau milliQ également pendant 1 heure.

Avant les prélèvements, les bouteilles servant à la fois au prélèvement et à la conservation de l'eau étaient rincées trois fois avec l'eau du milieu. Une fois le prélèvement réalisé, les bouteilles étaient recouvertes de papier aluminium, afin de prévenir la photo dégradation des molécules, puis placées dans une glacière. Les échantillons étaient ensuite maintenus à l'obscurité et au froid jusqu'à leur analyse.

Les prélèvements de plancton (stations du Bassin : Vigne, Jacquets, Tessillat) étaient réalisés à l'aide d'une pompe et d'un jeu de filets à plancton destinés à récolter les organismes d'une taille comprise entre 5 et 125  $\mu\text{m}$ , c'est à dire principalement du phytoplancton. Avant le prélèvement, le système de pompage était rincé pendant 10 min avec l'eau du milieu. La pêche était réalisée pendant 30 min (environ 1 m<sup>3</sup> d'eau filtrée). Les échantillons étaient ensuite transférés dans des bouteilles qui faisaient l'objet du même traitement que dans le cas de l'eau.

### *Analyse des pesticides*

Les analyses de pesticides ont été réalisées par le Groupement Interrégional de Recherche sur les Produits Agropharmaceutiques (GIRPA) à Beaucozé (49).

Le détail des méthodes d'analyse est consigné dans l'annexe 3. Nous ne présentons ici que les principes généraux de ces techniques.

La **majorité des pesticides** (sauf aminotriazole et glyphosate) a été dosée par une méthode multirésidus, dans laquelle les résidus de pesticides sont extraits de l'eau par partage liquide/liquide eau/dichlorométhane. Le dosage des résidus est réalisé par chromatographie liquide haute performance sur colonne C<sub>18</sub> avec détecteur à barrette de diodes et par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur de masse en tandem sur colonne capillaire.

Le dosage de l'**aminotriazole** a été réalisé par chromatographie liquide haute performance avec détection spectrofluorimétrique sur colonne C18 après dérivation de l'aminotriazole par la fluorescamine.

Le **glyphosate** a été dosé en utilisant une méthode consistant en la purification de l'eau (amenée à pH 2) par chromatographie sur résines échangeuses d'ions (Chelex 100<sup>®</sup> et AG<sup>®</sup> 1X8) suivie d'une dérivation et d'une quantification par GC/MS/MS.

Les seuils de détection sont rapportés en annexe 4. Ils sont différents selon les substances analysées. Ils varient de 5 à 25 ng/l pour les rivières et de 2,5 à 10 ng/l pour le Bassin.

### 3.2. Résultats

Sur les trente trois molécules recherchées, quatorze sont quantifiables dans les cours d'eau, et treize dans le Bassin. Ces molécules, et leurs concentrations mesurées aux différentes stations et dates sont rassemblées en annexe 4 dans les tableaux A à E. Dans leur grande majorité, ces produits sont des herbicides.

**Aucun pesticide n'a été détecté dans le plancton. Les faibles quantités de matériel récolté expliquent peut-être cet état de fait.**

Dans les **cours d'eau**, une molécule apparaissait très fréquemment, le 2,4 MCPA, d'autres avec une fréquence moyenne (alachlore, atrazine, métolachlore, oxadiazon, simazine, dichlofluanid), et d'autres encore très rarement (DET, tébutame, terbuthylazine, folpel, diuron, lindane et aminotriazole).

Dans le **Bassin**, le 2,4 MCPA apparaît également très souvent, d'autres molécules sont assez fréquentes (diuron, irgarol, atrazine, métolachlore), l'alachlore est assez rare, et d'autres pesticides sont très rares (linuron, oxadiazon, simazine, lindane, terbuthylazine, tébutame, dimethenamid).

Dans les paragraphes suivants, nous allons traiter de ces molécules principales, en situant leur niveau de concentration dans d'autres sites et en rapportant les données touchant à leur écotoxicité. En ce qui concerne cette toxicité, nous nous sommes particulièrement intéressés à l'impact des produits sur les microalgues, qui sont les organismes vivants les plus sensibles à ces produits. Pour ces organismes, la notion de EC50 traduit la concentration pour laquelle soit la photosynthèse est réduite de moitié, soit la multiplication cellulaire est réduite de moitié par rapport à un témoin se développant en absence de la molécule testée.

Nous ferons parfois référence dans les paragraphes suivants aux résultats des mesures mensuelles réalisées dans l'Eyre dans le cadre du Réseau National de Bassin Adour Garonne depuis 1994. Le nombre de pesticides analysés dans le cadre de ce réseau a augmenté au cours du temps. En 1998, quinze molécules étaient dosées : *aminotriazole, atrazine, diuron, atrazine déséthyl, lindane, simazine, trifluraline, alachlore, dinoterbe, delthaméthrine, lamda-cyhalothrine, métolachlore, terbuthylazine, désisopropylatrazine, tébutame*.

Les résultats exposés pour chaque molécule contiennent un tableau présentant les concentrations mesurées localement et dans d'autres milieux (à fin de comparaison) ainsi qu'un autre tableau rassemblant les données d'écotoxicité.

- Pour les données de concentration dans les milieux, tous les résultats sont exprimés en ng/l.

Par ailleurs, la notation "ND" (non détectable) signifie que la concentration mesurée est inférieure à la limite de quantification "LQ". Ces limites de quantification pour chaque molécule sont rapportées dans l'annexe 4.

- Pour les données d'écotoxicité, l'unité de concentration est variable (ng/l ou µg/l) et systématiquement indiquée chaque fois.

### 3.2.1. 2,4 MCPA

Le 2,4 MCPA est un herbicide systémique (agissant après pénétration et migration dans la plante traitée) sélectif utilisé sur les céréales d'hiver et de printemps, le lin, les prairies permanentes et les gazons de graminées.

Il présente une solubilité élevée ( $S = 0,825$  g/l), une tendance à se retrouver facilement dans l'eau (KOC = 49,3 – 110), une faible tendance à la bioaccumulation ( $\log P = 2,1 - 3,3$ ). Sa toxicité est faible mais il présente des effets insidieux (tératogènes et mutagènes).

Le MCPA est très souvent présent dans les eaux des cours d'eau débouchant dans le Bassin, dans lesquels il atteint des concentrations aussi élevées que dans les rivières grecques et anglaises recensées dans le tableau 16.

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
Angleterre (Yorkshire) Aire Trent Don Ouse	Rivières	70 - 880 50 - 380 60 - 180 90	House et al. (1997)
Grèce (Macédoine) Axios Loudias Aliakmon	Rivières - été	ND – 180 (130) ND – 280 (90) ND – 380 (220)	Albanis et al. (1994)
France (Bassin d'Arcachon) Canal du Porge Cirès Lanton Ponteils Eyre Canal des Landes Port d'Arcachon La Vigne Les Jacquets Tessillat	Rivières - été       Ports - été Baies - été	ND – 160 (40) ND – 340 (77) ND – 80 (16) ND – 310 (127) ND – 900 (150) ND – 560 (130) ND – 1110 (217) ND – 90 (36) ND – 180 (86) ND – 720 (148)	Présente étude

**Tableau 16** : Concentrations en 2,4 MCPA (limite inférieure - limite supérieure (moyenne)) dans différents milieux aquatiques (ng/l). ND : non détectable.

On ne dispose pas de données sur les concentrations de ce produit dans les eaux françaises, mais, d'après Stangroom *et al.* (1998), le MCPA est l'un des chlorophénoxy herbicides les plus fréquemment rencontrés dans les eaux des pays du Nord (Finlande, Norvège, Suède, Allemagne), dans l'environnement des cultures intensives. Il semble que tel est également le cas dans les cours d'eau arrivant au Bassin d'Arcachon et que ce produit provient, au moins partiellement, de sources agricoles.

Le MCPA est également présent tout au long de l'été dans les eaux du Bassin où ses concentrations sont du même ordre de grandeur que celles des cours d'eau<sup>11</sup>. On peut penser que ce phénomène s'explique par l'existence d'autres sources, pour cette molécule, que celle des rivières. Le port ne présente pas de teneurs supérieures au reste du Bassin, ce qui exclue la possibilité que cette molécule provienne de sources nautiques (le MCPA n'est d'ailleurs pas recensé dans les molécules contenues dans les peintures).

S'agissant d'un désherbant sélectif, molécule susceptible d'être employée à des fins non agricoles, nous nous sommes interrogés sur l'éventuelle utilisation de cette molécule par les golfs et les particuliers, pour leurs jardins. Une enquête a donc été menée auprès des deux golfs situés sur les communes riveraines et de deux jardinerie situés sur une autre commune (La Teste). Les deux golfs utilisent du MCPA à raison de 2 x 8 kg par an, soit 16 kg employés au total par cette activité. L'une des jardinerie, de taille importante, vend d'assez grandes quantités de différentes préparations contenant à la fois de l'engrais pour gazon et du MCPA ; environ 15 kg de MCPA seraient ainsi vendus chaque année. La seconde jardinerie n'a pas fourni d'estimation, mais le responsable des ventes a confirmé que ce type de produit était prisé par les particuliers qui l'utilisent entre le printemps et l'été pour traiter leur gazon.

Quoiqu'une enquête plus complète reste à réaliser pour quantifier les quantités de MCPA ainsi vendues aux particuliers, on peut d'ores et déjà se demander si les sources diffuses de ce composé ne proviennent pas de son utilisation dans les jardins.

### *Ecotoxicité*

Dans le tableau 17, nous rapportons quelques unes des données sur l'écotoxicité du MCPA tirées de la synthèse sur cette molécule publiée par Caux *et al.* (1995). Les espèces que nous avons choisies font partie de celles qui présentent la plus grande sensibilité au MCPA.

Espèce cible	Seuil d'inhibition	EC50	Auteur
<i>Skeletonema costatum</i>	15 µg/l	300 µg/l	MCPA Task Force (1993)*
<i>Skeletonema costatum</i>	2,5 µg/l	85 µg/l	MCPA Task Force (1993)*
<i>Skeletonema costatum</i>	34 µg/l	1500 µg/l	MCPA Task Force (1993)*
<i>Selenastrum capricornutum</i>	< 33 µg/l	190 µg/l	Rhône – Poulenc (1992)*
<i>Selenastrum capricornutum</i>	32 µg/l	250 µg/l	Rhône – Poulenc (1992)*

**Tableau 17** : Ecotoxicité du 2,4 MCPA sur différentes espèces phytoplanctoniques.  
(\* in Caux et al., 1995)

D'après ces résultats, les concentrations mesurées dans le Bassin seraient bien inférieures aux seuils de toxicité mesurés pour ces espèces phytoplanctoniques. Il serait néanmoins intéressant de le tester sur les espèces ultraplanctoniques, autres que *Skeletonema costatum*, se développant dans le Bassin.

<sup>11</sup> Nous verrons par la suite que la dilution des autres produits apportés par les cours d'eau est beaucoup plus importante (environ 10 fois).

Malgré son omniprésence dans la Baie, et les concentrations élevées qu'il y atteint, le MCPA ne présenterait pas d'effet inhibiteur sur la microflore. Par ailleurs, il serait peu bioaccumulé par les organismes vivants.

Toutefois, il importe de souligner que le principal produit de dégradation de cette molécule, le chlorocrésol ou 4-chloro 2-méthyl phénol (Zertal *et al.*, 1999) serait, d'après Hattula *et al.* (1978) plus bioaccumulable (plus lipophile) que le MCPA. D'autre part, d'après ces derniers, ce produit de dégradation serait plus toxique pour la truite que le MCPA.

A notre connaissance, il n'existe pas de test de toxicité du chlorocrésol sur le phytoplancton. Il sera probablement utile, dans les prochaines années de réaliser ces tests et de suivre les concentrations de ce produit de dégradation dans le Bassin d'Arcachon.

### 3.2.2. Diuron

Le diuron est un herbicide sélectif utilisé en agriculture sur la luzerne, la vigne, les asperges, les lentilles, les poiriers et les pommiers. Il rentre dans la composition des peintures antisalissure.

Il s'agit d'une substance moyennement soluble ( $S = 0,042 \text{ g/l}$ ), se retrouvant facilement dans l'eau ( $KOC = 480$ ), peu ou pas bioaccumulable ( $\log P = 0,017-2,77$ ), fortement toxique pour la faune aquatique mais ne présentant pas d'effets insidieux.

Le diuron n'est que rarement présent dans les rivières et canaux débouchant dans le Bassin pendant l'été. Il apparaît dans un seul de ces cours d'eau, le Canal des Landes, dont le bassin versant est l'un des moins occupé par l'agriculture (Auby *et al.*, 1999). A cet égard, on peut remarquer que les analyses mensuelles réalisées dans l'Eyre entre 1994 et 1999 par l'Agence de l'Eau n'ont jamais révélé la présence de cette molécule.

Les concentrations en diuron mesurées dans le Canal des Landes sont du même ordre de grandeur que celles des rivières échantillonnées en Grèce et plus faibles que celles des rivières anglaises consignées dans le tableau 18.

Le diuron est présent presque en permanence dans les eaux du port d'Arcachon, et à des concentrations plus élevées que celles qui sont mesurées dans le Canal des Landes et dans les autres sites de la Baie. Le diuron détecté en été dans le bassin provient donc en majorité des peintures antisalissure comme l'avaient déjà mis en évidence Ferrer *et al.* (1997) et Dahl et Blanck (1996) dans d'autres ports dans lesquels ils mesuraient des concentrations en ce pesticide proches de celles du port d'Arcachon.

On peut remarquer qu'environ 20 % des peintures vendues sur le Bassin contiennent cette molécule.

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
Angleterre (Yorkshire) Aire Trent Don Ouse Dervent Nidd Swale Calder	Rivières	60 – 3800 50 – 410 60 – 670 60 – 520 40 80 - 4700 60 – 1310 160 - 870	House et al. (1997)
Grèce (Macédoine) Axios Loudias Aliakmon	Rivières - été	10 – 330 (220) 10 – 270 (120) 10 – 260 (200)	Albanis et al. (1994)
Espagne (Delta de l'Ebre)	Ports - année	10 - 180	Ferrer et al. (1997)
France (Rade de Brest) Penfoul Daoulas Aulne Moulin Blanc	Baies - été	329 100 170 147 – 415 (281)	Arzul et Durand (1999)
France (Bassin d'Arcachon) Canal des Landes Autres rivières	Rivières - été	ND – 150 (28) ND	Présente étude
Port d'Arcachon	Ports - été	ND – 310 (106)	Présente étude
La Vigne Les Jacquets Tessillat	Baies - été	ND ND - 20 (8) ND – 17 (5)	Présente étude

**Tableau 18** : Concentrations en diuron. (limite inférieure - limite supérieure (moyenne)) dans différents milieux aquatiques (ng/l). ND : non détectable.

Les concentrations mesurées dans le Bassin sont relativement faibles (20 ng/l au maximum à Tessillat et aux Jacquets) comparativement aux valeurs estivales rapportées dans certains sites de la rade de Brest.

### Ecotoxicologie

Au regard de la variété des résultats (Tableau 19) concernant la toxicité du diuron sur diverses espèces phytoplanctoniques et sur une communauté périphytique (microflore vivant sur un support végétal), il est difficile de se faire une idée sur la toxicité des concentrations en cette molécule mesurées dans le Bassin d'Arcachon.

La plupart des seuils d'inhibition rapportés dans ce tableau sont largement supérieurs aux teneurs estivales observées dans la Baie. Toutefois, si l'on se fie aux valeurs les plus basses du seuil d'inhibition trouvées dans la littérature (25 ng/l), s'appliquant sur une espèce parfois présente dans le Bassin pendant l'été (*Chaetoceros gracilis*), on constate que les teneurs mesurées à Tessillat et aux Jacquets s'avéreraient suffisantes pour limiter la croissance de cette population. Cette limitation serait d'autant plus importante que le milieu est pauvre en nutriments.

Espèce cible	Seuil d'inhibition	EC50	Auteur
<i>Chaetoceros gracilis</i>	25 ng/l (1 <sup>ère</sup> concentration testée) milieu optimal : 37 % inhibition milieu minimal : 88 % d'inhibition		Arzul et Durand (1999)*
<i>Chlorella fusca</i>	11,6 µg/l		Arsalane <i>et al.</i> (1993)
<i>Phaedactylum tricornutum</i>	4,7 µg/l		
<i>Selenastrum capricornutum</i>	4,7 µg/l	16,3 µg/l	El Jay <i>et al.</i> (1997)
Périphyton	1,2 µg/l (1 <sup>ère</sup> concentration testée)	2,33 µg/l	Molander <i>et al.</i> (1992)

\* Ces auteurs ont testé l'effet des pesticides sur les microalgues en utilisant différents milieux de culture : un milieu optimal avec de fortes concentrations en nutriments et un milieu minimal, avec de faibles concentrations en nutriments correspondant à des teneurs estivales. Le % d'inhibition correspond au déficit de croissance de la culture testée par rapport au témoin.

**Tableau 19:** Ecotoxicité du diuron sur différentes espèces phytoplanctoniques.

Il faut souligner que différentes études ont mis en évidence que le diuron présente une toxicité pour les microalgues plus élevée que l'atrazine et la simazine (Arsalane *et al.*, 1993 ; El Jay *et al.*, 1997 ; Arzul et Durand, 1999).

### 3.2.3. Irgarol 1051

L'irgarol est un herbicide qui n'est pas utilisé en agriculture mais qui fait partie des "boosters" entrant dans la composition des peintures antisalissure. Il présente une solubilité moyenne ( $S = 0,009$  g/l), un KOC (1000) également moyen et une tendance intermédiaire à la bioaccumulation ( $\log P = 2,8-3,95$ ).

Comme on pouvait s'y attendre, l'irgarol n'a été détecté dans aucun des cours d'eau échantillonnés au cours de cette étude. L'irgarol présent dans les eaux du Bassin provient exclusivement de sources nautiques, comme l'indique également le fait que sa concentration est plus élevée dans les eaux du port. Ces observations rejoignent celles que Gough *et al.* (1994) ont réalisées dans la zone côtière du sud de l'Angleterre.

En dépit de la faible proportion de peintures contenant de l'irgarol vendues sur le Bassin (environ 4 % de la quantité totale), ce pesticide atteint dans le port des concentrations relativement élevées (de 23 à 95 ng/l), du même ordre que celles qui ont été mesurées dans les ports de la côte d'azur par Readman *et al.* (1993) (Tableau 20). Elles sont cependant plus faibles que les teneurs mesurées par ces auteurs, par Ferrer *et al.* (1997) et Liu *et al.* (1999) dans des marinas du sud de la France, de la côte méditerranéenne espagnole, des côtes japonaises et du sud de l'Angleterre.

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
Compilation des données de 11 études (146 stations)	Estuaires	(41)	Hall et al. (1999)
	Marinas	(316)	
	Eaux côtières	(19)	
France (Côte d'Azur)	Marinas	110 – 1700 (650)	Readman et al. (1993)
	Ports	5 – 280 (88)	
	Eaux côtières	ND – faible conc.	
Angleterre (côte sud)	Estuaires	52 – 500 (216)	Gough et al. (1994)
	Marinas	4 – 190 (51)	
	Eaux côtières	ND – 11 (4)	
France (Baie de Bourgneuf)	Baies - été	ND – 12 (5)	Tronczynski et al. (1999)
France (Bassin d'Arcachon) Port d'Arcachon La Vigne Les Jacquets Tessillat	Ports - été	23 – 95 (49)	Présente étude
	Baies - été	ND	
		ND - 4 (1) ND – 9 (3)	

**Tableau 20** : Concentrations en irgarol dans différents milieux aquatiques.  
limite inférieure - limite supérieure (moyenne)

Les concentrations mesurées dans le Bassin d'Arcachon (à l'exclusion du port) sont très faibles, du même ordre que celles qui ont été mesurées dans les eaux côtières du sud de l'Angleterre, de la côte d'Azur et de la Baie de Bourgneuf.

### Ecotoxicologie

En ce qui concerne les microalgues, la valeur du NOEC se situerait environ à 100 ng/l et la EC50 à 1000 ng/l (CIBA GEIGY, 1988). Les valeurs récemment calculées pour *Chaetoceros gracilis* sont du même ordre de grandeur (G. Arzul, comm. pers.).

La macroalgue *Enteromorpha intestinalis* est plus sensible en terme de seuil d'inhibition (effet inhibiteur à partir de 22 ng/l) mais son EC50 (2500 ng/l) est plus élevé que pour les microalgues (Scarlett *et al.*, 1997).

La grande zostère *Zostera marina* présente une photosynthèse réduite à partir d'une concentration en irgarol égale à 180 ng/l et sa EC50 (après 36 jours d'exposition) s'élève à 200 ng/l (Scarlett *et al.*, 1999). Par ailleurs, ces auteurs mettent l'accent sur la tendance de l'irgarol à s'accumuler dans les tissus des zostères. Ainsi, après deux jours d'exposition, les zostères contiennent à peu près 300 fois (par rapport à leur poids sec) la concentration en irgarol de l'eau dans laquelle elles sont cultivées. Dans le milieu naturel (sud de l'Angleterre et côte est de l'Australie), ces auteurs ont mesuré des concentrations élevées d'irgarol dans les herbiers de zostères.

En dépit des faibles quantités d'irgarol utilisées sur le Bassin, cette molécule est présente avec des teneurs significatives dans les eaux du port et détectables dans les secteurs internes de la Baie. Ces concentrations n'atteignent pas, pour l'instant, des valeurs présentant un risque pour les végétaux. Toutefois, si cette molécule devait être utilisée à

une plus grande échelle dans le Bassin, il conviendrait d'apporter une attention particulière à son possible impact sur les herbiers proches des ports ou des zones de mouillage.

#### **3.2.4. Atrazine**

L'atrazine est un herbicide sélectif utilisé principalement sur les champs de maïs. Il présente une solubilité moyenne ( $S = 0,028$  g/l), se retrouve facilement dans l'eau ( $KOC = 100$ ), est peu bioaccumulable ( $\log P = 2,71-2,75$ ). Ce composé est assez toxique pour la faune aquatique et provoque des effets insidieux (tératogènes et mutagènes).

Les concentrations estivales en atrazine dans les cours d'eau arrivant au Bassin sont généralement très faibles, sauf dans l'Eyre au cours du second prélèvement du mois de juin, où elle atteint 1161 ng/l à la suite de l'épisode pluvieux observé le jour précédent ce prélèvement. Dans ce même cours d'eau, des concentrations relativement élevées d'atrazine ont également été mesurées à cette saison dans le cadre du Réseau National de Bassin en 1997 (concentration maximale en mai : 210 ng/l) et en 1998 (en mai : 340 ng/l). Pendant les étés de ces 2 années, l'atrazine était également parfois détectée dans l'Eyre dans le cadre du RNB, mais avec une concentration inférieure (50–60 ng/l).

Ces valeurs mesurées dans l'Eyre sont proches de celles des rivières grecques et des sites échantillonnés dans la rade de Brest (Tableau 21), mais plus élevées que les teneurs mesurées dans les eaux douces de la Baie de Bourgneuf et de l'Aiguillon.

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
Angleterre (côte sud)	Rivières	6 – 57 (20)	Gough et al. (1994)
	Estuaires	22 – 32 (28)	
	Eaux côtières	ND – 12 (5)	
Grèce (Macédoine) Axios Loudias Aliakmon	Rivières - été	ND – 640 (400) ND – 340 (270) ND – 740 (350)	Albanis et al. (1994)
France (Loire)	Rivières	212	Tronczynski et al. (1999)
France (Rade de Brest) Faou Penfoul Daoulas Camfrou Kerouille Auberlac'ch Roscanvel	Baies - été	147 – 1071 (478) 176 153 – 206 (179) 189 155 159 166	Arzul et Durand (1999)
France (Baie de Bourgneuf) Faible salinité Salinité moyenne Forte salinité	Baie - été	172 95 8 – 9 (8,5)	Tronczynski et al. (1999)
France (Baie de l'Aiguillon) Faible salinité Salinité moyenne Forte salinité	Baie - été	145 73 9 - 23 (18)	Tronczynski et al. (1999)
France (Bassin d'Arcachon) Canal du Porge Lanton Eyre Autres rivières Port d'Arcachon La Vigne Les Jacquets Tessillat	Rivières - été	ND – 22 (5)	Présente étude
		ND – 22 (7)	
		ND – 1161 (194)	
		ND	
	Ports - été	ND – 34 (9)	
	Baies - été	ND – 7 (1) ND – 3 (1) ND – 88 (17)	

**Tableau 21** : Concentrations en atrazine (limite inférieure - limite supérieure (moyenne)) dans différents milieux aquatiques (ng/l). ND : non détectable.

Dans le Bassin, les concentrations sont généralement faibles, comme dans les sites côtiers anglais et les zones marines (salinité élevée) des baies de Bourgneuf et de l'Aiguillon. On note toutefois des teneurs plus élevées, en juin, dans le site du Tessillat situé à proximité du débouché de l'Eyre, avec des concentrations environ dix fois inférieures à celles mesurées dans ce cours d'eau.

A priori, ce pesticide est ici strictement d'origine agricole.

### Ecotoxicité

Le tableau 22 contient les résultats de quelques tests de toxicité de l'atrazine sur différentes espèces de microalgues. Les seuils d'inhibition mesurés par les différents auteurs sont, en grande majorité, largement supérieurs aux concentrations mesurées dans le Bassin pendant l'été 1999. On notera cependant, mais simplement pour les algues cultivées en milieu minimal, que la valeur du seuil d'inhibition des *Chaetoceros* a été dépassée à Tessillat à une occasion au mois de juin.

Espèce cible	Seuil d'inhibition	EC50	Auteur
Chaetoceros gracilis Milieu optimal	Entre 100 et 500 µg/l 100 µg/l : pas d'inhibition 500 µg/l : 70 % d'inhibition		Arzul et Durand (1999)
Milieu minimal	25 ng/l (1ère concentration testée) 70 % d'inhibition		
<i>Chlorella fusca</i>	80 µg/l		Arsalane et al. (1993)
<i>Phaedactylum tricornutum</i>	108 µg/l		Arsalane et al. (1993)
<i>Selenastrum capricornutum</i>	8 µg/l	80 µg/l	El Jay et al. (1997)
<i>Selenastrum subspicatus</i>		21 µg/l	Kirby et Sheahan (1994)
Communauté de phytoplancton d'eau douce	19 µg/l	58 µg/l	Gustavson et Wanberg (1995)

**Tableau 22** : Ecotoxicité de l'atrazine sur différentes espèces phytoplanctoniques.

Par ailleurs, quoique les concentrations en atrazine mesurées dans l'Eyre soient bien inférieures au seuil léthal pour la faune aquatique, les travaux de Biagianni-Risbourg et Bastide (1995) ont montré que de faibles concentrations en atrazine (170 ng/l, concentration régulièrement atteinte dans l'Eyre en mai-juin) provoquent des perturbations structurales dans le foie du mullet *Liza ramada*.

#### 3.2.5. Alachlore

L'alachlore est un herbicide systémique relativement soluble ( $S = 0,242 \text{ g/l}$ ) utilisé sur le maïs et le soja, qui se retrouve facilement dans l'eau ( $KOC = 170$ ), peu bioaccumulable, assez toxique pour la faune aquatique et ne présentant pas d'effets insidieux.

Les concentrations estivales en alachlore sont peu élevées dans les cours d'eau débouchant dans le Bassin comparativement aux valeurs mesurées dans les rivières grecques (Tableau 23). Seule l'Eyre présente, une fois au cours de l'été, une concentration un peu plus élevée (122 ng/l), et ce pic se répercute, à la même date, sur la station du Tessillat, avec une concentration environ dix fois moindre que celle mesurée dans l'Eyre. Les mesures du RNB dans l'Eyre, en 1998, ont révélé la présence de ce pesticide en mai et en juin, à des concentrations respectives de 200 et 100 ng/l.

D'une façon générale, les concentrations en alachlore sont extrêmement faibles dans le Bassin, à l'instar des baies de Bourgneuf et de l'Aiguillon et à l'inverse de la rade de Brest.

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
Grèce (Macédoine) Axios Loudias Aliakmon	Rivières - été	ND – 1340 (760) ND – 1150 (640) ND – 1200 (460)	Albanis et al. (1994)
France (Rade de Brest) Faou Daoulas Camfrou Kerouille Roscanvel Moulin neuf	Baies - été	ND – 208 (104) ND – 112 (56) 23 2 24 – 102 (63) (18 – 68) 43	Arzul et Durand (1999)
France (Baie de Bourgneuf) Faible salinité Salinité moyenne Forte salinité	Baies - été	25 ND ND	Tronczynski et al. (1999)
France (Baie de l'Aiguillon) Faible salinité Salinité moyenne Forte salinité	Baies - été	17 12 ND	Tronczynski et al. (1999)
France (Bassin d'Arcachon) Lanton Eyre Autres rivières Port d'Arcachon La Vigne Les Jacquets Tessillat	Rivières - été    Ports - été Baies - été	ND – 7 (1) ND – 122 (21) ND ND – 4 (1) ND – 4 (1) ND ND – 11 (2)	Présente étude

**Tableau 23** : Concentrations enalachlore (limite inférieure - limite supérieure (moyenne)) dans différents milieux aquatiques (ng/l). ND : non détectable.

### Ecotoxicité

D'après les quelques valeurs d'écotoxicité dont on dispose pour cette molécule (Tableau 24), les concentrations mesurées dans le Bassin ne semblent pas poser de problèmes pour le phytoplancton.

Espèce cible	Seuil d'inhibition	EC50	Auteur
<i>Chaetoceros gracilis</i> Milieu optimal	Pas d'inhibition jusqu'à 10 µg/l		Arzul et Durand, 1999
Milieu minimal	100 ng/l 25 ng/l : pas d'inhibition 100 ng/l : 10 % d'inhibition		
<i>Selenastrum sp.</i>	4 µg/l	6 µg/l	Fairchild et al. (1997)

**Tableau 24** : Ecotoxicité de l'alachlore sur différentes espèces phytoplanctoniques.

### 3.2.6. Métolachlore

Le métolachlore est un herbicide sélectif utilisé sur le sorgho, le maïs, le soja et le tournesol. Il est assez soluble ( $S = 0,53$  g/l), se retrouvant facilement dans l'eau ( $KOC = 200$ ), légèrement bioaccumulable ( $\log P = 3,45$ ), assez toxique pour la faune aquatique et présentant des effets insidieux (mutagènes et cancérigènes).

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
Grèce (Macédoine) Axios Loudias Aliakmon	Rivières - été	ND – 500 (350) ND – 490 (240) ND – 630 (50)	Albanis et al. (1994)
France (Rade de Brest) Faou Daoulas Camfrou Kerouille Roscanvel Moulin neuf	Baies - été	ND – 261 (130) ND – 154 (77) 147 96 138 – 432 (285) (115 – 153) 134	Arzul et Durand (1999)
France (Baie de Bourgneuf) Faible salinité Salinité moyenne Forte salinité	Baies - été	ND ND ND	Tronczynski et al. (1999)
France (Baie de l'Aiguillon) Faible salinité Salinité moyenne Forte salinité	Baies - été	36 26 ND – 18 (6)	Tronczynski et al. (1999)
France (Bassin d'Arcachon) Cirès Lanton Eyre Autres rivières Port d'Arcachon La Vigne Les Jacquets Tessillat	Rivières - été     Ports - été Baies - été	ND – 22 (4) ND – 54 (13) ND – 167 (31) ND ND – 14 (4) ND – 4 (1) ND – 3 (0,5) 3 – 21 (7)	Présente étude

**Tableau 25** : Concentrations en métolachlore (limite inférieure - limite supérieure (moyenne)) dans différents milieux aquatiques (ng/l). ND : non détectable.

Le métolachlore est présent pendant tout l'été dans les eaux du Bassin (au Tessillat notamment) mais à de très faibles concentrations, du même ordre que celles qui ont été mesurées dans la Baie de l'Aiguillon (Tableau 25) et beaucoup plus faibles que dans la rade de Brest.

Ce pesticide, sans doute d'origine agricole, est apporté dans la Baie par certains cours d'eau (Eyre et Lanton, surtout). Dans l'Eyre, il n'atteint pas les teneurs élevées mesurées dans les rivières grecques échantillonnées par Albanis *et al.* (1994). En 1998, ce pesticide a également été décelé dans l'Eyre en mai et en juin, à des concentrations faibles, respectivement 52 et 60 ng/l (RNB Adour Garonne).

### Ecotoxicité

D'après les résultats des tests d'écotoxicologie (Tableau 26), on peut penser que les concentrations estivales mesurées dans le Bassin n'affectent pas le développement du phytoplancton.

Espèce cible	Seuil d'inhibition	EC50	Auteur
Chaetoceros gracilis Milieu optimal	10 µg/l 2 µg/l : pas d'inhibition 10 µg/l : 8 % d'inhibition		Arzul et Durand, 1999
Milieu minimal	100 ng/l 25 ng/l : pas d'inhibition 100 ng/l : 16 % d'inhibition		
<i>Navicula pelliculosa</i>		400 µg/l	CIBA GEYGY (source 3617 AGRITOX)
<i>Skeletonema</i>		60 µg/l	
<i>Selenastrum capricornutum</i>		14 µg/l	
<i>Selenastrum capricornutum</i>	4 µg/l	6 µg/l	Fairchild et al. (1997)

**Tableau 26** : Ecotoxicité du métolachlore sur différentes espèces phytoplanctoniques.

### 3.2.7. Simazine

La simazine est un herbicide systémique sélectif utilisé sur la vigne, les arbres et arbustes fruitiers et d'ornement, les asperges, la luzerne et le maïs.

Les concentrations estivales en simazine dans les cours d'eau arrivant au Bassin (notamment dans le Lanton) sont très faibles si on les compare aux zones dessalées de la Baie de Bourgneuf ainsi qu'aux rivières grecques et anglaises du Yorkshire. Elles sont du même ordre de grandeur que celles qui ont été mesurées dans la Baie de l'Aiguillon et dans les rivières du sud de l'Angleterre (Tableau 27).

En été 1999, cette molécule n'a pas été détectée dans les eaux du Bassin (sauf, une fois, en faible concentration, dans le port).

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
Angleterre (côte sud)	Rivières	8 – 18 (11)	Gough et al. (1994)
	Estuaires	ND – 74 (18)	
	Eaux côtières	ND – 12 (1)	
Angleterre (Yorkshire) Aire Trent Calder Don Ouse	Rivières	(140) (90) (220) (60) (20)	House et al. (1997)
Grèce (Macédoine) Axios Loudias Aliakmon	Rivières - été	ND – 240 (130) ND – 340 (130) ND – 60 (30)	Albanis et al. (1994)
France (Baie de Bourgneuf) Faible salinité Salinité moyenne Forte salinité	Baies - été	276 70 5 – 8 (7)	Tronczynski et al. (1999)
France (Baie de l'Aiguillon) Faible salinité Salinité moyenne Forte salinité	Baies - été	17 15 5 – 10 (7)	Tronczynski et al. (1999)
France (Bassin d'Arcachon) Lanton Ponteils Eyre Autres rivières Port d'Arcachon La Vigne Les Jacquets Tessillat	Rivières - été	ND – 48 (12) ND – 14 (2) ND – 5 (1) ND	Présente étude
	Ports - été	ND	
	Baies - été	ND	
		ND	

**Tableau 27** : Concentrations en simazine (limite inférieure - limite supérieure (moyenne)) dans différents milieux aquatiques (ng/l). ND : non détectable.

### Ecotoxicité

D'après les quelques références dont on dispose au sujet de la toxicité de la simazine vis à vis des microalgues (Tableau 28), les concentrations mesurées dans les cours d'eau seraient largement inférieures au seuil de toxicité pour les espèces testées.

Espèce cible	Seuil d'inhibition	EC50	Auteur
<i>Selenastrum capricornutum</i>	600 µg/l	1240 µg/l	Fairchild et al. (1997)
<i>Selenastrum capricornutum</i>	17 µg/l	79 µg/l	El Jay et al. (1997)
<i>Chlorella fusca</i>	17 µg/l		Arsalane et al. (1993)

**Tableau 28** : Ecotoxicité de la simazine sur différentes espèces phytoplanctoniques.

### 3.2.8. Dichlofluanid

Le dichlofluanid est un fongicide utilisé sur la vigne, la tomate, le fraisier et diverses cultures florales. Par ailleurs, il entre dans la composition de certaines peintures antisalissure. Il s'agit d'une molécule peu soluble ( $S = 0,002$  g/l), ayant tendance à s'adsorber sur les particules ( $KOC = 2000$ ), légèrement bioaccumulable ( $\log P = 3,70$ ), très toxique pour la faune aquatique, et qui présente des effets tératogènes.

Le dichlofluanid apparaît de manière plus ou moins sporadique dans les cours d'eau débouchant dans la Baie (Tableau 29).

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
France (Bassin d'Arcachon)	Rivières - été	ND - 57	Présente étude
Canal du Porge		ND - 10 (3)	
Cirès		ND - 90 (18)	
Ponteils		ND - 1133 (190)	
Eyre		ND	
Autres rivières		ND	
Port d'Arcachon	Ports - été	ND	
La Vigne	Baies - été	ND	
Les Jacquets		ND	
Tessillat		ND	

**Tableau 29** : Concentrations en dichlofluanid (limite inférieure - limite supérieure (moyenne)) dans différents milieux aquatiques (ng/l). ND : non détectable.

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature de mesures de ce pesticide réalisées dans d'autres milieux, si bien qu'il nous est impossible de situer les valeurs mesurées dans les rivières arcachonnaises par rapport à d'autres cours d'eau.

Un fait marquant pour cette molécule est son absence dans les eaux du Bassin en dépit de la concentration élevée (plus de 1 µg/l) qu'elle atteint, fin juin, dans l'Eyre. Deux caractéristiques du dichlofluanid peuvent expliquer ce phénomène. Tout d'abord, son KOC très élevé traduit la tendance de ce composé à se fixer sur les particules, particulièrement abondantes dans l'eau du sud-est de la Baie (Auby *et al.*, 1999). Par ailleurs, ce pesticide serait très rapidement dégradé en pH alcalin, comme c'est le cas de l'eau de mer (environ 8,2), et pourrait ainsi disparaître en arrivant dans cette eau marine. Ces particularités

expliqueraient également qu'on ne le retrouve pas dans les eaux du port d'Arcachon, bien qu'il soit utilisé dans les peintures antisalissure.

### 3.2.9. Oxadiazon

L'oxadiazon est un herbicide de contact, utilisé dans les plantations d'arbres fruitiers, de vigne, d'œillet, de tournesol, de soja, d'arbres et d'arbustes d'agrément et les gazons de graminées.

C'est une substance très peu soluble ( $S = 0,0007 \text{ g/l}$ ), qui a tendance à s'adsorber sur les particules ( $KOC > 1000$ ), légèrement bioaccumulable, assez toxique sur la faune aquatique et dépourvu d'effets insidieux.

Comme la molécule précédente, l'oxadiazon se trouve quelquefois dans les cours d'eau (Tableau 30), mais on ne le retrouve pas dans le Bassin (sauf dans le port, à une occasion), sans doute à cause de ses caractéristiques chimiques. On ne dispose d'aucune référence concernant sa présence dans d'autres zones côtières, ni sa toxicité sur les microalgues.

Localité	Milieu - saison	Concentration (ng/l)	Auteur
France (Bassin d'Arcachon)	Rivières - été		Présente étude
Cirès		ND – 20 (3)	
Lanton		ND – 30 (10)	
Eyre		ND – 88 (15)	
Autres rivières		ND	
Port d'Arcachon	Ports - été	ND	
La Vigne	Baies - été	ND	
Les Jacquets		ND	
Tessillat		ND	

**Tableau 30** : Concentrations en oxadiazon (limite inférieure - limite supérieure (moyenne)) dans différents milieux aquatiques (ng/l). ND : non détectable.

### 3.2.10. Autres molécules

Quelques autres molécules apparaissent très sporadiquement dans les cours d'eau ou dans le Bassin.

La terbuthylazine a été détectée dans l'Eyre une fois en juin à une concentration de 34 ng/l, et on l'a retrouvée au Tessillat à une concentration dix fois moindre (3 ng/l). Son produit de dégradation le DET apparaissait dans l'Eyre à la même époque (73 ng/l). Ces concentrations sont du même ordre que celles que Tronczynski *et al.* (1999) ont mesurées en juin 1998 dans la Baie de l'Aiguillon et moins fortes que celles de la Baie de Bourgneuf. Il s'agit d'un herbicide utilisé principalement sur la vigne et certains arbres fruitiers, non bioaccumulable et moyennement dangereux pour la faune aquatique.

L'aminotriazole, un autre herbicide utilisé sur le même type de cultures que le précédent ainsi que sur les zones cultivées après récolte est apparu, à une occasion, dans l'Eyre (début juillet : 170 ng/l). Ce composé extrêmement soluble ( $S = 280 \text{ g/l}$ ) n'est pas bioaccumulable et ne présente pas de danger pour la faune aquatique.

Le tébutame n'est apparu que deux fois dans les cours d'eau (une fois dans le Pontails et une autre dans l'Eyre), à de très faibles concentrations (respectivement 14 et 27 ng/l). Bizarrement, dans le Bassin, on ne l'a détecté qu'à la Vigne, à 2 reprises (concentrations de

14 et 4 ng/l). Cette localisation suggère qu'une source de cet herbicide très soluble ( $S = 1,2$  g/l) et peu toxique, se trouve sur la côte nord-ouest du Bassin.

Le folpel, fongicide presque insoluble, peu bioaccumulable, moyennement toxique et utilisé sur le pommier, la vigne, la pomme de terre, le pois et la tomate, a été détecté deux fois dans l'Eyre (6 et 8 ng/l) et une fois dans le canal du Porge (10 ng/l).

Enfin, malgré la récente interdiction de son usage en France, comme dans d'autres pays européens, du lindane a été détecté à une occasion dans l'Eyre (7 ng/l) et une fois dans le port d'Arcachon, en concentration relativement élevée (102 ng/l). La présence de puissant insecticide provient sans doute d'un usage urbain localisé. Cette molécule est dangereuse pour la faune aquatique

#### 4. Conclusion

Cette étude a permis de faire le point sur les principaux contaminants susceptibles de parvenir au Bassin et d'affecter le développement des larves ou du phytoplancton qui leur sert de nourriture. Une attention particulière a été portée aux pesticides, dont les concentrations dans les eaux du Bassin n'avaient jusque là fait l'objet d'aucune mesure.

Pour chacune de ces contaminants, nous avons tenté de définir à quel secteur d'activité se rattachait son origine, de caractériser son niveau de concentration dans la Baie par rapport à d'autres systèmes aquatiques (et, quand c'était possible, par rapport aux années précédentes dans le Bassin) et de définir si ce niveau de concentration était ou non susceptible d'affecter le développement des organismes aquatiques.

En ce qui concerne **l'origine** des pesticides présents dans le Bassin, nous avons mis en évidence l'absence d'impact du traitement des forêts et de la démoistation au cours de l'été 1999. Par contre, il est apparu que l'agriculture et le nautisme, activités qui ont connu une forte expansion depuis vingt ans sur le Bassin ou sur son bassin versant, sont des sources de pesticides pour le milieu aquatique pendant l'été. Par ailleurs, l'activité nautique (professionnelle et de plaisance) est source d'apports en métaux, *via* l'utilisation des peintures antisalissure (étain par le passé, cuivre actuellement) et en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), *via* le carburant des moteurs. Enfin, ces HAP et certains pesticides proviennent des activités urbaines liées à la circulation automobile et des pratiques ostréicoles pour les premiers et à l'entretien des espaces verts publics ou privés pour les seconds.

Les **niveaux de concentration** en **cuivre** dans les huîtres (mesurées dans le cadre du Réseau National d'Observation) augmentent dans le Bassin depuis une dizaine d'années, sans doute en raison des quantités importantes de ce métal utilisées dans les peintures antisalissure. Néanmoins, les teneurs mesurées à Arcachon restent bien en dessous de la moyenne des concentrations mesurées dans les huîtres de la côte atlantique française. Par ailleurs, nous avons souligné que les concentrations en ce métal n'étaient pas particulièrement plus élevées en 1998 qu'au cours des années précédentes.

Les concentrations en **TBT** dans les eaux du Bassin ont tendance à diminuer au cours du temps, comme l'ont montré les analyses réalisées en 1992 et 1997 par Michel et Averty (1996, 1998). Par contre, il est indéniable que cette molécule est toujours présente à des niveaux détectables dans la Baie, aussi bien dans les sédiments, portuaires notamment (analyses IEEB et Université de Pau) que dans la matière vivante (analyses Université de

Pau). L'étude réalisée en 1995 par Fernandez-Castro *et al.* (1995) sur l'imposex des bigorneaux perceurs confirme cette observation.

Toutefois, l'hypothèse d'un relargage du TBT contenu dans les sédiments portuaires lors de leur dragage au printemps précédant la saison de reproduction 1998 nous est rapidement apparue comme non avenue et ceci pour plusieurs raisons.

D'une part, les analyses de TBT dans l'eau réalisées pendant l'été 1998 (P. Michel, résultats non publiés) n'ont pas permis de déceler la présence de cette molécule dans les eaux de la Baie. D'autre part, au printemps et en été 1998, on n'a pas observé de chambrage des huîtres, signe précoce d'une pollution due au TBT, ni dans la zone proche de ces dragages (Arams), ni dans d'autres parties du Bassin. Enfin, en 1998, les larves se développaient normalement pendant les premiers stades, alors que, lors de la crise TBT, c'étaient justement ces jeunes stades larvaires qui étaient affectés. On peut également penser que la récente prolifération des bigorneaux perceurs dans certaines zones de la Baie, rapportée par de nombreux professionnels, est un signe supplémentaire de la diminution des teneurs en TBT dans le Bassin, *via* la réduction des phénomènes d'imposex.

**Les concentrations estivales en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)** dans les eaux du Bassin sont relativement faibles, en dépit de l'importance de l'activité nautique qui s'y développe à cette saison. On remarquera cependant que certains secteurs (Les Jacquets, en l'occurrence) sont autant contaminés par ces hydrocarbures que le port d'Arcachon.

Si l'on ne connaît pas l'effet de telles concentrations en HAP sur la physiologie du phytoplancton, on sait en revanche qu'elles n'induisent aucun dysfonctionnement dans le développement des larves de *Crassostrea gigas*.

Plus d'une dizaine de pesticides (herbicides principalement) ont été détectés pendant l'été 1999 dans le Bassin et les principaux cours d'eau débouchant dans la Baie.

Comme on l'a déjà mis en évidence pour le nitrate, l'Eyre est le principal vecteur de **pesticides** d'origine agricole (atrazine, alachlore, métolachlore, oxadiazon, dichlofluanid) dans la Baie, à la fois à cause de l'importante occupation maïsicole de son bassin versant et de son débit relativement élevé (Auby *et al.*, 1994). Certaines des molécules transportées par cette rivière se retrouvent au niveau du Tessillat, c'est à dire dans la principale zone de captage du Bassin, diluées environ au 10<sup>ème</sup>, selon la même droite de dilution que le nitrate. Le Lanton charrie également un certain nombre de pesticides, mais l'impact dans la Baie de ces apports est moindre, en raison du faible débit de ce cours d'eau.

Un herbicide, le MCPA, provenant probablement à la fois de sources agricoles, *via* les cours d'eau, et de sources plus diffuses (traitement des espaces verts), est omniprésent dans l'ensemble du Bassin.

Les pesticides provenant des peintures antisalissure (diuron et irgarol) sont fréquemment détectés dans les zones orientales du Bassin, c'est à dire également dans les zones de captage. Ils proviennent vraisemblablement à la fois des navires mouillés à l'extérieur des ports (Jacquets) et de la vidange des ports des côtes sud et est du Bassin (Tessillat).

Sauf pour le MCPA les concentrations en pesticides mesurées dans le Bassin ne sont pas très élevées par rapport à d'autres milieux côtiers.

D'une façon générale, ces concentrations sont bien inférieures au seuil de toxicité pour les espèces animales aquatiques, sauf pour l'atrazine, dont les teneurs parfois mesurées dans l'Eyre peuvent induire des désordres dans la structure hépatique du mullet *Liza ramada*.

Toutefois, comme nous l'avons vu en étudiant les résultats des tests d'écotoxicité, la concentration d'une de ces molécules (diuron) serait suffisante pour inhiber le développement de petites espèces phytoplanctoniques (dont se nourrissent les larves d'huîtres), lorsque le milieu est pauvre en nutriments. Cette situation est caractéristique des

conditions estivales dans les zones côtières et, comme nous l'avons montré dans le chapitre 3, la pauvreté en azote était particulièrement marquée au cours de l'été 1998.

Par ailleurs, il a été démontré qu'un autre de ces biocides (irgarol) peut s'accumuler fortement dans le tissu foliaire des grandes zostères. Si l'utilisation de cette molécule dans les peintures antisalissure venait à s'accroître, l'augmentation de sa concentration dans l'eau pourrait poser des problèmes pour le développement des herbiers eux-mêmes et secondairement pour la faune qui y est associée (seiches, poissons et crevettes notamment). Il faut également remarquer que les tests d'écotoxicologie ne s'appliquent qu'à une molécule à la fois, alors que dans le milieu naturel, plusieurs composés sont mélangés. Des recherches sur la synergie de ces différents produits restent donc à réaliser pour s'assurer de l'innocuité de faibles concentrations en pesticides sur le développement des petites espèces phytoplanctoniques.

Notre étude a permis de montrer qu'aucun biocide nouveau et particulièrement toxique pour les organismes aquatiques n'a été introduit dans les peintures antisalissure entre 1997 et 1998, et que les quantités de biocides utilisés dans cette activité étaient similaires au cours des deux années. On peut alors penser que les concentrations dans l'eau de ces molécules n'ont pas varié significativement entre 1997 et 1998. Par ailleurs, d'après les fabricants, il n'y a pas de raison pour que le marché des peintures se soit radicalement modifié entre ces années et 1999, si bien que nos mesures rendent probablement compte de la situation établie depuis quelques années en matière d'impact des peintures antisalissure sur le milieu.

En ce qui concerne les pesticides agricoles, on peut également penser que les pratiques culturales ne se sont pas fortement modifiées pendant les trois dernières années, si bien qu'il est peu probable qu'une ou des nouvelles molécules aient été rajoutées dans les traitements appliqués en 1998 en quantité suffisamment importante pour provoquer un impact négatif sur les larves ou sur leur nourriture. Au niveau des molécules suivies depuis plusieurs années (1994) dans l'Eyre dans le cadre du Réseau National de Bassin Adour-Garonne, l'été 1998 ne révèle pas de valeur particulièrement élevée de l'un ou l'autre de ces composés par rapport aux années précédentes. Les concentrations des pesticides d'origine agricole mesurées en 1999 n'étaient pas particulièrement inquiétantes en matière d'impact sur les populations phytoplanctoniques du Bassin, et il y a de fortes chances pour que tel ait été également le cas en 1998 (sauf accident ponctuel qui aurait échappé au suivi du RNB).

Dans le cas particulier du MCPA (utilisation agricole + espaces verts), on ne dispose d'aucune information temporelle, cette molécule n'étant pas suivie dans le cadre du RNB.

En conclusion, nous n'avons pas pu mettre en évidence l'apparition en 1998 d'un nouveau pesticide ni une augmentation de la concentration dans l'eau d'un pesticide qui s'y trouvait déjà, qui pourraient expliquer le déficit de captage au cours de cet été là. Toutefois, plusieurs remarques doivent être ajoutées à cette constatation.

D'une part, il faut garder présent à l'esprit que l'impact d'un biocide est différent selon les conditions du milieu dans lequel il s'applique, et les conditions hydrologiques de 1998 étaient assez particulières. D'autre part, l'inventaire des biocides potentiellement toxiques que nous avons réalisé ne pouvait être totalement exhaustif, notamment au niveau des produits de dégradation des molécules utilisées, sur lesquels on ne dispose pas toujours de données d'écotoxicité. Il n'est donc pas exclu qu'un ou des produits toxiques pour les organismes n'ait pas été dosé au cours de la campagne de l'été 1999.

Pour le futur, il s'agira d'affiner ces listes et de rester vigilant quant à l'introduction de nouveaux biocides et/ou à l'éventuelle augmentation de la teneur de certaines molécules déjà présentes dans les eaux du Bassin, dont on a vu qu'elles dépassaient le seuil d'innocuité pour certaines espèces aquatiques.

A cet égard, il semblerait utile de poursuivre dans les années futures l'étude entreprise en 1999 sur les biocides.

## Chapitre 7

### Tests d'écotoxicologie larvaire réalisés pendant l'été 1999.

#### 1. Introduction

Depuis les années 1960-70, à la suite des travaux de Davis (1961), Calabrese et Davis (1967, 1970) et Calabrese *et al.* (1973, 1977), il est apparu que les stades jeunes (œufs et embryons) de Bivalves sont un matériel biologique de choix pour les expériences de toxicologie. En effet, ces stades précoces chez les Bivalves marins sont particulièrement sensibles aux facteurs d'agression. Pour cette raison, ils peuvent être considérés comme des organismes sentinelles de la qualité du milieu marin côtier et toute altération de la reproduction de ces mollusques peut constituer un signe de dégradation de la qualité de l'eau dans laquelle ils se développent.

Par ailleurs, les progrès réalisés dans la reproduction des Bivalves en milieu contrôlé au cours de ces vingt dernières années permettent à présent de réaliser des tests relativement standardisés, en utilisant ces stades précoces, pour étudier la qualité de l'eau dans laquelle on les place en élevage.

A la suite de l'échec de la reproduction en 1998, et à la lumière des observations précédentes réalisées pendant et à la suite de la crise TBT (His, 1991), il nous semblait donc logique et nécessaire d'appliquer utiliser ces tests pour déterminer si la qualité des eaux du Bassin était suffisante pour autoriser le développement larvaire de l'huître creuse.

#### 2. Méthodes

La technique utilisée pour ces expériences est celle qui a été mis au point par His au laboratoire IFREMER d'Arcachon au cours de travaux réalisés depuis le début des années 1980.

Ces expériences ont été réalisées à deux reprises au cours de l'été 1999, en juillet (ponte déclenchée le 8 juillet) et en août (ponte déclenchée le 12 août), afin de couvrir la période de reproduction naturelle dans le Bassin.

##### 2.1. Eaux testées

Les eaux provenant de quatre sites ont été testées : Bouée 7 (à l'entrée du Bassin, servant de témoin), La Vigne, Les Jacquets et Comprian (Figure 26).



**Figure 26** : Localisation dans le Bassin d'Arcachon des stations de prélèvement d'eau utilisée pour les tests d'écotoxicité.

De l'eau fraîche était prélevée tous les trois jours, autour de la haute mer pour les coefficients de morte eau et au descendant pour les coefficients de vive eau. Lors de leur prélèvement, la salinité de ces eaux était mesurée.

## 2.2. Ponte et fécondation

Les pontes sont réalisées à partir de géniteurs mûrs du Bassin d'Arcachon, en stimulant leur ponte à l'aide de chocs thermiques. En effet, des expériences préalables ont montré qu'il s'agit de la meilleure méthode pour obtenir des gamètes véritablement matures.

Les géniteurs sont soigneusement brossés et lavés à l'eau de mer de façon à les débarrasser de leurs épibiontes. Ils sont placés dans des bacs en matière plastique fraîchement ébouillantés contenant 10 l d'eau de mer filtrée à 0,2 µm à une température de 28°C pendant 45 minutes. Puis ils sont transférés dans un autre bac dont l'eau est à 15°C, pendant 30 minutes. La ponte se déclenche généralement au bout de deux à trois transferts successifs.

Lorsque les huîtres commencent à émettre leurs produits sexuels, elles sont individuellement transférées dans des béciers stériles contenant de l'eau de mer filtrée à 0,2 µm où elles sont maintenues pendant 2 minutes. Elles sont ensuite transférées dans un nouveau bécier dans lequel on les laisse produire soit leurs ovocytes pour les femelles, soit leur sperme pour les mâles.

Les ovocytes émis sont filtrés sur un tamis en acier inoxydable stérilisé (100 µm de porosité) afin d'éliminer les éventuelles salissures, et récupérés sur un tamis de 32 µm. Ils sont ensuite soigneusement rincés à l'eau de mer filtrée, déversés dans une éprouvette graduée stérile d'1 l de volume, homogénéisés à l'aide d'un agitateur et comptés dans 4 prélèvements de 0,1 cm<sup>3</sup>.

Les ovocytes sont ensuite répartis à raison de 30 000/l dans des béciers stériles de 2 l contenant l'eau de mer à tester filtrée à 0,2 µm. Ils sont fécondés à l'aide de 1,5 ml d'une suspension dense de sperme fraîchement émis.

Pour chaque eau testée, 3 réplicats ont été réalisés.

Les béciers sont ensuite placés dans une enceinte thermostatée maintenue à 24 °C.

## 2.3. Conduite des élevages larvaires

Les larves D sont formées 24 h après la fécondation chez *Crassostrea gigas*. Dans chaque élevage, les larves sont récupérées sur un tamis en acier inoxydable stérilisé de 32 µm de porosité, rincées avec de l'eau de mer filtrée à 0,2 µm. Un prélèvement à la pipette Pasteur est effectué et les larves sont examinées au microscope sur une lame creuse stérile.

Puis elles sont réparties à raison de 4 larves/ml dans des béciers stériles de 2 l remplis de l'eau de mer à tester fraîchement filtrée à 0,2 µm.

Les élevages sont conduits pendant un temps variant entre 9 (expérience d'août) et 11 (expérience de juillet) jours. Ils sont maintenus dans une enceinte thermostatée à 24°C à l'obscurité. L'eau est changée tous les deux jours et les larves sont observées au cours de ces renouvellements.

La nourriture (cellules phytoplanctoniques) est dispensée quotidiennement aux larves en rajoutant dans les béciers *Isochrysis galbana* (50 cellules/µl élevage) et *Chaetoceros calcitrans forma pumilum* (50 cellules/µl élevage).

## 2.4. Les observations

Les pourcentages d'anomalies larvaires (anomalies du vélum ou des charnières) et les mortalités n'ont pas fait l'objet d'un suivi systématique mais d'une rapide évaluation.

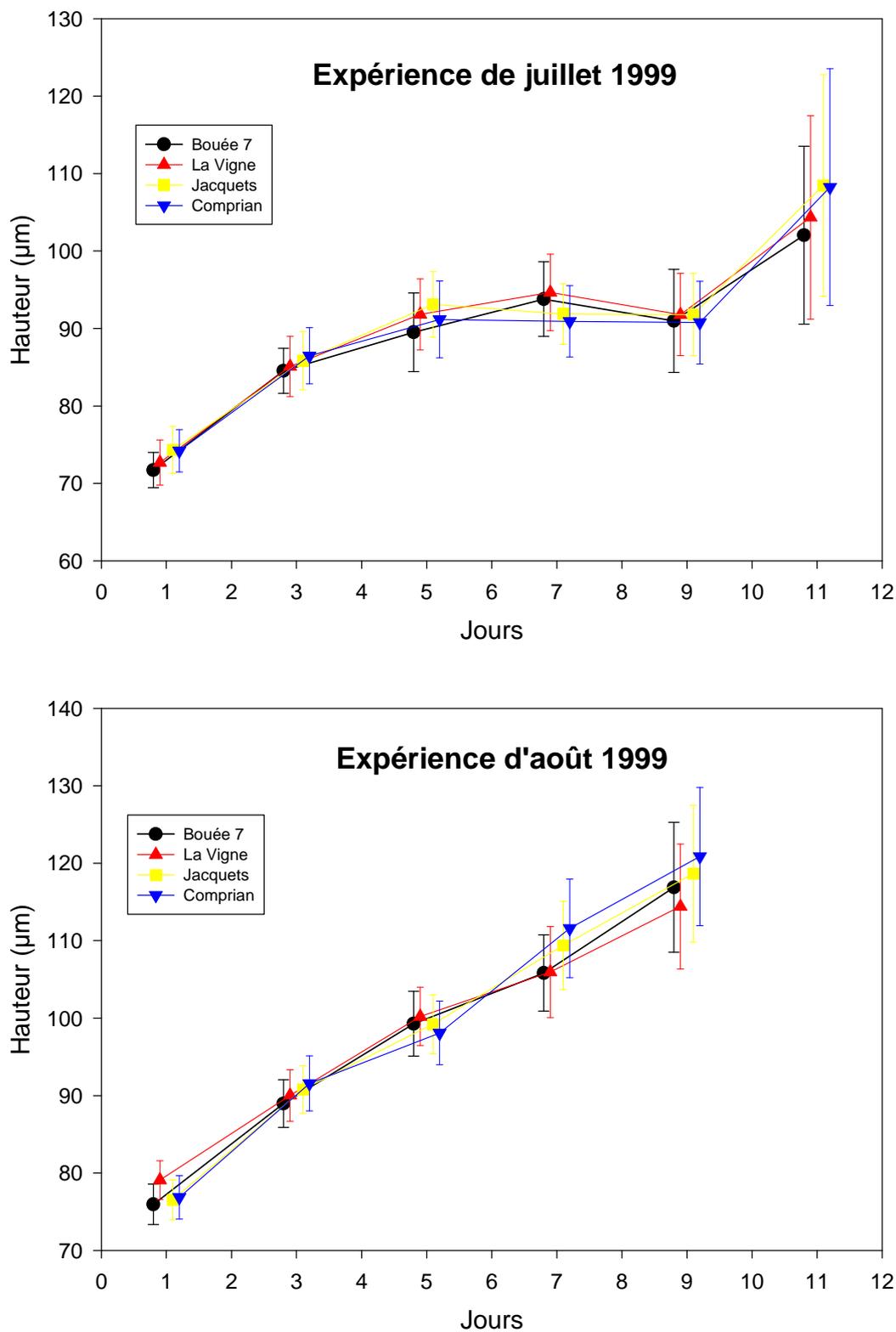
La croissance larvaire a été estimée à partir de mesures de hauteur des larves réalisées sur des clichés photographiques (30 individus par élevage, soit 90 individus par type d'eau testée) à l'aide d'une loupe binoculaire munie d'un micromètre oculaire. Ces clichés étaient réalisés tous les 2 jours à partir de la formation des larves "D" (1 jour).

### **3. Résultats**

Selon His (1991), les résultats d'expérience peuvent être considérés comme satisfaisants lorsque, dans les lots témoins, la mortalité ne dépasse pas 10 % et que le pourcentage d'anomalies n'est pas supérieur à 5 %.

Ces conditions étaient réalisées dans nos élevages témoins constitués par les lots de larves élevés dans l'eau provenant de la zone de la bouée 7. Dans les autres élevages, les taux de mortalité et le pourcentage d'anomalies était également très bas.

Les résultats des suivis de croissance sont présentés sur la figure 27.



**Figure 27** : Croissance larvaire de *Crassostrea gigas* dans de l'eau du Bassin d'Arcachon prélevée dans différents secteurs.

Les vitesses de croissance obtenues au cours de ces deux expériences ne sont pas particulièrement élevées, notamment lors de celle du mois de juillet. D'après His (com. pers.), il est probable que la qualité des algues fourrage utilisées au cours de la première expérience soit responsable de cet état de fait.

En effet, bien que le mélange de ces deux espèces soit bien adapté à nourrir les larves d'huître creuse, il n'est pas exclu que leur qualité soit médiocre.

Ces observations illustrent bien l'importance de la qualité des sources nutritionnelles sur la croissance larvaire.

Pour les deux expériences, les hauteurs atteintes par les larves ne sont jamais significativement différentes pour les quatre eaux testées, même si les lots de larves "Comprian" et "Jacquets" présentent, en fin d'expérience, des tailles légèrement plus élevées que les deux autres lots. Cette meilleure croissance peut être due au fait que la salinité des eaux de la partie est du Bassin était légèrement moins élevée que celle de l'entrée de la Baie (selon les coefficients, de 1 à 3 ‰).

Au cours de la seconde expérience, le stade "évolué" a été atteint après un laps de temps normal (entre 5 et 7 jours).

#### 4. Conclusion

On peut donc conclure de ces expériences que la qualité chimique des différentes masses d'eau étudiées au cours de l'été 1999 était similaire à celle du témoin (eau provenant de l'entrée de la Baie), c'est-à-dire qu'aucun polluant présent dans l'une ou l'autre des parties internes de la Baie n'empêchait directement les larves de s'y développer, au moins jusqu'au stade umboné (larves "moyennes").

Ces résultats sont en accord avec la réussite de la saison de reproduction 1999. En l'absence de résultats d'expériences en 1998, il est difficile d'affirmer avec certitude que les problèmes de la reproduction au cours de cette année-là n'ont pas été déterminés par une contamination chimique.

On serait alors tenté de proposer la mise sur pied d'un suivi expérimental régulier de ce type qui permettrait peut-être, si la reproduction échouait à nouveau, de préciser l'origine de la pollution qui pourrait alors être mise en cause. Néanmoins, deux éléments prèchent en la défaveur de cette possibilité.

Tout d'abord, il faut souligner que la mise en œuvre de ce type d'expériences est très contraignant, qu'il nécessite des infrastructures matérielles (permettant de réaliser dans de bonnes conditions les cultures de phytoplancton et les élevages larvaires) et humaines (qualification et disponibilité) importantes. A cet égard, la bonne marche des tests réalisés en 1999 n'a été possible que grâce au soutien et à l'expérience de l'équipe DEL/PC arcachonnaise (E. His et O. Geffard). La mise en place d'un suivi régulier de ce type nécessiterait que la présence de ce laboratoire perdure à Arcachon.

De plus, comme l'ont démontré les travaux de His (1991) lors de la crise TBT, l'impact des faibles concentrations de polluants sur les larves s'exerce souvent *via* l'impact de ces molécules sur le maillon trophique précédent, c'est à dire sur les petites espèces phytoplanctoniques qui leur servent de nourriture.

Pour cette raison, il pourrait sembler plus adapté de focaliser les expériences d'écotoxicologie sur ces algues fourrages, comme l'avait déjà réalisé His (1991) pour le TBT et His et Seaman (1993) pour différents pesticides.

## Discussion générale

Le grave déficit de captage survenu en 1998 dans le Bassin d'Arcachon a conduit à mettre en place une étude complète de la reproduction de l'huître dès l'été 1999, avant tout afin de pouvoir analyser ce phénomène s'il venait à se reproduire. La saison 1999 ayant été excellente, nous nous trouvons dans la situation d'étudier *a posteriori* un dysfonctionnement ayant eu lieu au cours de l'année précédente. Nos recherches ne peuvent donc pas apporter de réponse définitive sur les causes de cet évènement.

Néanmoins, la compilation des données anciennes, l'examen des données existantes de 1998 et les résultats des travaux qui ont été entrepris en 1999 ont permis de dégager un certain nombre de réponses aux hypothèses avancées, de faire le point sur les niveaux de pollution et de mettre à jour les pistes de travail à explorer dans les années futures.

Cette partie reprend les conclusions des chapitres précédents

### 1. Importance et qualité des pontes en 1998

La saison de reproduction 1998 a été marquée par une rareté exceptionnelle de larves aux stades les plus évolués ("grosses" et "en fixation") à la fois dans les secteurs est et ouest du Bassin. En revanche, les effectifs des premiers stades larvaires (larve D, évoluée et moyenne) paraissent avoir été du même ordre de grandeur que les autres années.

Ces observations nous incitent à penser que la qualité des gamètes et des réserves vitellines n'est pas en cause dans le phénomène étudié. En effet, l'utilisation des réserves vitellines est déterminante pendant les premières phases du développement larvaire (His et Maurer, 1987). Si la qualité des gamètes n'avait pas été bonne, des anomalies de croissance et d'évolution auraient été rapidement perceptibles et n'auraient pas permis que les larves parviennent normalement au stade "moyenne".

D'autres résultats viennent renforcer cette idée. Des élevages des premiers stades larvaires, menés durant l'été 1998 à partir de gamètes issus de géniteurs ayant maturé dans le Bassin, se sont parfaitement déroulés, les larves n'ayant présenté aucun problème de viabilité (travail réalisé au laboratoire IFREMER DEL/PC d'Arcachon par O. Geffard). On peut donc penser que **la qualité des gamètes produits au cours de cet été 1998 dans le Bassin était satisfaisante et permettait le bon déroulement des premières phases de la reproduction.**

### 2. Climatologie et physico-chimie de l'eau

La première hypothèse se rapportait aux particularités climatiques de l'année 1998 comparativement aux années précédentes et à l'année suivante. Nous avons montré que le mois de juillet de cette année a été particulièrement froid (marqué par une chute brutale de

la température) et l'été peu pluvieux (salinité relativement élevée, très faibles teneurs en nitrate) par rapport à d'autres années.

Le paramètre salinité ne peut absolument pas être impliqué dans la disparition des larves au cours de l'été 1998. Les préférences de l'espèce *Crassostrea gigas* sont bien connues et sont comprises entre des valeurs de 25 à 30. Toutefois, il a été démontré que des salinités de 32 à 35, valeurs observées dans le Bassin au cours de l'été 1998, ne peuvent en aucun cas affecter la viabilité des larves et que leur croissance n'est que faiblement réduite par rapport à celle mesurée à des salinités plus faibles.

La chute brutale de température (de 22 à 20,2 °C) observée quelques jours après la ponte massive du début du mois de juillet a sans doute ralenti le développement des larves. En milieu naturel, cette augmentation du délai de vie larvaire agit négativement sur le recrutement du naissain en favorisant la dispersion des larves hors des secteurs de captage et en accroissant la mortalité naturelle et la prédation de ces stades larvaires particulièrement fragiles.

Toutefois, nous avons vu que le mois de juillet 1988 a présenté la même chute de température de l'eau sans que le développement larvaire en ait semblé affecté.

Par ailleurs, la température de l'eau n'a pas présenté d'anormalité après la seconde ponte importante du mois de juillet 1998. Ce facteur ne nous semble donc pas pouvoir expliquer la défaillance du développement larvaire au mois d'août.

**Les particularités des conditions climatiques et hydrologiques de l'été (défavorables sur le plan de la température) n'apportent pas, à elles seules, d'explication totalement satisfaisante à la disparition des larves d'huîtres au cours de leur évolution pendant l'été 1998.**

### 3. Nutrition larvaire

Bien que les larves de l'huître creuse *Crassostrea gigas* soient particulièrement exigeantes en matière d'alimentation, elles se nourrissent cependant, dans le milieu naturel, sur une très large gamme de tailles et de types de nourritures comme toutes les larves de Bivalves.

La larve de *C. gigas* peut capturer et ingérer des particules de taille inférieure à 1 µm aussi bien que des particules de plusieurs µm de longueur. La limite supérieure est déterminée par le faible diamètre de sa bouche et de son œsophage qui empêche l'ingestion de particules de plus de 10 µm pour les jeunes stades (larves < 130 µm de longueur) et de 20 à 30 µm pour les stades plus âgés (200 à 300 µm).

Le phytoplancton est une très importante source d'énergie pour les larves mais il est maintenant démontré que ce n'est pas la seule nourriture disponible. Ainsi les larves peuvent trouver, en plus des algues ultraplanktoniques (taille < 10 µm), un apport de nourriture dans les algues picoplanktoniques (taille < 2 µm), la matière organique dissoute (MOD), les détritiques, les bactéries et les protozoaires (ciliés par exemple).

D'après la littérature, la majeure partie du volume de nourriture ingérée est, en général, constituée de particules d'une taille inférieure à 12 µm. Le picoplankton peut représenter de 20 à 90 % de ce volume, ce pourcentage étant d'autant plus élevé que la larve est petite. Deux à 40 % du volume ingéré peuvent provenir de particules dont la taille est comprise entre 3 et 5 µm tandis que 5 à 20 % correspondent à des particules de 5 à 10 µm.

Mais il semble aussi que les larves puissent modifier en partie leur comportement alimentaire selon les caractéristiques de la nourriture à leur disposition. Ainsi, en cas de

blooms phytoplanctoniques d'espèces de plus grande taille, les cellules supérieures à 10 µm peuvent alors représenter 20 à 30 % du volume ingéré.

La saison estivale dans le Bassin d'Arcachon est caractérisée par une grande richesse quantitative et qualitative en ultraplancton (Guillocheau, 1988). Les observations faites en 1999 confirment celles de Guillocheau (1988) et les complètent. Le Bassin d'Arcachon présente en période estivale les caractéristiques d'une eau marine côtière compte tenu des composantes du plancton qui s'y développent et de leur richesse relative : dominance du picoprocaryote *Synechococcus*, importance qualitative et quantitative des picoeucaryotes, **grande abondance et diversité de l'ultraplancton**. Durant l'été 1999, ces composantes du plancton ainsi que les bactéries, **toutes susceptibles de servir à l'alimentation larvaire**, s'y sont bien développées. Les niveaux observés se situent dans des gammes apparemment suffisantes pour assurer la réussite complète de la vie larvaire. La variété des aliments disponibles (en particulier richesse spécifique importante du pico et de l'ultraplancton) semble aussi un très bon atout quant à la qualité de la nourriture. La très bonne réussite du captage lors de cet été 1999 le confirme sans équivoque.

En l'absence d'observations spécifiques **au cours de l'été 1998**, seules quelques réflexions peuvent être apportées.

- ⇒ Les éléments dont nous disposons semblent indiquer que rien d'anormal ne se soit passé sur le plan microalgal. La biomasse phytoplanctonique a été plutôt élevée et les deux formes ultraplanctoniques qui ont été dénombrées se sont bien développées. L'une, l'espèce *Skeletonema costatum*, pourrait servir à l'alimentation des larves en milieu naturel. Nous n'avons pas d'éléments quant à l'autre. Nous ne savons pas si ces deux formes suffiraient à assurer le bon développement des véligères d'huîtres, ni si d'autres sources de nourriture ont été à la disposition des larves, même si rien ne permet d'affirmer le contraire.
- ⇒ En revanche, il est certain qu'il n'y a pas eu de développement d'espèces phytoplanctoniques toxiques connues pouvant être incriminées dans les problèmes de survie larvaire.

Les exigences des larves de l'huître creuse *Crassostrea gigas* en matière d'alimentation sont importantes surtout durant les premières phases de leur vie pélagique. A cette période, la disponibilité d'une nourriture adéquate est primordiale pour le succès de leur développement. En 1998, le bon déroulement de l'évolution larvaire entre les stades "larve D" et "larve moyenne", déjà évoqué ci-dessus, incite à penser que les véligères n'ont pas manqué de nourriture pendant les premiers jours de leur vie.

Par la suite, les larves sont beaucoup moins délicates sur le plan nutritionnel et peuvent, de plus, ingérer des particules de plus grande taille, augmentant ainsi l'éventail de leurs possibilités alimentaires. Pour cette raison, il est improbable qu'elles n'aient pas trouvé de nourriture dans les eaux du Bassin, alors que les plus jeunes larves avaient pu s'alimenter normalement.

**En conclusion, les éléments dont nous disposons ne nous conduisent pas à impliquer le facteur alimentaire dans l'explication du déficit du captage pendant l'année 1998.**

## 4. Pathologie

Les résultats obtenus lors de l'étude réalisée pendant l'été 1999 n'ont pas révélé la présence du virus herpès dans les populations de larves d'huîtres creuses du Bassin d'Arcachon. De même, les quelques lots de larves analysés en 1998 (PCR) ne semblaient pas porteurs de cette maladie.

Par contre, comme nous l'avons déjà souligné, ce virus a déjà été détecté dans certains lots de naissain arcachonnais au cours du printemps 1998. Ce virus est donc présent dans la Baie, ainsi que dans d'autres bassins ostréicoles et dans certaines écloséries françaises.

Quoique sa pathogénicité à l'égard des larves ait pu être établie expérimentalement, nous avons vu qu'en raison de sa biologie particulière, la présence de ce virus dans les populations d'huîtres n'occasionne pas obligatoirement le déclenchement de la maladie. Par exemple, en 1998, aucune mortalité importante de naissain n'a été observée dans le Bassin.

D'un autre côté, le faible nombre d'analyses réalisées sur les larves en 1998 et la méconnaissance des facteurs influant sur le déclenchement de la multiplication active de ce virus (conditions peut-être favorables pendant l'été 1998) rendent difficile d'affirmer avec certitude qu'il n'a pas été impliqué dans les problèmes de survie larvaire de cette année-là.

## 5. Contaminants

Cette étude a permis de faire le point sur les principaux contaminants susceptibles de parvenir au Bassin et d'affecter le développement des larves ou du phytoplancton qui leur sert de nourriture. Une attention particulière a été portée aux pesticides, dont les concentrations dans les eaux du Bassin n'avaient jusque là fait l'objet d'aucune mesure.

Pour chacune de ces contaminants, nous avons tenté de définir à quel secteur d'activité se rattachait son origine, de caractériser son niveau de concentration dans la Baie par rapport à d'autres systèmes aquatiques (et, quand c'était possible, par rapport aux années précédentes dans le Bassin) et de définir si ce niveau de concentration était ou non susceptible d'affecter le développement des organismes aquatiques.

En ce qui concerne **l'origine** des pesticides présents dans le Bassin, nous avons mis en évidence l'absence d'impact du traitement des forêts et de la démoustication au cours de l'été 1999. Par contre, il est apparu que l'agriculture et le nautisme, activités qui ont connu une forte expansion depuis vingt ans sur le Bassin ou sur son bassin versant, sont des sources de pesticides pour le milieu aquatique pendant l'été. Par ailleurs, l'activité nautique (professionnelle et de plaisance) est source d'apports en métaux, *via* l'utilisation des peintures antisalissure (étain par le passé, cuivre actuellement) et en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), *via* le carburant des moteurs. Enfin, ces HAP et certains pesticides proviennent des activités urbaines liées à la circulation automobile et des pratiques ostréicoles pour les premiers et à l'entretien des espaces verts publics ou privés pour les seconds.

Les **niveaux de concentration** en **cuivre** dans les huîtres (mesurées dans le cadre du Réseau National d'Observation) augmentent dans le Bassin depuis une dizaine d'années, sans doute en raison des quantités importantes de ce métal utilisées dans les peintures antisalissure. Néanmoins, les teneurs mesurées à Arcachon restent bien en dessous de la

moyenne des concentrations mesurées dans les huîtres de la côte atlantique française. Par ailleurs, nous avons souligné que les concentrations en ce métal n'étaient pas particulièrement plus élevées en 1998 qu'au cours des années précédentes.

Les concentrations en **TBT** dans les eaux du Bassin ont tendance à diminuer au cours du temps, comme l'ont montré les analyses réalisées en 1992 et 1997 par Michel et Averty (1996, 1998). Par contre, il est indéniable que cette molécule est toujours présente à des niveaux détectables dans la Baie, aussi bien dans les sédiments, portuaires notamment (analyses IEEB et Université de Pau) que dans la matière vivante (analyses Université de Pau). L'étude réalisée en 1995 par Fernandez-Castro *et al.* (1995) sur l'imposex des bigorneaux perceurs confirme cette observation.

Toutefois, nous n'avons pas retenu l'hypothèse d'un relargage du TBT contenu dans les sédiments portuaires lors de leur dragage au printemps précédant la saison de reproduction 1998 pour plusieurs raisons.

D'une part, les analyses de TBT dans l'eau réalisées pendant l'été 1998 (P. Michel, résultats non publiés) n'ont pas permis de déceler la présence de cette molécule dans les eaux de la Baie. D'autre part, au printemps et en été 1998, on n'a pas observé de chambrage des huîtres, signe précoce d'une pollution due au TBT, ni dans la zone proche de ces dragages (Arams), ni dans d'autres parties du Bassin. Enfin, en 1998, les larves se développaient normalement pendant les premiers stades, alors que, lors de la crise TBT, c'étaient justement ces jeunes stades larvaires qui étaient affectés. On peut également penser que la récente prolifération des bigorneaux perceurs dans certaines zones de la Baie, rapportée par de nombreux professionnels, est un signe supplémentaire de la diminution des teneurs en TBT dans le Bassin, *via* la réduction des phénomènes d'imposex.

**Les concentrations estivales en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)** dans les eaux du Bassin sont relativement faibles, en dépit de l'importance de l'activité nautique qui s'y développe à cette saison. On remarquera cependant que certains secteurs (Les Jacquets, en l'occurrence) sont autant contaminés par ces hydrocarbures que le port d'Arcachon.

Si l'on ne connaît pas l'effet de telles concentrations en HAP sur la physiologie du phytoplancton, on sait en revanche qu'elles n'induisent aucun dysfonctionnement dans le développement des larves de *Crassostrea gigas*.

Plus d'une dizaine de pesticides (herbicides principalement) ont été détectés pendant l'été 1999 dans le Bassin et les principaux cours d'eau débouchant dans la Baie.

Comme on l'a déjà mis en évidence pour le nitrate, l'Eyre est le principal vecteur de **pesticides** d'origine agricole (atrazine, alachlore, métolachlore, oxadiazon, dichlofluanid) dans la Baie, à la fois à cause de l'importante occupation maïsicole de son bassin versant et de son débit relativement élevé (Auby *et al.*, 1994). Certaines des molécules transportées par cette rivière se retrouvent au niveau du Tessillat, c'est à dire dans la principale zone de captage du Bassin, diluées environ au 10<sup>ème</sup>, selon la même droite de dilution que le nitrate. Le Lanton charrie également un certain nombre de pesticides, mais l'impact dans la Baie de ces apports est moindre, en raison du faible débit de ce cours d'eau.

Un herbicide, le MCPA, provenant probablement à la fois de sources agricoles, *via* les cours d'eau, et de sources plus diffuses (traitement des espaces verts), est omniprésent dans l'ensemble du Bassin.

Les pesticides provenant des peintures antisalissure (diuron et irgarol) sont fréquemment détectés dans les zones orientales du Bassin, c'est à dire également dans les zones de captage. Ils proviennent vraisemblablement à la fois des navires mouillés à l'extérieur des ports (Jacquets) et de la vidange des ports des côtes sud et est du Bassin (Tessillat).

Sauf pour le MCPA les concentrations en pesticides mesurées dans le Bassin ne sont pas très élevées par rapport à d'autres milieux côtiers.

D'une façon générale, ces concentrations sont bien inférieures au seuil de toxicité pour les espèces animales aquatiques, sauf pour l'atrazine, dont les teneurs parfois mesurées dans l'Eyre peuvent induire des désordres dans la structure hépatique du mulot *Liza ramada*.

Toutefois, comme nous l'avons vu en étudiant les résultats des tests d'écotoxicité, la concentration d'une de ces molécules (diuron) serait suffisante pour inhiber le développement de petites espèces phytoplanctoniques (dont se nourrissent les larves d'huîtres), lorsque le milieu est pauvre en nutriments. Cette situation est caractéristique des conditions estivales dans les zones côtières et, comme nous l'avons montré dans le chapitre 3, la pauvreté en azote était particulièrement marquée au cours de l'été 1998.

Par ailleurs, il a été démontré qu'un autre de ces biocides (irgarol) peut s'accumuler fortement dans le tissu foliaire des grandes zostères. Si l'utilisation de cette molécule dans les peintures antisalissure venait à s'accroître, l'augmentation de sa concentration dans l'eau pourrait poser des problèmes pour le développement des herbiers eux-mêmes et secondairement pour la faune qui y est associée (seiches, poissons et crevettes notamment). Il faut également remarquer que les tests d'écotoxicologie ne s'appliquent qu'à une molécule à la fois, alors que dans le milieu naturel, plusieurs composés sont mélangés. Des recherches sur la synergie de ces différents produits restent donc à réaliser pour s'assurer de l'innocuité de faibles concentrations en pesticides sur le développement des petites espèces phytoplanctoniques.

Notre étude a permis de montrer qu'aucun biocide nouveau et particulièrement toxique pour les organismes aquatiques n'a été introduit dans les peintures antisalissure entre 1997 et 1998, et que les quantités de biocides utilisés dans cette activité étaient similaires au cours des deux années. On peut alors penser que les concentrations dans l'eau de ces molécules n'ont pas varié significativement entre 1997 et 1998. Par ailleurs, d'après les fabricants, il n'y a pas de raison pour que le marché des peintures se soit radicalement modifié entre ces années et 1999, si bien que nos mesures rendent probablement compte de la situation établie depuis quelques années en matière d'impact des peintures antisalissure sur le milieu.

En ce qui concerne les pesticides agricoles, on peut également penser que les pratiques culturales ne se sont pas fortement modifiées pendant les trois dernières années, si bien qu'il est peu probable qu'une ou des nouvelles molécules ait été rajoutées dans les traitements appliqués en 1998 en quantité suffisamment importante pour provoquer un impact négatif sur les larves ou sur leur nourriture. Au niveau des molécules suivies depuis plusieurs années (1994) dans l'Eyre dans le cadre du Réseau National de Bassin Adour-Garonne, l'été 1998 ne révèle pas de valeur particulièrement élevée de l'un ou l'autre de ces composés par rapport aux années précédentes. Les concentrations des pesticides d'origine agricole mesurées en 1999 n'étaient pas particulièrement inquiétantes en matière d'impact sur les populations phytoplanctoniques du Bassin, et il y a de fortes chances pour que tel ait été également le cas en 1998 (sauf accident ponctuel qui aurait échappé au suivi du RNB).

Dans le cas particulier du MCPA (utilisation agricole + espaces verts), on ne dispose d'aucune information temporelle, cette molécule n'étant pas suivie dans le cadre du RNB.

En conclusion, nous n'avons pas pu mettre en évidence l'apparition en 1998 d'un nouveau pesticide ni une augmentation de la concentration dans l'eau d'un pesticide qui s'y trouvait déjà, qui pourraient expliquer le déficit de captage au cours de cet été là. Toutefois, plusieurs remarques doivent être ajoutées à cette constatation.

D'une part, il faut garder présent à l'esprit que l'impact d'un biocide est différent selon les conditions du milieu dans lequel il s'applique, et les conditions hydrologiques de 1998

étaient assez particulières. D'autre part, l'inventaire des biocides potentiellement toxiques que nous avons réalisé ne pouvait être totalement exhaustif, notamment au niveau des produits de dégradation des molécules utilisées, sur lesquels on ne dispose pas toujours de données d'écotoxicité. Il n'est donc pas exclu qu'un ou des produits toxiques pour les organismes n'ait pas été dosé au cours de la campagne de l'été 1999.

Pour le futur, il s'agira d'affiner ces listes et de rester vigilant quant à l'introduction de nouveaux biocides et/ou à l'éventuelle augmentation de la teneur de certaines molécules déjà présentes dans les eaux du Bassin, dont on a vu qu'elles dépassaient le seuil d'innocuité pour certaines espèces aquatiques.

A cet égard, il semblerait utile de poursuivre dans les années futures l'étude entreprise en 1999 sur les biocides.

## Conclusion

Les causes du faible captage de la saison 1998 n'ont pas été véritablement élucidées. En effet, si l'on reprend point par point les réponses apportées aux différentes hypothèses, les observations suivantes se dégagent.

☞ Les gamètes produits par les géniteurs au cours de cet été-là étaient de nature à permettre la formation de larves viables pendant leurs premiers stades de développement (quand la larve se nourrit à partir des réserves constituées dans l'œuf).

☞ La faible température de l'eau au mois de juillet n'explique pas à elle seule la disparition des stades larvaires les plus évolués.

☞ Rien ne permet de penser que les petites espèces phytoplanctoniques servant de nourriture aux larves ont été particulièrement rares au cours de l'été 1998. Si tel avait été le cas, ce sont d'ailleurs les premiers stades larvaires, plus exigeants pour la nourriture que les stades évolués, qui auraient été atteints. Par ailleurs, en 1998 et 1999, aucune espèce phytoplanctonique toxique pour les larves n'a été trouvée.

☞ Si l'herpèsvirus était effectivement présent dans les naissains en 1998, on ne dispose d'aucune preuve qu'il ait infecté les larves, ni qu'il ait été alors en phase de multiplication active susceptible d'induire des mortalités dans la population. Toutefois, le faible nombre d'analyses réalisées et la méconnaissance des facteurs influant sur la multiplication active de ce virus (conditions peut-être favorables pendant l'été 1998) ne permettent pas d'affirmer avec certitude que l'herpèsvirus n'ait pas été impliqué dans les problèmes de survie larvaire de cette année-là.

☞ Pendant l'été 1999, le Bassin d'Arcachon présentait des niveaux relativement faibles de contamination par les hydrocarbures et les pesticides. Comme les pratiques (agriculture, entretien des espaces verts, nautisme) qui génèrent ces contaminations ne se sont pas radicalement modifiées depuis plusieurs années, rien ne permet de penser qu'il en était autrement en 1998. Pour le cuivre et le TBT, les mesures réalisées en 1998 ne révèlent aucune augmentation brutale des concentrations. Il n'y a donc pas de raison de mettre en cause une pollution chronique du Bassin d'autant plus que les premiers stades qui sont les plus sensibles aux polluants se développaient normalement en 1998.

Si une pollution avait atteint les larves ou leur nourriture, il n'aurait pu s'agir que d'une pollution ponctuelle. Dans ce cas, il est probable qu'elle aurait eu des répercussions sur les autres populations suivies (phytoplancton notamment) ou exploitées (palourdes, poissons).

## Références bibliographiques

- Albanis T.A., Danis T.G., Kourgia M.K.** (1994). Transportation of pesticides in estuaries of the Axios, Loudias and Aliakmon rivers (Thermaikos Gulf), Greece. *The Science of the total environment*, **156**, 11-22.
- Alzieu Cl., Héral M., Dréno J.P.** (1989). Les peintures marines antisalissures et leur impact sur l'ostréiculture. *Equinoxe*, **24**, 22-31.
- Aminot A., Chaussepied M.** (1983). Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO, BNDO/Documentation Brest, 395 p.
- Arsalane W., Paresys G., Duval J.C, Wilhem C., Conrad R., Büchel C.** (1993). A new fluorometric device to measure the in-vivo chlorophyll-a fluorescence yield in microalgae and its use as a herbicide monitor. *Eur. J. Phycol.*, **28**, 247-252.
- Arzul G., Durand G.** (1999). Effet des herbicides sur la croissance in vitro du phytoplancton marin. In Actes de colloque "Pollutions diffuses : du bassin versant au littoral, Saint-Brieuc, septembre 1999. Editions IFREMER, 86-94.
- Auby I., Manaud F., Maurer D., Trut G.** (1994). Etude de la prolifération des algues vertes dans le Bassin d'Arcachon. IFREMER-CEMAGREF-SSA-SABARC, rapport d'Etude pour le S.I.B.A., 163 p. + annexes.
- Auby I., Trut G., d'Amico F., Beliaeff B.** (1999). Réseau hydrologique du Bassin d'Arcachon. Synthèse des résultats 1988-1997. *Rapport Interne IFREMER DEL/AR/99-09*, 60 p.
- Baek S.O., Field R.A., Goldstone M.E., Kirk P.W., Lester J.N., Perry R.** (1991). A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons : sources, fate and behavior. *Water, Air and Soil Pollution*, **60**, 279-300.
- Baldwin B.S.** (1991). Ingestion of natural plankton by oyster larvae : the relative importance of different cell size fractions. *Am. Zool.* **31** (5), 7A.
- Baldwin B.S., Newell R.I.E., Jones T.W.** (1989). Omnivorous feeding by *Crassostrea virginica* larvae : a consumption of naturally occurring phytoplankton, protozoa and bacteria. *J. Shellfish Res.*, **8** (2), 473.
- Baldwin B.S., Newell R.I.E.** (1991). Omnivorous feeding by planktotrophic larvae of the eastern oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **78**, 285-301.
- Baldwin B.S., Newell R.I.E.** (1995a). Relative importance of different size food particles in the natural diet of oyster larvae (*Crassostrea virginica*). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **120** (1-3), 135-145.
- Baldwin B.S., Newell R.I.E.** (1995b). Feeding rate response of oyster larvae (*Crassostrea virginica*) to seston quantity and composition. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **189**, 77-91.
- Ballschmitter K.** (1992). Transport and fate of organic compounds in the global environment. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **31**, 487-515.
- Bell J.L.** (1991). Food resources for larval growth : patches and picoplankton. *Pac. Sci.*, **45** (1), 87.

- Biagianti-Risbourg S., Bastide J.** (1995). Hepatic perturbations induced by a herbicide (atrazine) in juvenile grey mullet *Liza ramada* (Mugilidae Teleostei) : an ultrastructural study. *Aquatic Toxicology*, **31**, 217-229.
- Blanchot J., Guillou L., Partensky F., Simon N., Vaultot D.** (1998). Le petit peuple du grand large. *Biofutur*, **179**, 22-24.
- Boidron-Métairon I.F.** (1995). Larval nutrition. *In* : Marine Invertebrate Larvae, Ed. L. McEdward, CRC Press, Boca Raton New-York Mondon Tokyo, 223-248.
- Borde F.** (1929). Observations sur la production de naissain dans le Bassin d'Arcachon. *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **1** (2), 106-112.
- Bouloubassi I., Saliot A.** (1992). Rôle des fleuves dans les apports de contaminants organiques aux zones côtière : cas des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le delta du Rhône. *Océanis*, **18**, 549-562.
- Boury M.** (1928). Etude sur la reproduction des huîtres. *Rev. Trav. Off. Pêches marit.*, **1** (2), 87-98.
- Boussugue C., Goutx M., Saliot A., M. J. Tissier** (1979). Acides gras et hydrocarbures aux interfaces eau de mer-sédiment et eau interstitielle - sédiment en Atlantique tropical est. Dans "Géochimie organique des sédiments marins profonds (ORGON III)", Eds Arnould M., Pelet R., Editions du CNRS, Paris, 303-352.
- Calabrese A., Davis H.C.** (1967). Effects of soft detergents on embryos and larvae of the American oyster (*Crassostrea virginica*). *Proc. Natn. Shellfish Ass.*, **57**, 11-16.
- Calabrese A., Collier R.S., Nelson D.A., Mac Innes J.R.** (1973). The toxicity of heavy metals to embryos of the American oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.*, **18**, 162-166.
- Calabrese A., Mac Innes J.R., Nelson D.A., Miller J.E.** (1977). Survival and growth of bivalve larvae under heavy metal stress. *Mar. Biol.*, **41**, 179-183.
- Campbell L., Vaultot D.** (1993). Photosynthetic picoplankton community structure in the subtropical North Pacific Ocean near Hawaiï (station ALOHA). *Deep-Sea Research*, **40** (10), 2043-2060.
- Cassou-Mounat** (1975). La vie humaine sur le littoral des Landes de Gascogne : le milieu et l'homme, la diversité des cadres de vie vers l'aménagement. Cartes et croquis. Thèse de Doctorat, Institut de Géographie, Univ. Bordeaux II, 905 p + annexes.
- Caux P.Y, Kent R.A, Bergeron V., Fan G.T., MacDonald D.D.** (1995). Environmental fate and effects of MCPA : A Canadian perspective. *Critical Reviews in Environment Science and Technology*, **25** (4), 313-376.
- Chisholm S.W.** (1992). Phytoplankton size. *In* : Primary productivity and biochemical cycles in the sea. Ed. P.G. Falkowski and A.D. Woodhead, Plenum Press, New-York, 213-237.
- CHLOMAX** (1992). Les maximums profonds de chl *a* en mer des Sargasses. Données physiques, chimiques et biologiques. Campagne Chlomap 14 septembre-13 octobre 1987. *Campagnes Océanographiques Françaises*, **17**, 138 p.
- Chrétiennot-Dinet M.J. et Courties C.** (1997). Biodiversity of unicellular algae : example of pico- and ultraplanktonic eucaryotes of the Thau Lagoon. *Vie Milieu*, **47** (4), 317-324.
- Chrétiennot-Dinet M.J., Robert R., His E.** (1986). Utilisation des "algues-fourrage" en aquaculture. *Ann. Biol.*, T. XXV, Fasc. **2**, 97-119.
- Ciba Geigy** (1988). Irgarol 1051. *In* : Emulsion Paints. *Technical Bulletin* 03/88-31.

- Claisse D., Alzieu C.** (1993). Copper Contamination as a result of antifouling paint regulations? *Mar. Pollut. Bull.*, **26** (7), 395-397.
- Comps M., Cochenec N.** (1993). A herpes-like virus from the European oyster *Ostrea edulis* L. *Journal of Invertebrate Pathology*, **62**, 201-203.
- Courties C., Vaquer A., Troussellier M., Lautier J., Chrétiennot-Dinet M.J., Neveux J., Machado C.** (1994). Smallest eukaryotic organism. *Nature*, **370**, 255.
- Dahl B., Blanck H.** (1996). Toxic effects of the antifouling agent Irgarol 1051 on periphyton communities in coastal waters microcosms. *Mar. Poll. Bull.*, **32** (4), 342-350.
- Davis H.C.** (1961). Effects of some pesticides on eggs and larvae of oysters (*Crassostrea virginica*) and clams (*Venus mercenaria*). *Comm. Fish. Rev.*, **23**, 8-23.
- Devauchelle N., Thielley M., Salaun G.** (1995). Estimation des stades de maturité de mollusques Bivalves. La Reproduction Naturelle et Contrôlée des Bivalves Cultivés en France, Nantes (France), 14-15 Nov 1995. IFREMER Rapp. Interne DRV/RA/RST/ 97-11 RA/Brest, 81-90.
- Dinet M.J., Guillocheau N.** (1987). Etude de Diatomées d'écosystèmes marins côtiers. Observations nouvelles en microscopie électronique. *Cah. Biol. Mar.*, **28**, 271-279.
- Douillet P.** (1993a). Bacterivory in Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **98**, 123-134.
- Douillet P.** (1993b). Carbon contribution through bacterivory in larvae of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **102**, 303-314.
- E.R.E.A.** (1995). La pêche professionnelle et la pêche de loisir. Note à la Commission SMVM "Pêche et Cultures Marines", 8 Fev.1995, 16 p.
- El Jay A., Ducruet J.M., Duval J.C., Pelletier J.P.** (1997). A high-sensitivity chlorophyll fluorescence assay for monitoring herbicide inhibition of photosystem II in the chlorophyte *Selenastrum capricornutum* : Comparison with effect on cell growth. *Arch. Hydrobiol.*, **140**, 273-286.
- Escande-Labrousche F.** (1964). Etude statistique et systématique du phytoplancton du Bassin d'Arcachon. Thèse 3<sup>e</sup> cycle, Université Bordeaux, 82 p.
- Fairchild J.F., Ruessler D.S., Haverland P.S., Carlson A.R.** (1997). Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **32**, 353-357.
- Farley C. A., Banfield W. G., Kasnic G., Foster W. S.** (1972). Oyster herpes-type virus. *Science*, **178**, 759-760.
- Fernandez-Castro N., His E., Cantin C.** (1995). Contamination par le tributylétain (TBT) du Bassin d'Arcachon évaluée à l'aide d'un indicateur biologique : l'imposex chez *Ocenebra erinacea*, Mollusque gastéropode. Poster, XXI Coll. Union Océan. France, Cherbourg, 6-8 décembre 1995.
- Ferrer I., Ballesteros B., Marco P., Barcelo D.** (1997). Pilot survey for determination of the antifouling agent Irgarol 1051 in enclosed seawater samples by a direct enzyme-linked immunosorbent assay and solid-phase extraction followed by liquid chromatography-diode array detection. *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 3530-3535.
- Gallager S.M.** (1988). Visual observations of particle manipulation during feeding in larvae of a bivalve mollusc. *Bull. Mar. Sci.*, **44**, 344-365.
- Gallager S.M., Mann R., Sasaki G.** (1986). Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture*, **56** (2), 81-103.

- Gallager S.M., Waterbury J.B., Stoecker D.K.** (1994). Efficient grazing and utilization of the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. by larvae of the bivalve *Mercenaria mercenaria*. *Mar. Biol.*, **119** (2), 251-259.
- Galtsoff P.S.** (1964). The american oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Fish. Bull. natn. Mar. Fish. Serv., U.S.*, **64**, 480 p.
- Gérard A., Naciri-Graven Y., Boudry P., Launay S., Heurtebise C., Ledu C., Phelipot P.** (1995). Contrôle de la gamétogénèse des huîtres creuses et plates. Relation entre reproduction et génétique. La Reproduction Naturelle et Contrôlée des Bivalves Cultivés en France, Nantes (France), 14-15 Nov 1995. IFREMER Rapp. Interne DRV/RA/RST/ 97-11 RA/Brest, 99-112.
- Gough M.A., Fothergill J., Hendrie J.D.** (1994). A survey of Southern England coastal waters for the s-triazine antifouling compound Irgarol 1051. *Mar. Poll. Bull.*, **28** (10), 613-620.
- Gouletquer P.** (1995). Cycle de reproduction naturelle de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. La Reproduction Naturelle et Contrôlée des Bivalves Cultivés en France, Nantes (France), 14-15 Nov 1995. IFREMER Rapp. Interne DRV/RA/RST/ 97-11 RA/Brest, 7-19.
- Grimalt J., Albaigés J.** (1988). Aerosol transport of polynuclear aromatic hydrocarbons over the Mediterranean Sea. *Naturwissenschaften*, **75**, 39-42.
- Guillocheau N.** (1988). Répartition spatio-temporelle du phytoplancton du Bassin d'Arcachon. Thèse Univ. Aix-Marseille II, 156 p.
- Guillocheau N., Dinet M.J.** (1988). Assemblages et succession de populations de Diatomées dans le Bassin d'Arcachon. *Mem. Soc. Roy. Bot. Belg.* **10**, 55-62.
- Gustavson K., Wangberg S.A.** (1995). Tolerance induction and succession in microalgae communities exposed to copper and atrazine. *Aquatic toxicology*, **32**, 283-302.
- Hall J.A., Vincent W.F.** (1990). Vertical and horizontal structure in the picoplankton communities of a coastal upwelling system. *Mar. Biol.*, **106**, 465-471.
- Hall J.A., Vincent W.F.** (1994). Vertical and horizontal structure of the picoplankton community in a stratified coastal system of New Zealand. *New Zealand J. Mar. Freshwater Research*, **28**, 299-308.
- Hall., Giddings J.M., Solomon K.R., Balcomb R.** (1999). An ecological risk assessment for the use of Irgarol 1051 as an algaecide for antifoulant paints. *Critical Reviews in Toxicology*, **29** (4), 367-347.
- Hattula M.L., Reunanen H., Arstila A.U.** (1978). The toxicity of MCPA to fish. Light and electron microscopy and the chemical analysis of the tissue. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **19** (4), 465-470.
- Hine P. M., Thorne E.T.** (1997). Replication of herpes-like virus in haemocytes of adult flat oysters *Ostrea angasi* (Sowerby, 1871) : an ultrastructural study. *Diseases of Aquatic Organisms*, **29** (3), 197-204.
- His E.** (1975). La détection des pontes dans le milieu naturel : application de l'ostréographie à l'étude de la reproduction des huîtres. *Haliotis*, **5**, 206-213.
- His E.** (1991). Biologie et écotoxicologie des véligères de *Crassostrea gigas* (Thunberg) dans le Bassin d'Arcachon. *Thèse Doctorat Etat*, Université Bordeaux I, 192 p.
- His E., Robert R., Chrétiennot-Dinet M.J.** (1985). Nouvelle méthode pour étudier la nutrition de jeunes larves de *Crassostrea gigas* (Thunberg) en milieu naturel. Premières données expérimentales. *C.R. Acad. Sc. Paris*, t. 300, Série III, n°8, 319-321.

- His E., Robert R.** (1980). Action d'un sel organo-métallique, l'acétate de tributyle-étain sur les oeufs et les larves D de *Crassostrea gigas* (Thunberg). CIEM, Com. Mar. 1980/F/27, 6 p.
- His E., Robert R.** (1987). L'isolement des véligères de *Crassostrea gigas* du milieu naturel : un nouveau mode d'investigation sur la nutrition des larves d'huîtres. *Haliotis*, **16**, 573-575.
- His E., Maurer D.** (1988). Shell growth and gross biochemical composition of *Crassostrea gigas* larvae in the natural environment. *Aquaculture*, **69**, 185-194.
- His E., Robert R., Dinet M.J.** (1989). Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Biol.*, **100**, 455-463.
- His E., Seaman M.N.L.** (1992). Effects of temporary starvation on the survival, and on subsequent feeding and growth of oyster (*Crassostrea gigas*) larvae. *Mar. Biol.*, **114**, 277-279.
- His E., Seaman M.N.L.** (1993). Effects of twelve pesticides on larvae of oysters (*Crassostrea gigas*) and on two species of unicellular marine algae (*Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans*). *Inter. Counc. Explor. Sea*, CM/1993:E, **22**, 8 p.
- His E., Beiras R., Seaman M.N.L.** (1999). The assesment of marine pollution bioassays with bivalve embryos and larvae. *Adv. In Mar. Biol.*, **37**, 1-178.
- House W.A., Leach D., Long J.L.A., Cranwell P., Smith C., Bharwaj L., Meharg A., Ryland G., Orr., D.O., Wright J.** (1997). Micro-organics compounds in the Humber rivers. *The Science of the Total Environment*, **194-195**, 357-371.
- Iriarte A., Purdie D.** (1994). Size distribution of chlorophyll *a* biomass and primary production in a temperate estuary (Southampton Water): the contribution of photosynthetic picoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **115**, 283-297.
- Kirby M.F., Sheahan D.A.** (1994). Effects of atrazine, isoproturon, and mecoprop on the macrophyte *Lemna minor* and the Alga *Scenedesmus subspicatus*. *Bull. Environ. Cotam. Toxicol.*, **53**, 120-126.
- Kuosa H.** (1991). Picoplanktonic algae in the northern Baltic Sea : seasonal dynamics and flagellate grazing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **73**, 269-273.
- Kuylenstierna M., Karlson B.** (1994). Seasonality and composition of pico- and nanoplanktonic cyanobacteria and protists in the Skagerrak. *Botanica Marina*, **37**, 17-33.
- Lango Reynoso F., Devauchelle N., Le Pennec M., Hatt P.J.** (1999). Elements of reproductive strategy in oysters, *Crassostrea gigas*, from the "Rade de Brest", France. Invertebrate Reproduction and development, Sep. 99, **36** (1-3), 141-144.
- Laplana R., Billy F., Beuffe H., Fleuranceau J.** (1993). Localisation, quantification et dynamique des apports de nutriments au Bassin d'Arcachon. *Rapport CEMAGREF*, étude **66**, 86 p.
- Lartiges S.** (1994). Analyse et devenir de pesticides organophosphorés et organoazotés dans l'environnement aquatique. *Thèse Biochimie de l'environnement* Université Bordeaux I, 172 p.

- Le Dantec J.** (1968). L'ostréiculture dans le Bassin d'Arcachon et ses rapports avec les variations du milieu. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **32** (3), 240-362.
- Le Deuff R. M.** (1995). Contribution à l'étude de virus de mollusques marins apparentés aux Iridoviridae et aux Herpèsviridae. *Thèse de Doctorat*. Université Bordeaux II, 389, 1-234.
- Le Deuff R.M., Nicolas J. L., Renault T., Nicolas J. L., Cochenec, N.** (1994). Experimental transmission of herpes-like virus to axenic larvae of Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **142** (2), 69-71.
- Le Deuff R.M., Renault T., Gerard A.** (1996). Effects of temperature on herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Disease of Aquatic organisms*, **24** (2), 149-157.
- Le Deuff R.M., Renault T.** (1999). Purification and partial genome characterisation of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of General Virology*, **80**, 1317-1322.
- Lefebvre A., Guelorget O., Perthuisot J.P., Courties C., Millet B.** (1997). Hydrobiological organization of a bahira type paralic basin: Kalloni Bay (Lesbos, Greece). *Oceanol. Acta*, **20** (5), 757-768.
- Li W.K.W.** (1994). Primary production of prochlorophytes, cyanobacteria, and eucaryotic ultraphytoplankton : measurements from flow cytometric sorting. *Limnol. Oceanogr.*, **39**, 169-175.
- Li W.K.W.** (1995). Composition of ultraphytoplankton in the central North Atlantic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **122**, 1-8.
- Li W.K.W., Dickie P.M., Harrison W.G., Irwin B.D.** (1993a). Biomass and production of bacteria and phytoplankton during the spring bloom in the western North Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research*, **40** (1-2), 307-327.
- Li W.K.W., Zohary T., Yacobi Y.Z., Wood A.M.** (1993b). Ultraphytoplankton in the eastern Mediterranean Sea : towards deriving phytoplankton biomass from flow cytometric measurements of abundance, fluorescence and light scatter. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **102**, 79-87.
- Liu D., Pacepavicius G.F., Maguire R.J., Lau Y.L., Okamura H., Aoyama I.** (1999). Survey for the occurrence of the new antifouling compound Irgarol 1051 in the aquatic environment. *Water Research*, **33** (12), 2833-2843.
- Longhurst A.R., Koike I., Li W.K.W., Rodriguez J., Dickie P., Kepay P., Partensky F., Bautista B., Ruiz J., Wells M., Bird D.F.** (1992). Sub-micron particles in the northwest Atlantic shelf water. *Deep-Sea Research*, **39** (1), 1-7.
- Loosanoff V.L., Davis H.C.** (1963). Rearing of bivalve molluscs. *In* : Advances in Marine Biology, Russel F.C. Ed., Academic Press, New-York, 1-136.
- Lorenzen C.J.** (1967). Determination of chlorophyll and pheopigments : spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, **12**, 343-346.
- Louis E.** (1998). Les pollutions de la plaisance. *Environnement*. No 4.
- Lubet P.E.** (1981). Influence des facteurs externes sur la reproduction des Lamellibranches. *Oceanis*, **6** (5), 469-489.
- Lucas J.S.** (1982). Quantitative studies of feeding and nutrition during larval development of the coral reef asteroid *Acanthaster planci* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **65**, 173-193.

- Magazzu G., Decembrini F.** (1995). Primary production, biomass and abundance of phototrophic picoplankton in the Mediterranean Sea : a review. *Aquat. Microb. Ecol.*, **9**, 97-104.
- Maki A. W.** (1991). The Exxon Valdez oil spill : initial environmental impact assessment. *Environmental Science and Technology*, **25**, 24-29.
- Malone T.C.** (1971). The relative importance of nanoplankton and netplankton as primary producers in the California current system. *Fish. Bull.*, **69** (4), 799-820.
- Manaud F.** (1974). Etude et Synthèse - Bassin d'Arcachon. C.N.E.X.O. 106 p + atlas.
- Manaud F., Bouchet J.M., Deltreil J.P., Maurer D., Trut G., Auby I., Dreno J.P., L'Yavanc J., Masson N., Pellier C.** (1997). Etude intégrée du Bassin d'Arcachon. Tome 5 : Activités ressources vivantes. Rapport interne DEL/Arcachon, 5 classeurs.
- Marie D., Partensky F., Jacquet S., Vaultot D.** (1997). Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. *Appl Environ Microbiol*, **63**, 186-193.
- Masclat P., Mouvier G.** (1988). La chimie atmosphérique des hydrocarbures aromatiques polycycliques. *Pollution atmosphérique*, Janvier-Mars, 25-31.
- Masson-Neaud N.** (1998). Réseau de surveillance du phytoplancton (REPHY). Observations sur le Bassin d'Arcachon de 1991 à 1994. Rap. Int. IFREMER DEL/98-01/Arcachon, 53 p.
- Maurer D., His E., Robert R.** (1984). Observations sur le phytoplancton du Bassin d'Arcachon en période estivale. Rôle potentiel dans la nutrition des larves de *Crassostrea gigas*. C.I.E.M., Comm. CM/L : **14**, 9 p.
- Mazoyer V.** (1998). Classification des risques phytosanitaires pour la conchyliculture du littoral charentais. Mémoire E.S.I.P.T.A., IFREMER – INRA, 48 p + annexes.
- McElroy A., Farrington J., Teal J.** (1989). Dans "Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment", Ed. U. Varanasi, CRC Press, Inc, Boca Raton, Floride, USA, 1-39.
- Michel P., Averty B.** (1996). Bilan 1992 de la contamination des côtes françaises par les composés organostanniques. *Rapport Interne IFREMER*. DEL/96.06/Nantes, 12 p.
- Michel P., Averty B.** (1998). Bilan 1997 de la contamination des côtes françaises par les composés organostanniques. *Rapport Interne IFREMER*. DEL/98.05/Nantes, 39 p.
- Molander S., Dahl B., Blanck H., Jonsson J., Sjoström M.** (1992). Combined effects of Tri-n-butyl Tin (TBT) and diuron on marine periphyton communities detected as pollution-induced community tolerance. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **22**, 419-427.
- Nicolas J. L., Comps M., Cochenec, N.** (1992). Herpes-like virus infecting Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **12** (1), 11-13.
- Olson R.J., Chisholm S.W., Zettler E.R., Armbrust E.V.** (1988). Analysis of *Synechococcus* in the sea using single and dual beam flow cytometry. *Deep-Sea Research*, **35** (3), 425-440.
- Olson R.R., Olson M.H.** (1989). Food limitation of planktotrophic marine invertebrate larvae : does it control recruitment success. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **20**, 225-247.
- Olson R.J., Zettler E.R., Anderson O.K.** (1989). Discrimination of eukaryotic phytoplankton cell types from light scatter and autofluorescence properties measured by flow cytometry. *Cytometry*, **10**, 636-644.

- Olson R.J., Chisholm S.W., Zettler E.R., Armbrust E.V.** (1990). Pigments, size and distribution of *Synechococcus* in the North Atlantic and Pacific Oceans. *Limnol. Oceanogr.*, **35** (1), 45-58.
- Partensky F., Blanchot J., Lantoine F., Neveux J., Marie D.** (1996). Vertical structure of picoplankton at different trophic sites of the tropical northeastern Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research*, **43** (8), 1191-1313.
- Raby D., Mingelbier M., Dodson J.J., Klein B., Lagadeuc Y., Legendre L.** (1997). Food-particle size and selection by bivalve larvae in a temperate embayment. *Mar. Biol.*, **127**, 665-672.
- Ramirez M.E.V., Le Pennec M., Dorange G., Devauchelle N., Nonnotte G.** (1999). Assessment of female gamete quality in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Invertebrate Reproduction and development*, Sep. 99, **36** (1-3), 73-78.
- Readman J.W., Kwong L.L.W., Grondin D., Bartocci J., Villeneuve J.P., Mee L.D** (1993). Coastal water contamination from a triazine herbicide used in antifouling paints. *Environmental Science & Technology*, **27**, 1940-1942.
- Renault T., Cochennec N., Le Deuff R.M., Chollet B.** (1994). Herpes like virus infecting Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) spat. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **14** (2), 64-66.
- Renault T., Le Deuff R.M., Cochennec N., Maffart P.** (1994). Herpèsvirus associated with mortalities among Pacific oyster *Crassostrea gigas*, in France : comparative study. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **145** (10), 735-742.
- Renault T., Le Deuff R.M., Lipart C., Cholet B., Haffner P.** (1997). Synthèse des travaux réalisés au laboratoire IFREMER de La Tremblade. Mars 1996-février 1997. Rapport 60 p.
- Renault T., Lipart C.** (1999). Diagnosis of herpes-like virus infections in oysters using molecular techniques. *European Aquaculture Society. Special Publication* **26**, 235-236.
- Renault T., Lipart C., Arzul I.** (1999). Development of an internal standard for PCR detection of herpes-like virus infecting Bivalves. *Résumé des présentations. EAFP 19-24 Septembre 1999. Rhodes.* p104.
- Riisgard H.U., Randlov A., Kristensen P.S.** (1980). Rates of water processing, oxygen consumption and efficiency of particle retention in veligers and young post-metamorphic *Mytilus edulis*. *Ophelia*, **19**, 37-47.
- Robert R. et Trintignac P.** (1997). Microalgues et nutrition larvaire en éclosion de mollusques. *Haliotis* **26**, 1-13.
- Robert R., His E.** (1988). Observations on the feeding behaviour of *Crassostrea gigas* larvae in the bay of Arcachon (France). *Aquat. Living Resour.*, **1**, 133-139.
- Samain F., Saout C., Soudant P., Le Coz J.R., Segueineau C., Quere C., Connan J.P., Mazuret M., Miner P., Muzellec M.L., Marty Y., Moal J., Paulet Y.M., Robert R.** (1995). Nutrition et reproduction des Bivalves. La Reproduction Naturelle et Contrôlée des Bivalves Cultivés en France, Nantes (France), 14-15 Nov 1995. IFREMER Rapp. Interne DRV/RA/RST/ 97-11 RA/Brest, 137-148.
- Sauriau P.G., Baud J.P.** (1994). Artificial filament breakage of the diatom *Skeletonema costatum* intended for mollusc aquaculture. *Aquaculture*, **123**, 69-81.
- Scarlett A., Donkin M.E., Fileman T.W., Donkin P.** (1997). Occurrence of the marine antifouling agent irgarol 1051 within the Plymouth Sound locality : Implications for the green macroalga *Enteromorpha intestinalis*. *Mar. Poll. Bull.*, **34** (8), 645-651.

- Scarlett A., Donkin M.E., Fileman T.W., Evans S.V. Donkin P.** (1999). Risk posed by the antifouling agent Irgarol 1051 to the seagrass *Zostera marina*. *Aquatic Toxicology*, **45** (2-3), 159-170.
- Shimida A., Hasegawa T., Umeda I., Kadoya N., Maruyama T.** (1993). Spatial mesoscale patterns of West Pacific picophytoplankton as analysed by flow cytometry : their contribution to subsurface chlorophyll maxima. *Mar. Biol.*, **115**, 209-215.
- Sieburth J.McN., Smetacek V., Lenz J.** (1978). Pelagic ecosystem structure : heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnol. Oceanogr.*, **23** (6), 1256-1263.
- Sondergaard M., Jensen L.M., Aertebjerg G.** (1991). Picoalgae in danish coastal waters during summer stratification. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **79**, 139-149.
- Stangroom S.J., Collins C.D., Lester J.N.** (1998). Sources of organic micropollutants to lowland rivers. *Environmental Technology*, **19**, 643-666.
- Takano H.** (1968). On the Diatom *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) emend. and its dwarf form pumilus forma nov. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, **55**, 1-7.
- Thébault A** (1999) Bilan du Repamo 1998. Rapport IFREMER, 60 p.
- Tronczynski J.** (1990). Programme de recherche sur les produits phytosanitaires en zones littorales et estuariennes. Rapport IFREMER DEL/PC Nantes, 39 p.
- Tronczynski J., Moisan K., Bocquené G., Maggi P., Grison J.** (1999). Etude des zones côtières exposées à la contamination par les produits phytosanitaires. *Rapport d'étude IFREMER DEL/PC*, 33 p + annexes.
- Troussellier M., Courties C., Lebaron P., Servais P.** (1999). Flow cytometric discrimination of bacterial populations in seawater based on Syto 13 staining of nucleic acids. *FEMS Microbiology Ecology*, **29**, 319-330.
- Troussellier M., Courties C., Vaquer A.** (1993). Recent applications of flow cytometry in aquatic microbial ecology. *Biol. of the Cell*, **78**, 111-121.
- Vanucci S., Acosta Pomar L.M.C., Maugeri T.L.** (1994). Seasonal pattern of phototrophic picoplankton in the eutrophic costal waters of the northern Adriatic Sea. *Botanica Marina*, **37**, 57-66.
- Vaquer A., Troussellier M., Courties C., Bibent B.** (1996). Standing stock and dynamics of picophytoplankton in the Thau Lagoon (northwest Mediterranean coast). *Limnol. Oceanogr.*, **41**, 1821-1828.
- Vaulot D., Courties C., Partensky F.** (1989). A simple method to preserve oceanic phytoplankton for cytometric analyses. *Cytometry*, **10**, 629-635.
- Vaulot D., Partensky F.** (1992). Photosynthetic picoplankton of the north west Mediterranean Sea in summer : comparison with the winter situation. In J.H. Martin and H. Barths (eds), Eros 2000 (European river ocean system). *Water Pollut. Res. Rep.* **28**. CEC, 173-181.
- Voulvoulis N., Scrimshaw M.D., Lester J.N.** (1999). Alternative antifouling biocides. *Applied Organometallic Chemistry*, **13**, 135-143.
- Zertal A., Sehili T., Boule P.** (1999). Phototransformation of 4-chloro-2-méthyl-phenoxy acetic acid (MCPA). *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, **213**, 87-92.