

**IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO**

**Compte-rendu et recommandations de l'atelier RINBIO
tenu au Centre de Nantes les 19 et 20 janvier 1997**

**DE L'USAGE DE LA METHODE DES TRANSPLANTS DE MOULE
POUR LE SUIVI DE LA CONTAMINATION CHIMIQUE LE LONG DES
COTES MEDITERRANEENNES FRANÇAISES**

Daniel COSSA, DEL/PC, animateur
Alain ABARNOU, DEL/EC
Bruno ANDRAL, DEL/Toulon
Serge BOUGRIER, DRV/RA
Dominique BUESTEL DRV/RA
Didier CLAISSE, DEL/PC
Philippe-Jacques HATT, DRV/RA
Jean-Yves STANISIERE, DEL/Toulon

Avant-propos

Ce rapport fait suite à la création par les directions DEL et DRV de l'IFREMER d'un groupe de travail, dit RINBIO, chargé d'étudier les implications de l'usage des transplants de populations de moules pour évaluer la contamination chimiques des zones côtières méditerranéennes.

L'objectif du Réseau Intégrateurs Biologiques (RINBIO) est en effet d'obtenir une évaluation des niveaux de la contamination chimique à l'échelle du bassin méditerranéen français. La méthodologie s'appuie sur la mesure des concentrations en contaminants métalliques et organiques bioaccumulés dans les tissus de moules transplantées (*Mytilus galloprovincialis*) pendant plusieurs dans les zones à étudier. Or, la phase exploratoire a mis en évidence une interdépendance entre les niveaux de contamination détectés et l'état physiologique des moules. Le rôle du groupe de travail était de prendre en considération ce problème et de proposer des actions pour y palier.

La définition précise du mandat est contenue dans la décision DEL/DRV du 17 septembre 1997 (voir annexe). Pour le réaliser un atelier de travail a été organisé les 19 et 20 janvier 1998 au cours duquel des présentations ont été faites tant sur la biologie de la moule en milieu méditerranéen que sur les mécanismes de bioaccumulation des contaminants chez ce mollusque, les conditions de réalisation et les résultats d'expériences de transplantation de moules (incluant l'expérience RINBIO) et les techniques alternatives au biomonitorage. Des recommandations en ont été tiré.

Ce rapport rend compte de cet atelier, en donne les conclusions et les recommandations.

Table des matières

	Page
Avant propos	ii
Table des matières	iii
La bioaccumulation des contaminants chimiques chez la moule : processus physiologiques impliqués	1
Les indices de stress (éco)physiologiques de la nutrition chez la moule	11
Croissance et condition des moules <i>Mytilus galloprovincialis</i> dans quelques sites caractéristiques de Méditerranée	18
Variation saisonnières des teneurs en contaminants dans les coquillages du RNO	30
Les expériences de transplantation de bivalves bioindicateurs	38
L'expérience RINBIO	45
Une solution pour l'interprétation spatiale des résultats de bioaccumulation chez <i>Mytilus galloprovincialis</i> transplantée en milieu hétérotrophe	52
Les capteurs passifs de contaminants organiques	60
Les capteur passifs de contaminants métalliques	68
Conclusion et recommandations	71
Annexe : Décision DEL / DRV du 24 septembre 1997	73
Annexe : Ordre du jour de l'Atelier RINBIO	75
Annexe : participants à l'Atelier RINBIO	76

IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997

Centre de Nantes

La bioaccumulation des contaminants chimiques chez la moule : processus physiologiques impliqués

par Daniel COSSA
DEL/PC

1. Problématique

L'utilisation de la moule, essentiellement du genre *Mytilus*, pour l'étude des niveaux et des tendances de la contamination chimique en milieu côtier a été proposée au début des années soixante dix (ex. : Goldberg, 1975). Depuis, elle a été largement développée ; en particulier dans le cadre du « Mussel Watch » américain et du Réseau National d'Observation de la Qualité du Milieu Marin (RNO) français. Cette méthode repose sur l'hypothèse, souvent vérifiée (ex. : ; Georges et Coombs, 1977 ; Cossa, 1988), d'une relation entre la concentration en contaminant dans la chair (les tissus mous) du bivalve et la concentration (ou plus précisément la biodisponibilité du contaminant) dans le milieu environnant. Cette relation s'accompagne d'une bioconcentration. En effet, on sait depuis longtemps que certains éléments ou substances se concentrent dans certains tissus des organismes aquatiques à des niveaux excédant souvent 4 ordres de grandeur les concentration dans les eaux (ex. : Cornec, 1919). Le travail de Vinogradov (1953) a montré que ce phénomène était généralisable à l'ensemble des organismes marins et une majorité de métaux divalents. Il l'est aussi aux composés organiques lipophiles comme de nombreux organochlorés (Harvey et al., 1973). Quels sont les mécanismes biochimiques qui sous-tendent ces propriétés ? En quoi leur connaissance peut-elle permettre d'optimiser et d'appréhender les limites du biomonitorage (surveillance au moyen d'indicateurs biologiques quantitatifs) ? Telles sont les questions qui sont abordées dans ce document.

Le niveau de concentration d'un contaminant dans un organisme est le résultat d'un pseudo-équilibre entre les flux d'entrée, de sortie et de stockage (absorption, excrétion, et accumulation), mais aussi du bilan de matière organique qui fait la masse des tissus dans lesquelles les contaminants sont pour ainsi dire dilués. Des modèles quantitatifs ont été proposés et raffinés. Le plus grand nombre d'entre eux repose sur l'approche proposée initialement par Thoman (1981). Ils permettent, sur la base d'hypothèses simplificatrices, de prédire les concentrations en contaminants dans l'animal à partir des concentrations de contaminants dans l'eau et dans la nourriture, des taux de sorption, d'assimilation et d'excrétion du contaminant, des facteurs d'accumulation, du taux de croissance et de la structure du réseau trophique. Il n'est pas de notre propos de ces modèles décrire ici, il s'agit plutôt d'approcher le problème par ses mécanismes, de façon à garder en mémoire que la bioaccumulation est un phénomène physiologique complexe et spécifique de chaque organisme et chaque contaminant considérés. Toute généralisation est hasardeuse. La simplification est acceptable en regard du niveau d'information recherché.

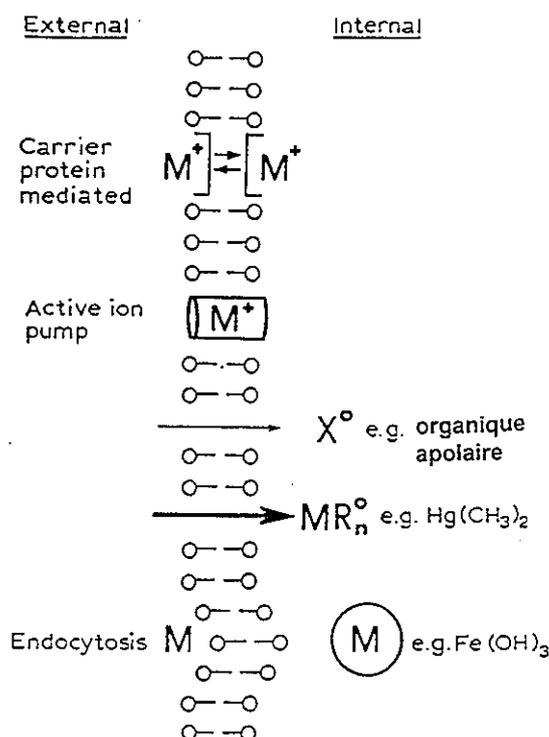


Figure 1. Mécanismes typiques de pénétration intracellulaire des contaminants chimiques (adaptée d'après Simkiss et Taylor, 1989).

2. Absorption des contaminants

Pour résumer l'état des connaissances dans le domaine, on regroupera les mécanismes d'absorption en deux classes principales. La pénétration par diffusion passive des composés et éléments neutres (charge zéro) à travers les lipides des membranes cellulaires et la sorption médiatisée (par un système de transport plus ou moins spécifique) d'espèces anioniques ou cationiques (charges positives ou négatives) (Fig. 1). La première classe concerne essentiellement les composés organiques du type organohalogénés (ex. : pesticides organochlorés et biphényles polychlorés) ainsi que des hydrocarbures aromatiques polycycliques et certains complexes métalliques (ex. : HgCl_2° , $(\text{CH}_3)_4\text{Sn}^\circ$). L'absorption de ces composés s'effectue à travers la couche lipidique de la membrane plasmique sous l'action d'un gradient de concentration. La sorption médiatisée inclut essentiellement des cations ou des oxyanions (ex. : Cd^{2+} , AsO_4^{3-}) ; elle met en œuvre les constituants protéiques de la membrane. Ainsi, toutes les formes des contaminants chimiques ne sont aptes à pénétrer dans les cellules vivantes ; le sont seulement celles qui sont, par définition, «biodisponibles». Autrement dit, par biodisponibles nous entendons les espèces chimiques lipophiles ou pour lesquelles il existe un mécanisme de sorption (ad puis éventuellement absorption). Notons que ces espèces chimiques biodisponibles sont en équilibres thermodynamiques dans le milieu avec d'autres formes dans des réactions de complexation en solution et/ou de sorption sur des particules naturelles, qui constituent des «pools» de contaminants potentiellement biodisponibles. Ainsi, tout changement de composition chimique, de force ionique, de potentiel d'oxydo-réduction et de pH, susceptible d'avoir une influence sur la spéciation d'un contaminant dans le milieu, aura donc des répercussions sur sa biodisponibilité. Plus que le niveau de concentration de la somme de toutes ses espèces chimiques présentes dans le milieu, c'est la concentration de l'espèce la plus biodisponible qui gouverne le flux d'entrée du contaminant dans la cellule.

2.1. Transport par diffusion passive

Le flux d'une substance lipophile à travers la membrane plasmatique d'une cellule implique deux étapes. Premièrement, la partition de la substance entre la solution et la surface lipidique de la membrane et, deuxièmement, la diffusion de cette molécule le long du gradient de concentration dans la bicouche lipidique. Le flux (F) est défini comme suit :

$$F = K D (\Delta C / \Delta z) A$$

où K est le coefficient de partition entre la membrane et l'eau, D le coefficient de diffusion à travers la membrane, $\Delta C / \Delta z$ le gradient de concentration de part et d'autre de la membrane (Δz étant l'épaisseur) et A la surface de la cellule. La densité de lipides sur la membrane cellulaire et son épaisseur peuvent varier, c'est pourquoi un coefficient de perméabilité (P) est plutôt utilisé pour tenir compte des incertitudes sur les estimations de D et Δz (Phinney et Bruland, 1994).

$$P = K D / \Delta z$$

Des fonctions de proportionnalité ont été établies entre les coefficients de perméabilité et les coefficient de partition octanol-eau ($K_{ow} = C_{\text{octanol}} / C_{\text{eau}}$) (Stein, 1986). La figure 2 présente la relation générale entre la perméabilité et le K_{ow} de plusieurs contaminants lipophiles. Notons la relation qui relie les K_{ow} au coefficient de partition (K_p) d'une substance organique sur un solide inerte: $K_p = b f_{oc} (K_{ow})^a$, où a et b sont des constantes et f_{oc} la fraction organique. Ce modèle permet d'appréhender la bioaccumulation des substances lipophiles dans une optique biogéochimique, où l'on peut concevoir un organisme vivant de niveau trophique primaire comme une particule en compétition de sorption avec d'autres particules inertes.

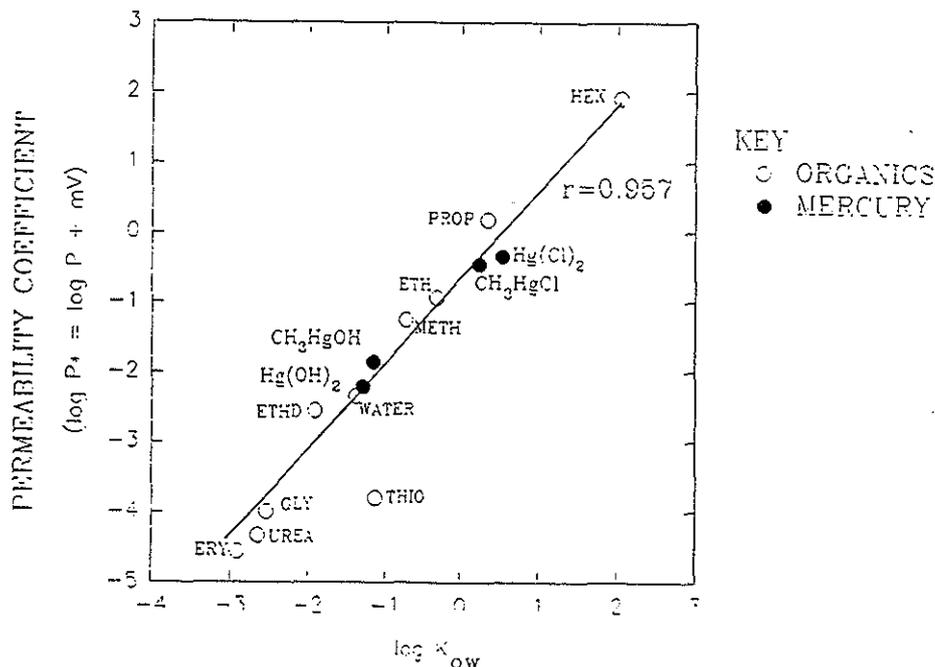
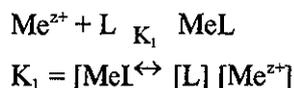


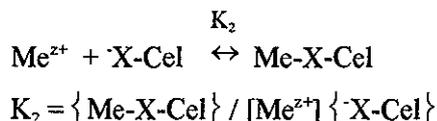
Figure 2. Relation entre la perméabilité transmembranaire et le coefficient de partition octanol-eau (K_{ow}) pour quelques contaminants apolaires (d'après Mason et al., 1996).

2.2. Transport d'espèces chargées : modèle de l'ion libre

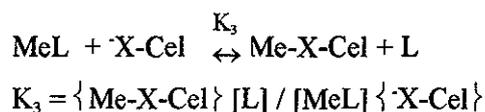
Dans ce cas l'interaction entre le contaminant, le plus souvent un métal, et la surface cellulaire implique un ion libre (ex. : Me^{2+}) ou un complexe (MeL). Le mécanisme est représenté en terme de complexation de surface (Morel et al., 1983). Dans le cas le plus simple, l'ion libre est l'espèce en équilibre en solution :



qui réagit avec la surface :



où K_1 et K_2 sont des constantes conditionnelles d'équilibre, L un ligand en solution et X-Cel un ligand de la surface cellulaire¹. Le modèle postule que l'absorption est proportionnelle à la concentration du métal fixé ($\{ \text{Me-X-Cel} \}$) à la condition que le nombre de sites de fixation par unité de surface ($\{ \text{X-Cel} \}$) ne varie pas. Une situation semblable prévaut en cas de compétition entre le ligand dissous et le ligand cellulaire :



équilibre qui revient au cas précédent puisque l'on peut écrire :

$$\{ \text{Me-X-Cel} \} = K_1 K_3 \{ \text{X-Cel} \} [\text{Me}^{z+}]$$

Ce modèle a été décrit en détail par Campbell (1995). Cet auteur montre que nombreux résultats de terrain en confirment la validité, mais il en pose les limites d'application. Chez les mollusques bivalves, le modèle de l'ion libre a été utilisé de façon très probante en particulier dans le cas du cadmium (ex. : Tessier et al., 1993).

Divers sites de complexation à la surface cellulaire ont été proposés. Ils réfèrent tous à des protéines constituant de la membrane qui traversent la bicouche lipidique. Ces canaux protéiques sont plus ou moins spécifiques du transport de tel ou tel ion en fonction de sa charge mais aussi de son rayon ionique. Ainsi, plusieurs cations utilisent les canaux calciques, alors que certains oxyanions les sites de transports des phosphates (Phillips et Rainbow, 1993). A l'opposé, certains éléments, parmi lesquels le fer, possèdent des systèmes de transport très spécifiques (Simkiss et Taylor, 1995 ; Rainbow, 1997).

2.3. Absorption particulière

Les contaminants associés aux matières en suspension inorganiques (argiles, oxydes, etc.) ou organique (ex. : phytoplancton) peuvent aussi être absorbés par les organismes aquatiques. Cette voie est toutefois marginale : d'une part la majorité de l'ingestion par voie digestive s'effectue en fait sous forme dissoute après solubilisation par les sucs digestifs et d'autre part les changements de conditions chimiques qui conditionne la spéciation des contaminants dans le tractus gastro-intestinal (Eh, pH, ligands organiques). On est ainsi ramené aux modèles décrits ci-dessus. Plus rare est la pinocytose (ou la phagocytose) ; elles ont pourtant été signalées dans le cas d'oxydes de fer (et des contaminants associés) au contact des branchies de moules (George et al., 1976).

2.4. Absorption par la nourriture ou l'eau

Borchardt (1983 et 1985) a apporté une réponse à la question de la voie préférentielle d'entrée du cadmium chez la moule par des expériences de double marquage, le Cd^{109} servant à marquer la nourriture et le Cd^{115} l'eau. Il a pu mettre en évidence que la nourriture ne contribue que pour moins de 1 % au contenu en cadmium de l'animal. Cependant, l'absorption du métal en solution est

¹ Les parenthèse et crochets correspondent aux activités des espèces

directement corrélé avec la quantité de nourriture ingérée. L'accumulation d'après Borchardt (1985) est très étroitement reliée à l'incorporation nette de carbone.

3. Stockage

Les mollusques comme les autres organismes accumulent les substances lipophiles dans les tissus riches en graisses. Les variations dans la proportion des constituants cellulaires de base (lipides, protéines et glucides) aura donc des incidences sur la rétention des contaminants organiques apolaires. Notons aussi que certains contaminants organiques peuvent être dégradés par des processus enzymatiques. Les métaux, quant à eux, s'accumulent principalement dans l'hépatopancréas et dans le rein des mollusques. Ces deux organes sont aussi des sites d'accumulation de phosphate de Ca, de Sr et de Mg, ainsi que de protéines de la famille des métalloprotéines pour lesquelles les éléments des groupes IIB ont beaucoup d'affinité.

Dans les cellules hépatiques et rénales les métaux sont stockés sous forme de sphérocristaux ou de dépôts lysosomaux (Simkiss et Taylor, 1989). Dans le premier cas il pourrait s'agir de précipités métalliques sous forme de carbonates, sulfures, phosphates et séléniures, comme cela a été montré chez des vertébrés (Martoja et Martoja, 1982). Certains granules intracellulaires riches en métaux semblent être les produits finaux de dégradation des métallothionéines et faire ainsi partie des mécanismes de détoxication. En effet, les métallothionéines qui ont une très forte affinité pour les métaux divalents ont un turn-over rapide. Elles sont, d'abord, très solubles dans le cytosol, puis s'accumulent dans les lysosomes tertiaires, structures cellulaires largement présents dans les tissus riches en granules (Georges, 1990, cité par Phillips et Rainbow, 1993).

4. Excrétion des contaminants

Si les mécanismes d'absorption sont comme on l'a vu nombreux et actifs, les mécanismes d'excrétion le sont moins, induisant ainsi une bioaccumulation. C'est le cas en particulier des composés organohalogénés qui sont stockés dans les graisses et dont l'accumulation est largement gouvernée par le métabolisme lipidique. Cependant l'excrétion est, comme l'absorption, fonction des propriétés chimiques des contaminants qui conditionnent leur réactivité vis-à-vis de constituants cellulaires. Par exemple, les PCB les moins chlorés présentent des « turn-over » plus rapides que leurs congénères plus substitués (Tanabe et al., 1987). Par ailleurs, les contaminants non assimilés dans le tractus digestif sont excrétés rapidement. C'est le cas des contaminants fortement fixés (adsorbés) aux surfaces des micro-algues mais non intégrés dans le cytoplasme (Fisher et Reinfelder, 1995). Ils font partie des substances à cycle court qui sont rapidement transférées de la zone productive aux sédiments. Ils s'agit entre autres des éléments à temps de résidence courts dans le milieu aquatique. Ces fractions chimiques concernent peu la présente revue puisqu'elles ne sont pas véritablement incorporées dans la matière vivante.

L'urine est une voie primordiale d'excrétion des contaminants chez les mollusques (Fig 3). La capacité d'excrétion des métaux en solution est liée à la richesse en protéines des fluides sanguins qui peuvent constituer des complexants puissants et empêcher l'ultrafiltration dans les tubules. L'excrétion rénale particulière est mieux documentée que l'excrétion liquide. Georges et Pirie (1980) ont mis en évidence la présence de granules riches en zinc dans l'urine de moule. Chez les mollusques, les métaux sont en effet présents dans les granules intracellulaires, comme déchets métaboliques dans les lysosomes ou sous forme de sphérocristaux libres dans le cytoplasme. Ils sont excrétés par exocytose du contenu vacuolaire, par épanchement de podocytes rénaux ou encore par diapédèse de granules *in toto* dans le tractus urinaire (Fig. 3) (Coombs, 1980). Leur excrétion est aussi possible grâce à la migration d'amœbocytes à travers le rein mais aussi le manteau (George, 1990, cité par Phillips et Rainbow, 1993).

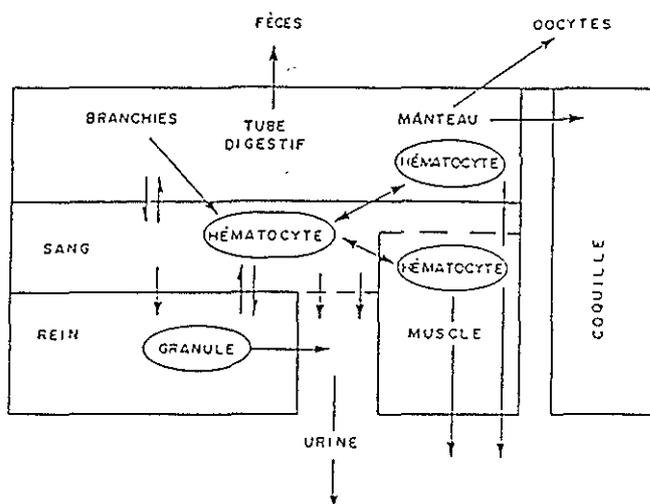


Figure 3. Mécanismes d'excrétion (d'après George et Pirie, 1980).

L'excrétion de contaminants chez la moule s'effectue aussi *via* les byssus, c'est le cas pour certains radioéléments et l'arsenic (Goldberg et al., 1983 ; Unlu et Fowler, 1979 cités par Phillips et Rainbow, 1993). Enfin, une voie importante et constituée par l'émission des gamètes lorsque les mollusques perdent jusqu'à 30 % de leur poids.

5. Contamination et métabolisme

En résumé la bioaccumulation des contaminants chez les organismes marins, en particulier les mollusques bivalves, constitue un phénomène gouverné par des équilibre thermodynamiques et des cinétiques. Simkiss et al. (1982) introduit l'expression de « un piégeage cinétique » au cours duquel le contaminant est amené de sa forme la plus réactive à sa forme la plus stable, avant d'être éventuellement excrété. Pour les composés organiques lipophiles non ou peu métabolisés, la dynamique, du pool lipidique va conditionner les variations de contenu interne. La concentration d'un contaminant apolaire dans un organisme dépendra non seulement des variations de poids de cet organisme mais aussi des variations de la fraction lipidique. Pour les composés métalliques, c'est le métabolisme protéique qui sera impliqué. Ainsi, en règle générale, les variations de proportion des différents tissus durant les différentes phases de la croissance, pendant le jeûne, ou au cours du développement des gonades et de leur expulsion, conditionneront les teneurs en contaminants dans l'animal. De plus, pour de nombreux métaux, dits essentiels, en tant que co-facteurs d'enzyme par exemple, la stratégie d'accumulation d'un organisme est fonction des besoins ; ces « oligoéléments-contaminants » sont régulés jusqu'à une certaine limite de concentration utile au métabolisme. A un extrême, la « stratégie de l'organisme » peut consister en une accumulation nette sans excrétion. A l'autre extrême, certains invertébrés régulent leur contenu à un niveau à peu près constant dans une large gamme de concentration d'espèces biodisponibles dans le milieu ambiant (Phillips et Rainbow, 1993). Ces animaux ne sont donc pas, dans cette gamme de concentration, de bon indicateur de la contamination ambiante : c'est le cas du cuivre et du zinc chez la moule (Phillips et Rainbow, 1989).

6. Aspects cinétiques

La connaissance des cinétiques de bioaccumulation des organochlorés est limitée. Fowler (1982) fait état de cinétiques de l'ordre de la semaine ou du mois chez les invertébrés benthiques. L'accumulation de certains hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par *Mytilus* semble aussi rapides (Lee et al. cité par Neff, 1979). L'excrétion l'est moins. D'autres expériences effectuées chez d'autres bivalves démontrent, la bioaccumulation était visible après 24 heures mais le retour à la concentration initiale après dépuration (incluant l'excrétion et la métabolisation) allait jusqu'à 58 jours. Le temps de demi-vie du benzo(a)pyrène chez *M. edulis* a été estimé à 16 jours (Dunn et Stich, 1976).

La connaissance des cinétiques de contaminants-décontamination des contaminants métalliques et métalloïdiques chez les mollusques proviennent surtout d'expériences utilisation de radionucléides. Fowler (1982) en a fait une revue détaillée. Les réponses des bivalves à des augmentations importantes de biodisponibilité sont détectables très rapidement, après quelques heures de mise en expérience seulement ; l'élimination est elle beaucoup plus longue : de l'ordre de la semaine, voire du mois ; 150 fois plus lente que l'absorption pour le cadmium chez *Mytilus edulis* (George et Coombs, 1977). L'équilibration en période de contamination est bien sur beaucoup plus longue, de l'ordre de quelques semaines à quelques mois suivant le radioélément. Le retour à la normale après contamination expérimentale est encore plus long. Chez le genre *Mytilus* les temps de demi-vie calculés varient de 32 jours pour l'As⁷⁵ à 480 pour l'Am²⁴¹ (Table 4 de Fowler, 1982). Pour le cadmium, par exemple, l'équilibre entre l'animal et son milieu n'est pas atteint après deux mois d'expérience. De plus, il ne semble pas il y avoir d'équilibre dans les tissus entre le Cd¹⁰⁹ expérimental et le Cd stable déjà présent dans la moule. D'après Borchardt (1985), le temps de demi-vie biologique du cadmium chez *M. edulis* varie dans ces expériences de 96 à 190 jours de façon inversement proportionnelle avec la quantité de nourriture disponible. Pour le mercure chez *M. edulis* Riisgard et al. (1985) calculent des temps de demi-vie de 53 à 293 jours.

Notons qu'alors que l'absorption constitue un processus relativement continu, l'expulsion de granules intracellulaires (qui constitue une voie importance d'excrétion des contaminants métalliques) semble survenir par épisode (Phillips et Rainbow, 1993) ; ce phénomène est susceptible d'amplifier les variations temporelles des concentrations en métaux chez les bivalves (Cossa, 1989).

7. Conséquences en terme sur les stratégies de « biomonitorage passif et actif »

Plusieurs auteurs ont passé en revue les facteurs biotiques et abiotiques dont il faut tenir compte pour optimiser et contraindre l'interprétation du biomonitorage quantitatif utilisant la moule (N.A.S., 1978 ; Phillips, 1980 ; Phillips et Segar, 1986 ; Cossa, 1989 ; de Kock et Kramer, 1994). La figure 4 en résume les principaux : taille (âge), croissance, gamétogénèse, ponte, saison, salinité, température, production primaire. Nous rappelons ici simplement quelques précautions et solutions techniques préconisées pour prendre ces facteurs de variation en compte. Certaines d'entre elles font partie de la stratégie du R.N.O., d'autres n'y ont pas été incluses en raison de difficultés techniques ou des coûts.

Idéalement, pour maximiser l'effet de la biodisponibilité et minimiser les effets des autres causes sur les teneurs en contaminants chez la moule on doit utiliser **des individus de même âge et de même condition physiologique**. Dans la pratique, l'âge est souvent évalué par la taille et la condition physiologique prise en compte par un échantillonnage trimestriel. Ces compromis ne sont acceptables qu'à condition d'en tenir compte lors de l'interprétation des résultats.

Dans le cas de contaminants non régulés, le niveau de concentration observée chez la moule correspond à un niveau de pseudo-équilibre entre les teneurs internes et celles du milieu extérieur que l'on veut surveiller. D'une part les cinétiques d'absorption et d'excrétion sont

lentes par rapport aux variations de biodisponibilité dans le milieu². D'autre part, les facteurs biotiques qui jouent sur l'absorption, la dilution, l'accumulation, l'excrétion varient dans le temps, à la fois selon des cycles complexes et asynchrones. Enfin cette situation complexe a des conséquences propres pour chaque contaminant et difficilement généralisable même pour une classe donnée de contaminant.

La description des processus physiologiques décrits ci-dessus, en particulier des cinétiques d'absorption et excrétion, permet de tirer quelques enseignements spécifiques au cas des expériences de transplantations de moules. Les moules mises en expérience doivent provenir d'un lot homogène (âge et état physiologique) vivant dans un site moins contaminé que les sites prévus pour la transplantation et les durées d'exposition minimales. Les pseudo-équilibres entre l'animal et son milieu ne sont pas à rechercher à tous prix, surtout si leur obtention nécessite une durée d'exposition pouvant conduire à une situation de stress physiologique de l'animal.

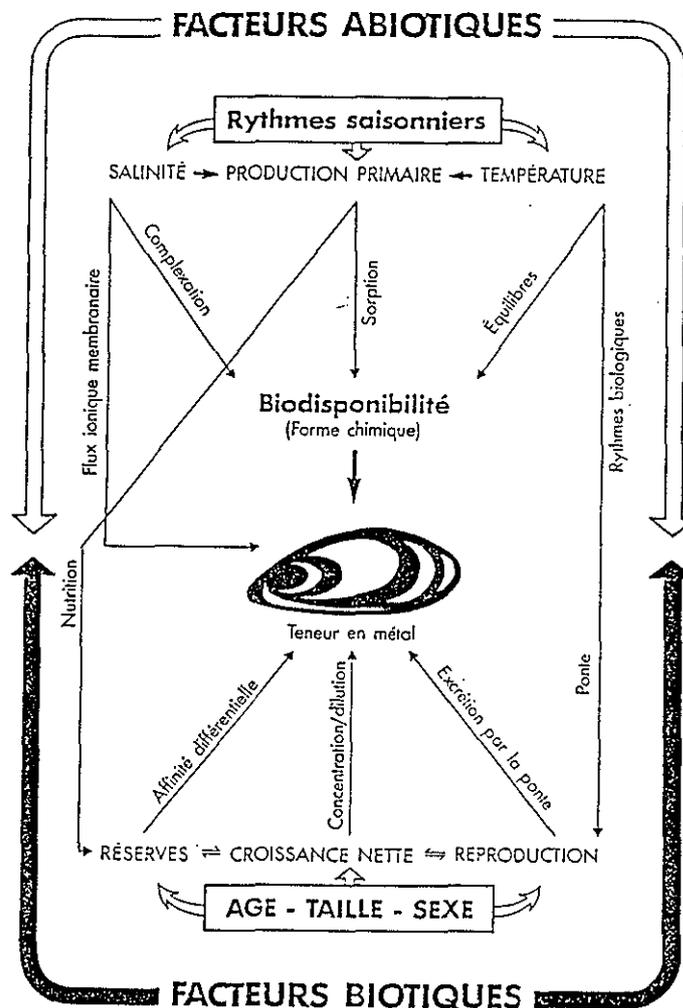


Figure 4. Représentation schématique des facteurs régulant la concentration en contaminants chez la moule (d'après Cossa, 1989).

² Ce sont ces problèmes de cinétiques qui, entre autre, différencient les stratégies de biomonitorage d'une part par des moules sauvages ou cultivées (monitorage dit passif) et d'autre part par des moules transplantées (monitorage dit actif).

Ce que l'on observe, lorsque l'on mesure la concentration d'un contaminant dans les tissus d'une moule, c'est le résultat lissé de phénomènes complexes et contradictoires, où l'influence de la teneur dans le milieu ne peut être détectée qu'à partir du moment où les variations de concentration y sont fortes ou que l'on dispose de données nombreuses dans le temps et dans l'espace qui vont permettre des traitements statistiques d'évaluation de tendance (Beliaeff et al., 1997). L'inconvénient du biomonitoring est en effet que l'on a à faire à des être vivants !

8. Références

- Beliaeff, B., T.P. O'Connor, D.K. Daskalakis et P.J. Smith. 1997. U.S. Mussel Watch Data from 1986 to 1994 : Temporal Trend Detection at Large Spatial Scales. *Environ. Sci. Technol.*, **31** : 1411-1415.
- Borchardt, T. 1983. Influence of food quantity on the kinetic of cadmium uptake and loss via food and sea water in *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* **76** : 67-76.
- Borchardt, T. 1985. Relationships between carbon and cadmium uptake by *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* **85** : 233-244.
- Campbell, P.G.C. 1995. Interactions between Trace Metals and Aquatic Organisms : A Critique of the Free-ion Activity Model. In.: *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. et D.R. Turner ed. J. Wiley and Sons. pp. 45-102.
- Coombs, T.L. 1980. Heavy Metal Pollutants in Aquatic Environments. In.: *Animals and Environmental Fitness : Physiology and Biochemical Aspects*. Pergamon Press, N.Y.
- Cornec, E. 1919. Spectrographic studies of ash of marine plants. *Compt. Rendu.* **168** : 513-514.
- Cossa, D. 1988. Cadmium in *Mytilus* spp. : Worldwide Survey and Relationship between Seawater and Mussel Content. *Mar. Envir. Res.*, **26** : 265-284.
- Cossa, D. 1989. A Review of the use of *Mytilus* spp. as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanol. Acta*, **12** : 417-432.
- Dunn, B.P. et H.F. Stich. 1976. Release of carcinogen benzo(a)pyrene from environmentally contaminated mussels. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **14** : 398-401.
- Fisher, N.S. et J.R. Reinfelder. 1995. The Trophic Transfer of Metals in the Marine Systems. In.: *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. et D.R. Turner eds. J. Wiley and Sons. pp. 363-406.
- Fowler, S. 1982. Biological Transfer and Transport processes. In.: *Pollutant Transfer and Transport in the Sea*. Vol. II. G. Kullenberg ed. CRC. Press. Pp. 1-65.
- George, S.G. et T.L. Coombs. 1977. The effects of chelating agents on the uptake and accumulation of cadmium by *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, **39** : 261-268.
- George, S.G., B.J.S. Pirie, et T.L. Coombs. 1976. The kinetics of accumulation and excretion of ferric hydroxide in *Mytilus edulis* (L.) and its distribution in the tissues. *J. exp. Mar. Biol. Ecol.*, **23** : 71-84.
- George, S.G. et B.J.S. Pirie. 1980. Metabolism of zinc in the mussel, *Mytilus edulis*. *J. mar. Biol. Ass. U.K.*, **60** : 575-590.
- Goldberg, E.D. 1975. The Mussel Watch. *Mar. Pollut. Bull.*, **6** : 111.
- Harvey, G.R., W.G. Steinhauer et J.M. Teal. 1973. Chlorinated hydrocarbons in open ocean Atlantic organisms. In.: *Changing Chemistry of the Oceans*. Green, D. and D. Jagner ed. J. Wiley and Sons, N.-Y. pp. 177-186.

- de Kock, W.C. et J.M. Kramer. 1994. Active Biomonitoring (ABM) by Translocation of Bivalves Molluscs. Chap. 3. In : *Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries*. J.M. Kramer ed. CRC Press, Boca Raton. pp. 51-84.
- Martoja, M. et R. Martoja. 1982. La bioaccumulation des métaux : processus physiologiques normaux et conséquences de la pollution. *Le Courrier du CNRS*, **54** : 32-37.
- Morel, F.M.M. et N.M.L. Morel-Laurens. 1983. Trace metals and phytoplankton in the oceans ; facts and speculations. In : *Trace Metals in Sea Water*. Wong, C.S. et al. eds. Plenum Press, N.-Y. pp.842-851.
- N.A.S. (National Academy of Sciences). 1980. *The International Mussel Watch*. Report of the Environmental Study Board. Office of Publication NAS, Washington, 248pp.
- Neff, J.M. 1979. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*. Appl. Sci. Publish. 262pp.
- Phillips, D.J.H. 1980. *Quantitative Aquatic Biological Indicators*. Applied Sci. Publi. London, 488pp.
- Phillips, D.J.H., et D.A. Segar. 1986. Use of Bio-indicators in Monitoring Conservative Contaminants : Programmes Design Imperatives. *Mar. Pollut. Bull.*, **17** : 10-17.
- Phillips, D.J.H. et P.S. Rainbow. 1993. The biomonitoring of trace metals and radionucléides. In : *Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants*. Chapman & Hall ; pp. 79-132.
- Phillips, D.J.H. et P.S. Rainbow. 1989. Strategies of Trace Metal Sequestration in Marine Organisms. *Mar. Environ. Res.*, **28** : 207-210.
- Rainbow, P.S. 1997. Trace Metal Accumulation in Marine Invertebrates : Marine Biology or Marine Chemistry. *J. mar. Biol. Ass. U.K.*, **77** : 195-210.
- Riisgard, H.U., T. Kiorboe, F. Mohlenberg, I. Drabaek et P.P. Madsen. 1985. Accumulation, elimination and chemical speciation of mercury in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma baltica*. *Mar. Biol.* **86** : 55-62.
- Simkiss, K. et M.G. Taylor. 1989. Convergence of cellular systems of metal detoxification. *Mar. Environ. Res.*, **28** : 211-214.
- Simkiss, K. et M.G. Taylor. 1995. Transport of Metals Across Membranes. In : *Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems*. Tessier, A. et D.R. Turner eds. J. Wiley and Sons. pp. 2-44.
- Stein, W.D. 1986. *Transport and Diffusion across Cell Membrane*. Academic Press, N.-Y. pp. 69-79.
- Tanabe, S., R. Tatsukawa, et D. J.H. Phillips. 1987. Musels as bioindicators of PCB pollution : case study on uptake and release of PCB isomers and congeners in green-lipped mussels (*Perna viridis*) in Hong Kong waters. *Environ. Pollut.*, **47** : 41-62..
- Tessier, A., Y. Couillard, P.G.C. Campbell et J.C. Auclair. 1993. Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*. *Limnol. Oceanogr.*, **38** : 1-17.
- Thoman, R.V. 1981. Equilibrium model of fate of micro-contaminants in diverse aquatic food chains. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **38** : 280-296.
- Vinogradov, A.P. 1953. *The elementary chemical composition of marine organisms*. Sears Foundation of Marine Research. University of New Haven, Connecticut. 647 pp.

IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997

Centre de Nantes

Les indices de stress (éco)physiologiques de la nutrition chez la moule

Serge BOUGRIER
DRV/RA

1. Définition

Tout le monde parle de stress, mais pour la définition de ce mot....

Dans la littérature, la moins mauvaise définition, en relation avec le sujet, semble être celle d'un anglo-saxon (volontairement non traduite): «*The impact of an environment change on an organism is realized as alterations to various physiological, cellular or biochemical steady-state. If the organism in its altered condition is significantly less fitted for survival, growth and reproduction, then it is said to be under stress.*

The stress response is defined as a measurable alteration of functional steady-state which is induced by an environment change and which renders the individual (or population) more vulnerable to further environmental change.... »

L'impact des changements de l'environnement de l'animal peut être mesuré au niveau moléculaire (augmentation de la concentration des 'Stress Proteins' Pickwell et al., 1988; Tsoerkan et al., 1991; Steiner et al., 1993, ou d'activités enzymatiques, Viarengo et al., 1989; Da Ros et al., 1995), au niveau cellulaire (système lysosomal des cellules digestives, Marigomez et al., 1996, ou des gradients moléculaires transmembranaires Borseth et al., 1995) ou au niveau tissulaire (observation de lésions, Sunila, 1988; Sunila et al., 1988; Da Ros et al., 1995).

Les répercussions de ces modifications moléculaires, cellulaires ou tissulaires peuvent engendrer des modifications plus importantes. Ainsi, l'action de contaminants carcinogènes (Bolognesi et al., 1996) peut induire des tumeurs perturbant le physiologie de la nutrition de la moule. De même, l'action de polluants réduisant l'efficacité du système immunitaire (Pipe et al., 1995) ou induisant des lésions branchiales ou digestives (Sunila, 1988; Sunila et al., 1988; Da Ros et al., 1995) provoque des perturbations des fonctions physiologiques de la nutrition. Chez les bivalves filtreurs, la branchie est l'organe de capture à la fois de l'oxygène et de la nourriture. Il est évident que l'apparition d'une nécrose de la branchie entraîne une réduction de la surface de capture perturbant (réduisant) ainsi l'acquisition des deux éléments indispensables au métabolisme (pour mémoire Métabolisme = Anabolisme + Catabolisme), le comburant (« catabolisme ») et le carburant (« anabolisme »). De même, l'altération des cellules digestives (ulcérations, perturbations de l'activité enzymatique) entraîne une réduction de la dégradation des aliments donc de l'énergie absorbée par

l'animal. La croissance de cet animal sera, ainsi, d'autant plus réduite que ces altérations seront importantes.

2. Modifications des fonctions physiologiques de la nutrition

2.1. Comportement général, activités de nutrition, anaérobiose

Certains polluants peuvent influencer le comportement général du filtreur et notamment ses activités de respiration et d'acquisition de nourriture (filtration, etc.). Ainsi par exemple, en présence, pour la première fois, d'algues toxiques du genre *Alexandrium*, la coquille Saint-Jacques présente un mouvement de fuite, le Clam *Mercenaria* rétracte ses siphons et cesse toute activité, l'huître *Crassostrea gigas* après avoir «goûté» sa nourriture pendant quelques minutes cesse toute activité de filtration jusqu'à la fin (6h) de l'expérimentation (Lassus et al., 1996). Dans de telles conditions d'absence d'oxygène, l'animal oriente son métabolisme vers l'anaérobiose. Lorsque le polluant a été bioaccumulé par l'animal, cette anaérobiose peut également être perturbée. En effet, la survie de l'animal exondé, ou élevé dans des conditions d'hypoxie, peut être fortement réduite (Viarengo et al., 1989; Tsoerkan et al., 1991; Small et al., 1991; Wang et al., 1992, 1993; Viarengo et al., 1995).

2.2. Consommation d'oxygène

Selon le polluant, il a été observé soit une réduction, soit une augmentation (expliquée par un éventuel effet irritant du contaminant) de la quantité d'oxygène consommée par l'animal.

2.3. Acquisition de la nourriture

L'effet des différents polluants étudiés sur les fonctions d'alimentation chez les bivalves se traduit toujours par une diminution de la quantité de la nourriture capturée (Lowe et al., 1985; Widdows, 1992; Abdel-Moati, 1992; Steinert et al., 1993; Eertman et al., 1995), par une augmentation de la quantité d'aliments rejetés dans les pseudofèces.

2.4. Potentialités de croissance (Scope For Growth)

Le SFG est défini comme la différence entre l'énergie de la nourriture absorbée (nourriture digérée qui passe de la lumière du tube digestif dans le milieu intérieur) et la quantité d'énergie perdue par le métabolisme (catabolisme, mesuré par la consommation d'oxygène). Un SFG positif signifie que l'animal acquiert plus d'énergie qu'il n'en dépense, assurant ainsi une production de coquille et/ou de tissus (croissance), voire une accumulation de substances énergétiques de réserve (principalement le glycogène) dans des tissus spécialisés (manteau, chez la moule ou cellules externes de la glande digestive chez l'huître). Une valeur proche de zéro du SFG indique que le métabolisme de l'animal ne suffit uniquement à sa survie, alors qu'une valeur négative indique que l'animal doit utiliser ses réserves énergétiques pour assurer sa survie.

Les polluants peuvent réduire considérablement la valeur de ce SFG (Widdows et al., 1988, 1993). Ces résultats sont logiques, dans la mesure où, à la fois les fonctions d'acquisition de nourriture, et d'oxygène sont perturbées par les contaminants.

2.5. Réserves énergétiques et reproduction

Les faibles valeurs positives, voire négatives de SFG, ne permettent pas à l'animal d'accumuler les substances de réserves nécessaires, non seulement à la survie de l'animal, mais également à certains processus de maturation (pré- et vitellogénèse, notamment) des gamètes en

période de reproduction. De tels effets négatifs de contaminants sur l'accumulation des réserves et la gamétogénèse ont été observés notamment par Lowe et al. (1985).

3. Eléments de Réflexions pour l'expériences RINBIO

De tels effets notés dans la littérature ne sont observés que pour des doses importantes, généralement sub-létales, des polluants, ce qui ne semble pas être le cas des eaux méditerranéennes. Les faibles doses n'induiraient, au moins à court terme, que de faibles différences dans la réponse des animaux. Dans ces conditions, la notion de stress en opposition à un état physiologique « normal » reste à discuter.

3.1. Taxonomie

Lobel et al. (1990) signalent que le statut taxonomique du genre *Mytilus* est un paramètre important à prendre en compte dans les études de « mussel watch ». En effet, ils signalent que les avancées dans le domaine génétique montrent que des moules canadiennes dites *edulis* sont en fait *galloprovincialis* voire *trossulus*. De plus, ils indiquent que *M. trossulus* concentre plus certains polluants que *M. edulis*. Les résultats d'expériences en collaboration avec l'équipe du Plymouth Marine Laboratory (PML, B.L. Bayne, A.J.S. Hawkins) n'ont été publiés (Hawkins et al., 1997, 1998) qu'après vérification génétique de l'espèce *M. edulis*. Ces spécialistes de la nutrition de la moule semblent avoir observé des différences entre *M. edulis* et des hybrides *M. edulis* x *M. galloprovincialis* (données non publiées).

3.2. Variabilité interindividuelle

Les bivalves sont caractérisés par une importante variabilité interindividuelle de la réponse des fonctions physiologiques à des changements « normaux » du milieu environnant. Ainsi pour tenir compte de cette variabilité, les modèles statistiques des différentes fonctions physiologiques, pour refléter la réponse moyenne réel d'un individu, sont établis sur un nombre important d'animaux, d'une centaine (Hawkins et al., 1998) à plus de trois cents (Bougrier et al., 1995).

3.3. Activités

L'huître creuse en présence d'*Alexandrium* spp n'est active que quelques instants (Lassus et al., 1996). Il pourrait donc être conclu que cette algue toxique réduit considérablement l'activité de l'animal. Mais qu'elle est le temps d'activité d'une huître élevée dans des conditions 'normales'.

Le développement récent des techniques d'acquisition en continu de la filtration de l'huître creuse (Bougrier et al., données non publiées, en préparation) ne permet pas encore de donner une valeur de Feeding Time Activity (FTA). Par contre, Bougrier et al. (1998) étudiant le RTA (Respiratory Time Activity, correspondant au pourcentage du temps expérimental (24h) pendant lequel une huître, constamment immergée, respire) dans différentes conditions de milieux naturels et expérimentaux, montrent que dans une population, une huître moyenne ne respire qu'environ 80% de son temps d'immersion, et qu'en période de post-ponse la valeur de ce RTA ne serait que de 60%. La mesure de ce RTA montre une importante variabilité interindividuelle, puisque si certains animaux restent pendant 24h (RTA = 100%), d'autres ne consomment pas d'oxygène pendant toute la période de mesure (RTA = 0%).

3.4. Température

Les changements de température peuvent influencer les fonctions physiologiques de nutrition de l'animal. Ainsi, Bougrier et al. (1995) ont étudié les fonctions de respiration et de filtration de l'huître creuse *Crassostrea gigas*, de différentes tailles et à des températures variant de 5 à 32°C, après une diminution ou augmentation de la température naturelle (environ 20°C en Septembre et 10°C en Février) à la température expérimentale de 1°C par jour, et une acclimatation de 10 jours à la température expérimentale. Ces auteurs montrent qu'en Février l'augmentation de la température induit une augmentation de l'intensité de la respiration de l'animal. Par contre, en Septembre, une diminution de la température n'induit pas une diminution graduelle de la quantité d'oxygène consommée par l'huître, mais obtiennent une courbe en paliers.

Les deux modèles statistiques (respiration et filtration) permettent à ces auteurs de présenter une abaque, bien qu'imparfaite, des quantités d'énergie nécessaires à une huître de 1g de poids sec pour assurer sa survie. Due à aux effets de la température, parabolique sur la filtration, et pratiquement linéaire sur la respiration (Bougrier et al., 1995), des changements de température dans la gamme 5-20°C ont peu d'effets, l'énergie nécessaire à la survie de l'animal variant d'environ 3 J/l à 5°C à 4 J/l à 20°C. Par contre, pour des températures supérieures à 20°C, il faut d'autant plus d'énergie disponible dans l'environnement que la température augmente, l'énergie nécessaire à la survie de l'animal est de 4 J/l à 20°C, 6 J/l à 25°C et d'environ 13 J/l à 32°C.

3.5. Salinité

Chez la moule, l'effet de la salinité sur les fonctions de nutrition ne serait significatifs que pour des salinités inférieures à 20 pour 1000 (Widdows, 1985).

3.6. Remise en suspension

Le modèle de remise en suspension du matériel phytobenthique et son utilisation par l'huître est en cours de développement. Cependant, chez la moule *Mytilus edulis*, Hawkins et al. (1997) montrent qu'expérimentalement la condition la plus favorable à la croissance de la moule est composée d'eaux naturelles enrichies en minéral. De tels résultats ont été observés dans la même expérience sur la coque *Cerastoderma edule* et l'huître *Crassostrea gigas*.

3.7. Tri préingestif et tri postingestif (digestibilité)

Il est maintenant bien connu que les bivalves filtreurs trient la nourriture. De nombreux auteurs ont ainsi montré que ces animaux sont capables de rejeter préférentiellement les particules minérales, avant ingestion, dans les pseudofèces. Des études plus récentes montrent que les filtreurs sont également capable de 'choisir' leur nourriture. Bougrier et al. (1997) montrent ainsi que l'huître creuse *Crassostrea gigas* retient et rejette (dans les pseudofèces) préférentiellement les diatomées. Ces auteurs montrent également que la notion de compétition alimentaire entre l'huître et la moule est à discuter, et probablement à remplacer par la notion de complémentarité. Bougrier et al. (données non publiées) fournissent une explication à l'interdiction de commercialisation uniquement des moules lors de bloom de dinoflagellés. En effet, si la moule et l'huître retiennent sensiblement la même quantité de dinoflagellés, l'huître les rejette plus que la moule. La bioaccumulation des toxiques de type PSP est donc plus importante chez *M. edulis* que chez *C. gigas*.

L'huître creuse retient et rejette dans les pseudofèces de façon comparable deux souches, l'une toxique et l'autre non toxique, d'*Alexandrium tamarense*. Si pratiquement toutes les cellules de la souche toxique ingérées sont absorbées par l'huître (rendement d'absorption d'environ 80%), seul un faible pourcentage de la souche non toxique est absorbée (rendement d'absorption d'environ 17%) par

l'animal. A l'opposé le rendement d'absorption d'une autre espèce toxique, *Alexandrium minutum*, est pratiquement nul (Bardouil et al., 1993).

(Bougrier et al., données non publiées) ont étudié la différence du comportement alimentaire entre l'huître et de la moule soumises à alimentation composée d'algues de petites tailles (<3 µm). Il ressort de cette étude que 1) la moule est capable de 'plus' différencier sa nourriture que l'huître, et que 2) contrairement aux idées reçues, le rendement d'absorption de l'huître est supérieur à celui de la moule.

3.8. Potentialités de croissance (animaux de même âge)

La croissance théorique d'un individu moyen d'une population calculé à partir du SFG (mesuré de façon classique, à savoir jusqu'à 5 réplicats sur une période de mesure de l'ordre de 12h) reflète à peu près correctement la croissance observée. Par contre, cette 'prédiction' de croissance individuelle ne reflète pas la croissance réelle observée (Bougrier et al., données non publiées). Ces observations ont conduit à calculer les SFG à partir de données acquises en continu sur des périodes de 24h, et sur des animaux produits en éclosérie le même jour et élevés dans les mêmes conditions. De très fortes variations de croissance à l'âge de 18 mois ont été observées chez ces animaux: au même âge, le poids total des plus petites huîtres était d'environ 40g, alors qu'il était d'environ 120g pour les plus grosses. Les potentialités de croissance ont été mesurées sur les mêmes animaux, à un mois d'intervalle (septembre et octobre 1997). Les résultats actuels ne permettent pas de définir un SFG « normal » chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*, et encore moins de définir l'effet d'un éventuel stress sur ces potentialités de croissance. En effet, en situation « non stressante », la valeur du SFG peut être négative un mois, et positive le mois suivant.

4. Références

- Abdel-Moati M.A.R. 1992. Biochemical and physiological responses of *Mytilus edulis* to Hg and Pb in the coastal waters of Alexandria region. In : *Proceedings of the FAO/UNEP/IOC workshop on the biological effects of pollutants on marine organisms*. UNEP, Athens (Greece), MAP Tech. Rep. Ser., pp. 61-72.
- Bardouil M., Bohec M., Bougrier S., Lassus P., Truquet P. 1996. Feeding responses of *Crassostrea gigas* (Thunberg) to inclusion of different proportions of toxic dinoflagellates in their diet. *Oceanologica Acta*, 19: 177-182.
- Bolognesi C., Rabboni R., Roggieri P. 1996. Genotoxic biomarkers in *M. gallprovincialis* as indicators of marine pollutants. *Comp. Biochem. Physiol.*, C, 113C: 319-323.
- Borseth J.F., Aunass T., Denstad J.P., Nordtug T., Olsen A.J., Schmid R., Skarjaervo G., Zachariassen K.E., 1995. Transmembrane sodium energy gradient and calcium content in the adductor muscle of *Mytilus edulis* L. in relation to toxicity of oil and organic. *Aquat. Toxicol.*, 31: 263-276.
- Bougrier S., Collet B., Geairon P., Geffard O., Héral M., Deslous-Paoli J.M. 1998. Respiratory time activity of the Japanese oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, sous presse.
- Bougrier S., Geairon P., Deslous-Paoli J.M., Bacher C., Jonquières G. 1995. Allometric relationships and temperature effects on clearance and oxygen consumption rates in *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, 134: 143-154.
- Bougrier S., Hawkins A.J.S., Héral M. 1997. Preingestive selection of different algal mixtures in *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis*, analysed by flow cytometry. *Aquaculture*, 150: 123-134.

- Da Ros L., Nasci C., Campesan G., Sartello P., Stocco G., Menetto A., Forlin L., Andersson I. 1995. Effects of linear alkylbenzene sulphonate (LAS) and cadmium in the digestive gland of *Mytilus* sp. *Mar. Environ. Res.*, **39**: 321-324.
- Eertman R.H.M., Groenink C.L.F.M.G., Sandee B., Hummel H., Small A.C., Forlin., Andersson T. 1995. Response of the blue mussel *Mytilus edulis* L. following exposure to PAHs or contaminated sediment. *Mar. Environ. Res.*, **39**: 169-173.
- Granby K., Spliid N.H. 1995. Hydrocarbons and organochlorines in common mussels from the Kattegat and the Belts and their relation to condition indices. *Mar. Pollut. Bull.*, **30**: 74-82.
- Hawkins A.J.S., Bayne B.L., Bougrier S., Héral M., Iglesias J.I.P., Navarro E., Smith R.F.M., Urrutia M.B. 1998. Some general relationships in comparing the feeding physiology of suspension-feeding bivalve molluscs. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, sous presse.
- Hawkins A.J.S., Smith R.F.M., Bougrier S., Bayne B.L., Héral M. 1997. Manipulation of dietary conditions for maximal growth in mussels, *Mytilus edulis* L., from the Marennes-Oléron, France. *Aquat. Living Resour.*, **10**: 13-22.
- Lassus P., Wildish D.J., Bardouil M., Martin J.L., Bohec M., Bougrier S. 1996. Ecophysiological study of toxic *Alexandrium* spp effects on the oyster *Crassostrea gigas*. In: *Harmful and Toxic Algal Blooms*, Yasumoto, T., Oshima, Y. et Fukuyo, Y. (eds.), IOC/UNESCO Publish. : 409-412.
- Lobel P.B., Belkhole S.P., Jackson S.E., Longerich H.P. 1990. Recent taxonomic discoveries concerning the mussel *Mytilus*: Implications for biomonitoring. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **19**: 508-512.
- Lowe D.M., Pipe R.K., Moore M.N. 1985. Cellular responses in the mussel *Mytilus edulis* following exposure to diesel oil emulsions: Reproductive and nutrient storage cells. *Mar. Environ. Res.*, **17**: 234-237.
- Marigomez I, Orbea A, Olabarrieta I, Etxeberria M. 1996. Structural changes in the digestive lysosomal system of sentinel mussels as biomarkers of environmental stress in mussel-watch programmes. *Comp. Biochem. Physiol., C*, **113C**: 291-297.
- Pickwell G.V., Steinert., Stegeman J.J., Moore M.N. 1988. Accumulation and effects of organotin compounds in oysters and mussels: Correlation with serum biochemical and cytological factors and tissue burdens. *Mar. Environ. Res.*, **24**: 215-218.
- Pipe R.K, Coles J.A., 1995. Environmental contaminants influencing immune function in marine bivalve molluscs. *Fish Shellfish Immunol.* **5**: 581-595.
- Small A.C., Wagenvoort A., Hemelraad J., Akkerman L. 1991. Response to stress of mussel (*Mytilus edulis*) exposed in Dutch tidal waters. *Comp. Biochem. Physiol., C.*, **100C**: 197-200.
- Steinert S.A., Pickwell G.V., Stegeman J.J., Moore M.N. Hahn M.E. 1993. Induction of HSP70 proteins in mussels by ingestion of tributyltin. *Mar. Environ. Res.*, **35**: 89-93.
- Sunila I., Stegeman J.J, Moore M.N. 1988. Pollution-related histopathological changes in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar./ Env. Res.*, **24**: 277-280.
- Sunila L., 1988. Acute histological responses of the gill of the mussel, *Mytilus edulis*, to exposure by environmental pollutants. *J. Invertebr. Pathol.*, **52**: 137-141.
- Tsoerkan M.B.V., Holwerda D.A., Zandee D.I. 1991. Anoxic survival time and metabolic parameters as stress indices in sea mussels exposed to cadmium or polychlorinated biphenyls. *Arch. Environ. contam. Toxicol.*, **20**: 259-265.

- Viarengo A., Canesi L., Pertica M., Mancinelli G., Accomando R., Small A.C., Orunesu M., Forlin L., Andersson T. 1995. Stress on stress response: A simple monitoring tool in the assessment of a general stress syndrome in mussels. *Mar. Environ. Res.*, **39**: 245-248.
- Viarengo A., Pertica M., Canesi L., Accomando R., Mancinelli G., Orunesu M., Moore M.N., Stegeman J.J. 1989. Lipid peroxydation and level of antioxidant compounds (GSH, vitamin E) in the digestive glands of mussel of three different age groups exposed to anaerobic and aerobic conditions. *Mar. Environ. Res.*, **28**: 291-295.
- Wang W.X., Widdows J., Page D.S., Stegeman J.J., Moore M.N., Hahn M.E. 1992. Effects of organic toxicants on the anoxic energy metabolism of the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Environ. Res.*, **34**: 327-331.
- Wang W.X., Widdows J., Stegeman J.J., Moore M.N., Hahn M.E. 1993. Interactive effects of pentachlorophenol (PCP) and hypoxia on the energy metabolism of the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Environ. Res.*, **35**: 109-113.
- Widdows J., 1985. The effects of fluctuating and abrupt changes in salinity on the performances of *Mytilus edulis*. In: *Marine Biology of polar regions and effects of stress on marine organisms*. J.S. Gray, M.E. Christianse (eds.), Wiley-Interscience, pp. 555-566.
- Widdows J., 1992. Role of physiological energetics in ecotoxicology and environmental pollution monitoring. In: *Proceedings of the FAO/UNEP/IOC workshop on the biological effects of pollutants on marine organisms*, UNEP, Athens (Greece), MAP Tech. Rep. Ser., pp. 41-60.
- Widdows J., Johnson D., Bayne B.L., Clarke K.R., Gray K.R. 1988. Physiological energetics of *Mytilus edulis*: Scope for growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **46**: 113-121.
- Widdows J., Salkeld P. 1993. Role of scope for growth in environmental toxicology and pollution. In: *Selected techniques for monitoring biological effects of pollutants in marine organisms*, UNEP, Athens (Greece), Map Tech. Resp. Ser., **71**: 115-146.

IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997

Centre de Nantes

Croissance et condition des moules *Mytilus galloprovincialis* dans quelques sites caractéristiques de Méditerranée

par Dominique BUESTEL
DRV/RA

1. Introduction

La croissance et la condition des moules sont extrêmement variables suivant les sites et les conditions de vie. La richesse des eaux en terme d'éléments nutritifs pour les moules est un des critères importants en ce qui concerne la composition des tissus tout au long de l'année. Aussi plutôt que de faire une étude exhaustive de tout ce qui a été publié sur *Mytilus galloprovincialis* en Méditerranée on a préféré rechercher des informations sur quelques sites caractéristiques, si possibles représentatifs des diverses conditions de milieu rencontrées au niveau des zones concernées par le réseau RINBIO. Ces sites (carte en annexe) sont caractérisés par un gradient de richesse croissant : mer ouverte très pauvre correspondant aux zones situées à l'est du Rhône, mer ouverte enrichie par les apports du Rhône, lagunes plus riches comme celle de Thau et zone exceptionnellement riche du golfe de Fos.

Des données de base seront présentées sur les conditions trophiques du milieu, la croissance linéaire et le cycle biologique des moules (biométrie et composition biochimique des animaux). Des indices de condition sont souvent employés, nous citerons celui de Medcof Needler dont la définition est donnée en annexe. Au delà de la croissance les phénomènes de reproduction conditionnent la composition tissulaire et donc la rétention globale des contaminants. Les produits génitaux se développant au niveau du manteau et de la masse viscérale de l'animal, une étude histologique est indispensable pour décrire le cycle de maturation et ponte. Lubet (1973) propose une échelle de maturation détaillée qui a été reprise par la plupart des auteurs. Nous en donnons en annexe une version simplifiée.

2. Mer ouverte en situation oligotrophique

2.1. Site de Martigues Ponteau

Parache (1985) étudie en parallèle des moules d'une moulière naturelle et des animaux en élevage en filière au niveau de l'emplacement de la prise d'eau de la centrale de Martigues Ponteau (station 1 de la thèse).

Les températures varient de 10 à 22 °C et la salinité de 35 à 39‰. Les eaux sont pauvres avec une teneur moyenne en chlorophylle de l'ordre de 0.88µg/l. L'énergie disponible y est faible, avec une somme des PLG moyenne de 105µg/l correspondant à une valeur énergétique de 0.56 calorie ou environ 2 joules par litre d'eau de mer. Cette station peut être considérée comme représentative des eaux de mer ouverte oligotrophes du courant Liguro Provençal.

Croissance en longueur

Chaque population a été divisée en deux cohortes de croissance minimale (1) et maximale (2). Les paramètres des équations des courbes de croissance de Von Bertalanffy (sous la forme $L_t = L^\infty - (L^\infty - L_0)e^{-kt}$ avec L_0 égal à 0.3mm) et les clés taille âge théoriques correspondantes sont donnés dans le tableau 1.

	Bancs naturels		Filières	
	L°	k	L°	k
(1)	67.39	0.0857	78.25	0.0837
(2)	108.9	0.04046	116.4	0.0423
t(mois)	Bancs naturels		Filières	
	(1)	(2)	(1)	(2)
	(Lt en mm)		(Lt en mm)	
1	5.90	4.60	6.10	5.12
5	27.74	20.12	26.61	22.47
9	36.40	33.34	41.28	37.11
13	45.39	44.58	51.79	49.47
17	51.77	54.16	59.31	59.90
21	56.30	62.31	64.69	68.71
25	59.52	69.24	68.54	76.14
29	61.80	75.15	71.30	82.42
33	63.42	80.17	73.28	87.72
48	66.30	93.20	76.83	101.21

Tableau 1 : Croissance en longueur des populations étudiées (t en mois et Lt en mm).

Cette croissance est relativement lente, elle est liée à la faible capacité biotique du site.

Biométrie, composition biochimique et cycle de reproduction

Les principales caractéristiques du suivi d'un animal "standard" de 30-35 mm sont données figure 1.

Les variations du poids sec sans cendres et des composants biochimiques reflètent la croissance et les phénomènes de reproduction. Leur interprétation n'est pas toujours facile et l'apport de l'histologie s'avère indispensable pour identifier les pertes de poids sec en terme de ponte. En effet, dans des conditions défavorables : température trop élevée ou apport nutritif déficient, des phénomènes de lyse ovocytaire interviennent libérant des produits qui sont utilisés pour la nutrition de l'animal. L'abaissement du poids sec constaté en été serait donc du à des conditions défavorables correspondant aux plus fortes températures. Les données issues de l'histologie montrent que pour l'animal standard de 30-35 mm, les pontes ont lieu en hiver et en début de printemps de janvier à avril. La température se situe alors entre 10 et 17°C. Une phase de constitution de réserves suit au printemps, elle est marquée par une augmentation forte des glucides. Cette phase correspond au repos sexuel qui se prolonge en été avec un amaigrissement si les conditions sont défavorables. Elle est suivie d'une phase

de maturation en automne. Les lipides varient assez peu, ce qui est probablement dû au fait que l'animal standard étudié est en début de reproduction.

L'effort de reproduction croît avec la taille des individus (figure 2). Cette évolution montre des pertes de poids importantes en fin de printemps et en hiver à corréliser avec des pontes possibles, l'effort de ponte étant proportionnel à la taille. Il varie de 17% du poids sec sans cendre chez un individu d'environ 9 mois (taille 32 mm) à 70% pour un animal d'environ 18 mois (taille 52 mm). Les individus d'une taille d'environ 20 mm sont considérés comme totalement immatures ; ils ne subissent pratiquement pas de fluctuation du poids sec sans cendre.

2.2. Site de Carry le Rouet

Le site se trouve à 25 km à l'ouest de Marseille au sud d'une côte rocheuse et il s'agit également d'une zone typique des eaux oligotrophes méditerranéennes (Parache et Massé, 1986). Les moules sont élevées en filière à 6m de profondeur. La température varie de 10°C en février à 22°C en juillet (moyenne 16°C) et la salinité moyenne est de 36‰. La concentration moyenne en chlorophylle est de 0.4µg/l et la somme des protéines, glucides, lipides dans l'eau à une moyenne de 108µg/l. La capacité biotique du site est donc faible.

Les paramètres de l'équation de Von Bertalanffy (sous la forme $L_t = L^\infty - (L^\infty - L_0) e^{-kt}$ avec L_0 égal à 0.3mm) sont $L^\infty=131,23$ et $k=0.0634$. La croissance en longueur est donc rapide et régulière et, à la fin du cycle d'observation (août 83 à juillet 84), 50% des individus (mis en élevage entre 20 et 30mm) dépassent 70mm.

En revanche la prise de poids est faible avec une augmentation des tissus secs de seulement 0.3g/mois. La figure 2 montre l'évolution du poids sec sans cendres d'un animal standard de 52mm qui se situe à un niveau très bas avec un amaigrissement très important en hiver et une émission de gamètes de très faible amplitude en avril-mai. On a donc là un site très peu favorable au développement des moules qui fabriquent cependant beaucoup de coquille puisque la croissance en longueur est notable.

3. Mer ouverte enrichie par les apports du Rhône

Cette situation correspond aux sites mytilicoles échelonnés le long de la côte du Languedoc Roussillon. La zone du cap d'Agde à environ 2 milles de la côte (profondeur 20m) a été la plus étudiée. L'influence des vents souvent forts, des apports du Rhône et d'eau douce continentale en automne en font une zone qui peut présenter des contrastes assez forts. La température varie de 9 à 23°C (figure 4) avec des différences inter-annuelles marquées et des variations journalières brusques en été à la suite des coups de vent qui chassent les eaux de surface et favorisent la remontée des eaux froides du fond (13 à 14°C). La salinité de 38‰ en été peut présenter des réductions très importantes aux autres saisons avec des valeurs aussi basses que 28.9 (Souchu *et al.*, 1997). La chlorophylle a une valeur moyenne en été de 0.6µg/l (Paquette et Moriceau 1987, Souchu *et al.*, 1997), elle varie fortement de janvier à avril entre 1 et 9.1µg/l et les valeurs les plus fortes correspondent aux baisses de salinité (Souchu *et al.*, 1997). La production primaire est relativement forte au printemps et en automne et plus faible en hiver (Vidal-Giraud, 1988). Compte tenu du fait qu'il y a un fort renouvellement de la nourriture du fait des courants quasi permanents, on a en définitive une bande côtière riche et propice à la culture des mollusques.

Krichen (1981) a étudié la croissance et la reproduction sur une station à -18m de profondeur avec un suivi sur 8 mois de avril à novembre. La croissance en longueur est rapide et régulière (3.5 mm/mois sur 8 mois à partir d'une taille de 30mm) avec un ralentissement estival. La croissance en poids total présente deux phases avec des accroissements mensuels réduits de décembre à juillet (1.3 à 1.9 g/mois) et plus forts d'août à novembre (moyenne de 2.6 g/mois).

L'évolution du stade de maturation des gamètes (figure 3) montre :

- Une période de repos sexuel estivale relativement courte en juin, juillet
- Une phase de maturation des gamètes de juillet à octobre
- Une phase mature avec pontes possibles d'octobre à mai. Le stade III (prêt à pondre, ponte effectuée ou nouvelle ponte en préparation) est en fait toujours présent.

Paquette a mesuré l'indice de Medcof Needler de 1985 à 1989 : l'évolution de cet indice est représenté avec la température sur la figure 4. Il existe un cycle annuel bien marqué lié à la température. Les valeurs de l'indice sont élevées en été durant les mois de juin juillet août septembre. Elles baissent ensuite régulièrement de octobre à mars pour remonter rapidement au printemps. Il y a des variations importantes selon les années : en 1988 l'indice est resté élevé jusqu'au mois de décembre. Il n'existe pas de données biochimiques et histologiques correspondantes qui permettraient d'interpréter ce cycle. Néanmoins on sait que les fixations de naissain ont lieu entre janvier et juin. Avec les données précédentes d'histologie, on peut interpréter le cycle de la façon suivante. La période printanière correspond à l'accumulation des réserves glucidiques. La période estivale correspond à un bref repos sexuel suivi d'une maturation des gonades qui se prolonge en automne. Les pontes commencent vraisemblablement en automne et s'échelonnent tout l'hiver avec sans doute des rematurations possibles.

4. Etang de Thau

L'étang de Thau fait l'objet d'une exploitation intensive avec une biomasse en culture (huître creuse et moules dans une moindre mesure) . La température varie de 4 à 29°C. La salinité varie de 28 à 40 ‰ en fonction des apports d'eau douce. On a donc une zone avec des écarts thermiques beaucoup plus importants qu'en mer et des températures hivernales plus faibles. La valeur moyenne de la chlorophylle est de l'ordre de 1,7µg/l (Toumier et Pichot 1985) avec des pics printaniers pouvant atteindre 20µg/l. La valeur moyenne de la somme des PLG, de l'ordre de 200 à 250µg/l (Pichot *et al.* 1996), ce qui indique une zone à forte productivité.

Krichen (1981) a suivi parallèlement à la mer ouverte la croissance et la reproduction des moules en étang en 1980. Pour des moules mises en élevage à 30 mm, l'accroissement mensuel moyen a été de 2,3 mm sur 8 mois, inférieur à celui de la mer. La croissance est en effet quasiment nulle en hiver du fait des basses températures.

Hamon (1983) a suivi également la croissance représentée par l'équation de Von Bertalanffy : $L_t = L^\infty(1 - e^{-k(t-t_0)})$ et il donne les paramètres suivants pour deux zones de l'étang de richesse nutritive différente (âge en année et la longueur en mm).

Site	t_0	k	L^∞
Thau - Marseillan	0,009	0,365	122,9
Thau - Bouzigues	0,063	0,433	120,0

Le suivi des stades de maturation et de l'indice de condition correspondant (Medcof Needler) effectué par Krichen est donné sur la figure 5 . L'évolution de l'indice de condition en début de suivi montre une augmentation printanière en avril au moment du réchauffement des eaux suivie d'une ponte massive fin avril à une température de 14°C. Le stade de repos sexuel qui apparaît en mai et culmine en août correspond à la période la plus chaude (19 à 24°C). Il coïncide avec un indice de très forte valeur. Cette phase d'accumulation des réserves est suivie de la phase de maturation des gamètes qui est bien avancée en octobre avec un indice de l'ordre de 100 qui se maintient en hiver pendant les basses températures. Ce schéma situe les pontes entre mars et juin.

Hamon (1983) a étudié l'évolution du même indice de condition sur plusieurs sites de l'étang. La figure 6 donne l'aspect moyen des valeurs de cet indice à partir de données établies sur 5 ans. On retrouve une valeur maximum en été, période de repos sexuel. Les valeurs chutent ensuite de octobre à décembre, les émissions de produits sexuels commençant en novembre décembre. Après un plateau en hiver et une baisse en avril, l'indice remonte durant le printemps. Au delà de ce cycle moyen, Hamon montre qu'il y a de grandes variations selon les sites et les années comme le montrent les écarts types. Ces variations sont liées à celles de la température mais aussi à la concentration phytoplanctonique.

En fait les fixations de naissain ayant lieu pratiquement toute l'année à Thau, il semble que, en dehors de la période la plus chaude (juillet août) ou on ne repère pas de stade III, il puisse y avoir des pontes tout le reste de l'année.

5. Zone très enrichie en éléments nutritifs : Anse de Carreau du golfe de Fos

Parache et Massé (1987) et Massé et Berland (1985) ont décrit le milieu en 1984 et au cours d'un cycle annuel de janvier à décembre 1985. Les températures ont varié de 9.5°C en janvier à 22°C en juillet. La salinité située la plupart du temps entre 34 et 37.5‰ a atteint exceptionnellement 31‰ en novembre en fonction des apports d'eau douce continentaux. La zone sous influence des vents présente une circulation complexe et instable. La richesse nutritive est très importante avec des ordres de grandeur moyens au cours de l'année de 413µg/l pour la somme des PLG en 1985 et 3.7µg/l pour la chlorophylle en 1984.

Les données du captage à Carreau font état de fixations échelonnées toute l'année avec cependant un recrutement massif au début du printemps et des recrutements secondaires en juin juillet, septembre octobre et décembre (Massé et Berland 1985). Morchid et Masse (1987) ont étudié en détail l'évolution des tissus de moules durant la période de reproduction principale entre janvier et avril 1985. Les individus suivis proviennent des élevages (captage d'avril 1984) et ont une taille standard de 50 à 54mm. Les résultats de ce suivi sont donnés figure 7. L'histologie permet de confirmer l'existence de deux émissions fin janvier et mi mars qui occasionnent des chutes de poids repérables au niveau du manteau spécialement chez les femelles. Les glucides sont au maximum au stade IIIC dans les manteaux, ce stade correspond à la phase de restauration des gonades. Les lipides sont nettement plus abondants chez les femelles (maximum de 15 à 16%) que chez les mâles ou ils n'atteignent pas 10%.

D'après Lubet (1959), les lipides varient peu aux stades II et IIIA1, ils chutent après chaque émission et se renouvellent pendant la phase de restauration de la gonade (IIIC). Ces schéma est visible ici au niveau du manteau des femelles. Les protéines sont largement dominants au niveau des trois constituants, leur variation est difficilement interprétable en regard de l'activité sexuelle.

6. Conclusion

Ces divers éléments confirment l'extrême variabilité de la croissance et de la composition de la chair des moules qui fluctuent sous l'influence prépondérante de la température et la richesse nutritive des eaux. Lubet *et al* (1981) indiquent que le cycle sexuel de *Mytilus galloprovincialis* se développe normalement entre 7 et 18°C. Au delà de la plage de 18°C il y a un freinage ou un arrêt du cycle caractérisé par une lyse ovocytaire importante. De plus lorsque la température de l'eau est basse et l'apport nutritionnel faible, Lubet (1963) montre un processus de lyse des ovocytes non émis, les produits libérés servant à la nutrition de l'animal, occasionnant par là même un gain de croissance. Rodhouse *et al* (1984) montrent que la stratégie de reproduction dépend de la qualité et de la quantité de la ration alimentaire. Suivant la ressource, l'animal va adopter un comportement conservateur avec une ponte par an ou un comportement opportuniste avec deux pontes par an.

Ces constatations se retrouvent au niveau des zones étudiées. Si la croissance en longueur est peu informative, l'engraissement, la composition biochimique et le comportement de reproduction

sont tout à fait dépendants des conditions de température et de richesse des eaux. On peut distinguer dans un ordre croissant de « performances »

- Une situation d'amaigrissement chronique et une ponte de très faible amplitude par an au printemps dans les zones oligotrophes de Méditerranée situées à l'est du Rhône.
- Une situation « moyenne » à Thau du fait de grands écarts thermiques avec une croissance très ralentie en hiver et un métabolisme perturbé lors des très fortes chaleurs de l'été, et ceci d'autant plus que les charges en élevage sont fortes. Le cycle de reproduction montre une phase de repos sexuel assez étalée et une activité soutenue en dehors des périodes critiques.
- Une situation favorable en mer ouverte à l'ouest du Rhône avec un cycle relativement simple : croissance rapide tout au long de l'année ; activité de reproduction intense entre janvier et juin ; repos sexuel très court en été et phase de rematuration durant l'automne.
- Une situation exceptionnellement favorable à Carreau au point de vue de la richesse nutritive, circulation des eaux et température. La croissance est bonne malgré des densités d'élevage extrêmement élevées et l'activité sexuelle continue avec des phases de ponte et de rematuration tout au long de l'année.

La concentration en polluant est influencée par la quantité et la composition biochimique des tissus. La composition en lipides peut avoir un effet sur la bioaccumulation et de plus la ponte d'oeufs riches en lipides occasionne la perte des composés hydrophobes. Il semble donc important de bien choisir les moments où sont effectués les dosages en évitant autant que faire se peut les périodes d'émission des gamètes (janvier à juin) et les périodes de restauration des gonades (janvier à juin et automne), ce qui amènerait à prélever plutôt en été (août). De plus, il serait sans doute préférable si cela est possible de travailler avec des jeunes moules inférieures à 30 mm qui ont une activité sexuelle réduite ou absente et donc une composition relativement constante. De même les mâles moins riches en lipides constitueraient un matériel plus favorable que les femelles.

7. Références

- Hamon, P.Y., 1983. Croissance de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) dans l'étang de Thau. Estimation des stocks de mollusques en élevage. Thèse Doct. Etat, U.S.T.L., Montpellier, 331.
- Krichen, Y., 1981. Contribution à l'étude de la conchyliculture en mer. Biologie comparée avec celle du milieu lagunaire et techniques d'élevage. Mémoire de troisième cycle INAT. 222 p.
- Lubet, P., 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (Moll. Bival.). Rev. Trav. Inst. Pêches Marit., 23 (4) : 389-548.
- Lubet, P., 1963. Physiologie des moules. Bull. Soc.Sci. Vet. Med. Comp. Lyon, 65 (1) 31-62.
- Lubet, P., 1973. Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lamark, 1799) (Atlantique et Méditerranée). Synopsis FAO sur les Pêches, 88 : 1-49.
- Lubet, P., Gimazane, J.P. et Prunus, G., 1981. Etude du cycle de reproduction de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) (Mollusque, Lamellibranche) à la limite méridionale de son aire de répartition. Comparaison avec les autres secteurs de cette aire. Haliotis 11 : 157-170.
- Massé, H. et Berland, 1985. Etude de la capacité biotique du site conchylicole de l'anse de Carreau, 24 p. in Etude et suivi des potentialités conchylicoles de l'anse de Carreau (Port Saint Louis du Rhône Office Régional de la mer Provence-Alpes-côtes d'Azur, IFREMER.
- Morchid, A et Massé, H., 1987. Valeur énergétique des tissus de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) en période de reproduction dans une baie eutrophe des côtes méditerranéennes françaises. Haliotis, 16 : 159-171.

- Paquette, P. et Moriceau, J., 1987. Croissance et indice de condition de l'huître plate *Ostrea edulis* élevée en mer et en étang sur la côte méditerranéenne. *Haliotis*, 16 (1987) : 427-437.
- Parache, A., 1985 Contribution à l'étude de la croissance de *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck). Influence des conditions de milieu. Thèse Doct. Sci., Océanologie, Univ. Aix Marseille II, 250 p.
- Parache, A. et Massé, H., 1987. Influence des facteurs du milieu sur le cycle biologique de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) en élevage sur corde dans l'anse de Carteau (Côte Méditerranéenne Française) *Haliotis*, 16, 137-147.
- Pichot, P., Deslous Paoli, J. M. et Juge C., 1996. Matière en suspension et sédimentation dans la lagune de Thau. Rapport interne DEL/96 01/SETE
- Tournier, H. et Pichot, Y., 1985. Répartition de la chlorophylle a dans l'étang de Thau : richesse nutritive pour les mollusques d'élevage. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 49 (1-2) : 13-24.
- Rodhouse, P.G., Roden, C.M., Burnell, G.M., Hensey, M.P., McMahon, T., Ottway, B. and Ryan T.H., 1984. Food resource, gametogenesis and growth of *Mytilus edulis* on the shore and in suspended culture : Killary harbour, Ireland. *J. Exp. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 64 : 513-529.
- Souchu, P., Gasc, A., Cahet, G., Vaquer, A., Collos, Y., Deslous-Paoli J.M., 1997. Biogeochemical Composition of Mediterranean Waters Outside Thau Lagoon. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44, 275-284.
- Vidal-Giraud, B., 1988. Conchyliculture en mer ouverte en région Languedoc Roussillon-CEPRALMAR. 132p.

ANNEXE 1 : ECHELLE DE DIFFERENTIATION DES STADES DE MATURATION.

Stade I : chez les individus jeunes, formation des tubules gonadiques avec multiplication des spermatozoïdes et ovocytes. Chez les individus adultes, après la phase de repos sexuel, restauration des tubules gonadiques avec persistance du tissu de réserve interfolliculaire.

Stade II : Phase de gamétogénèse intense. Les follicules se remplissent de gamétocytes immatures ; il y a réduction de tissu de réserve interfolliculaire.

Stade III A1: Ovogénèse et spermatogénèse terminées. Les gonades ont atteint leur maximum de réplétion et le poids des animaux est maximum. La ponte n'est pas encore possible.

Stade III A2 : stade instable ou la ponte peut être déclenchée en fonction de stimuli externes.

Stade III B : la ponte ou l'éjaculation ont eu lieu, elles peuvent être totales ou partielles. Les tubules sont plus ou moins vides avec seulement des gamètes résiduels. Les cellules germinales recommencent à se développer. Le manteau est très mince et les teneurs en lipides glucides sont minimales.

Stade III C : restauration de la gonade après l'émission des gamètes avec les mêmes séquences de gamétogénèse que pour le stade II dont il se différencie par la présence de tubules gonadiques de grande taille et la forte réduction des cellules de réserve. Ce stade se situe après une phase de maturité sans interruption due au repos sexuel. Chaque animal peut présenter plusieurs phases de restauration successives qui conduisent à chaque fois à une nouvelle maturité. La quantité de gamètes produits est cependant de plus en plus faible.

Stade III D : après la dernière émission le manteau très transparent redevient coloré. C'est l'arrêt du cycle sexuel qui conduit au stade 0.

Stade 0 : les gamètes résiduels sont phagocytés, seul persistent des gonies disposées en amas. La lumière des tubules disparaît du fait de la prolifération du tissu de réserve inter gonadique.

ANNEXE 2 : INDICE DE CONDITION

L'état d'engraissement des moules a été étudié au moyen de l'indice de Medcof Needler : $IC = (\text{Poids sec de chair (g)} / \text{Volume total (g)} - \text{Volume coquille (g)}) * 1000$. Il donne le poids sec de chair par unité de volume intervalvaire exprimé en grammes. Le volume total du coquillage et le volume des valves sont déterminés au moyen d'un vase à débordement par pesée de l'eau déplacée. Le dénominateur représente le poids d'eau occupant l'ensemble du volume intervalvaire. On considère qu'un indice supérieur à 100 témoigne d'une excellente qualité des moules, entre 80 et 100 la qualité est correcte et en dessous de 80 elle est médiocre.

FIGURES

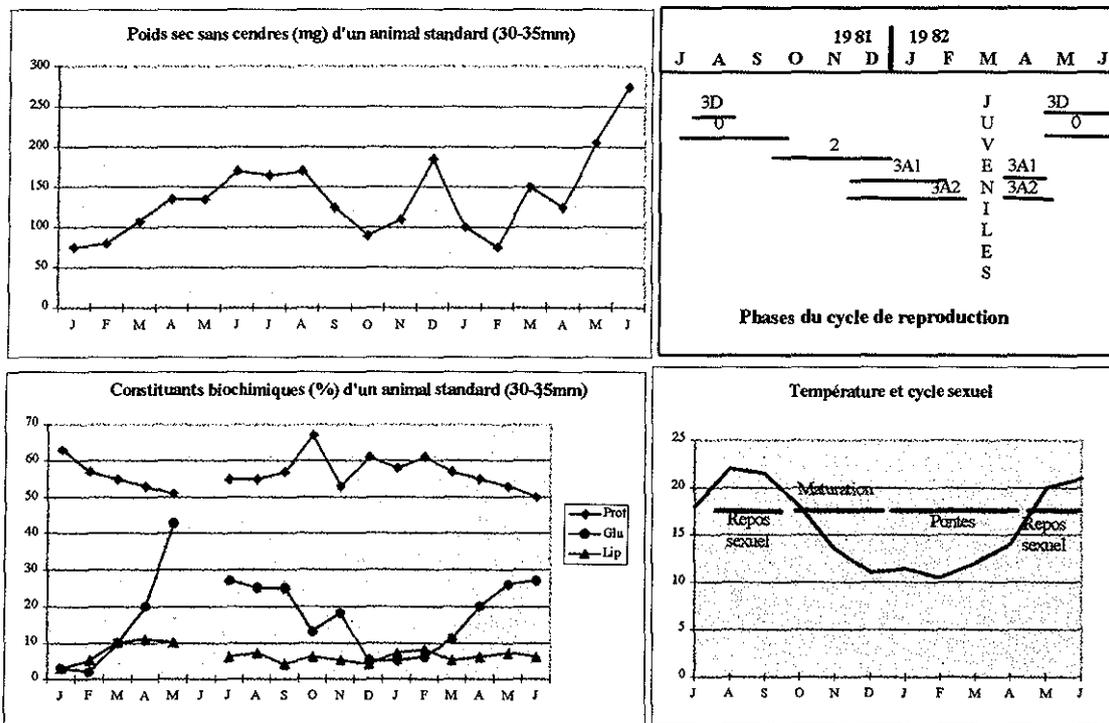


Figure 1. Poids sec sans cendre, composition biochimique et cycle sexuel chez un animal standard de taille 30-35mm (d'après Parache 1985)

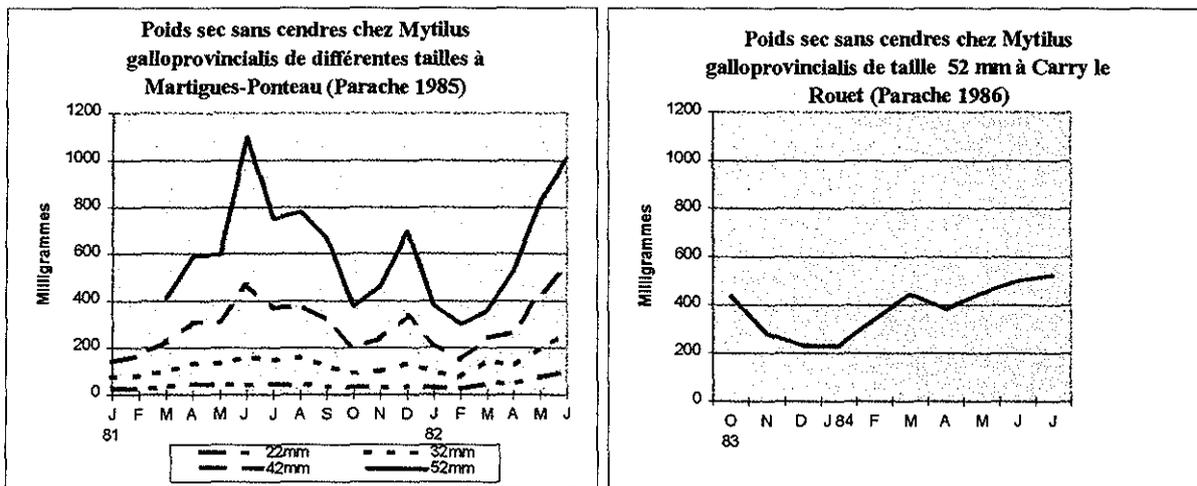


Figure 2. Evolution du poids sec sans cendres pour des moules standards de différentes tailles à Martigues Ponteau et à Carry le Rouet (d'après Parache, 1985 et Parache et Massé, 1987).

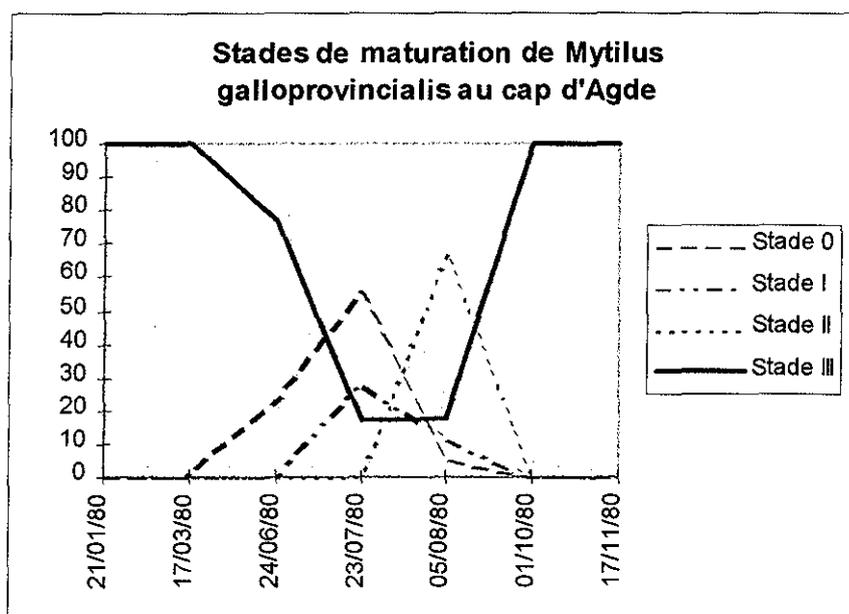


Figure 3. Evolution des stades maturation au Cap d'Agde de janvier à novembre 1980 (d'après Krichen, 1981)

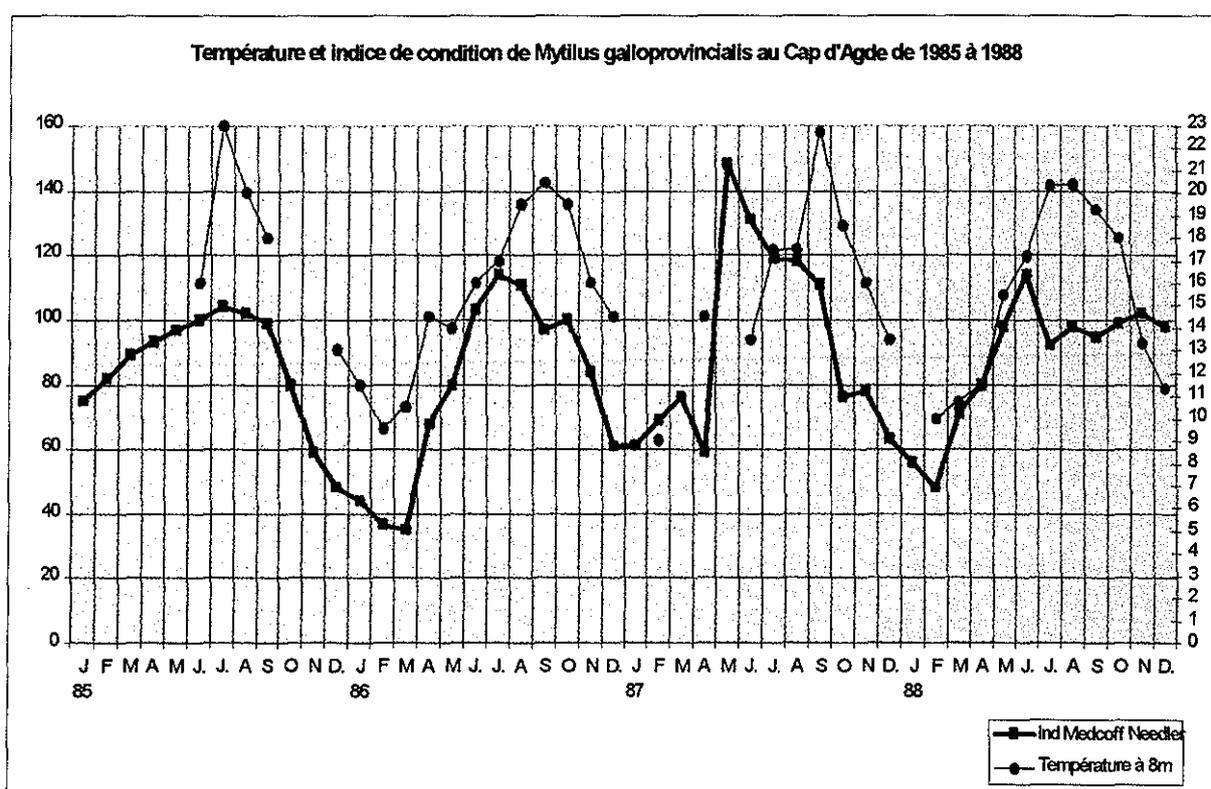


Figure 4. Température et indice de Medcoff Needle chez *Mytilus galloprovincialis* en élevage au Cap d'Agde (Données Ifremer Laboratoire RA Sète P. Paquette).

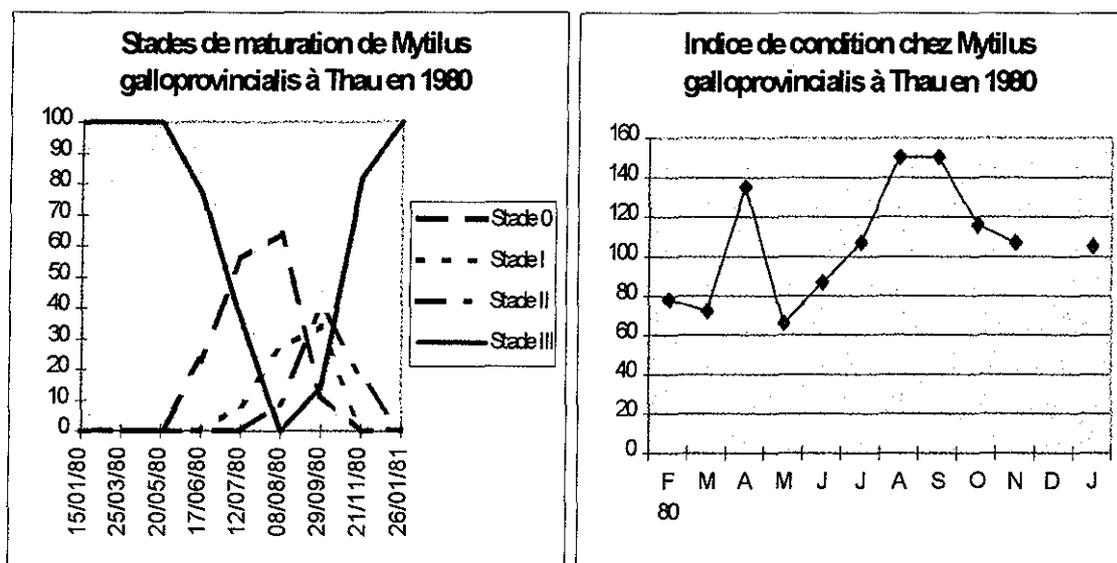


Figure 5. Stades de maturation et indice de condition chez *Mytilus galloprovincialis* à Thau en 1980, (Krichen 1981).

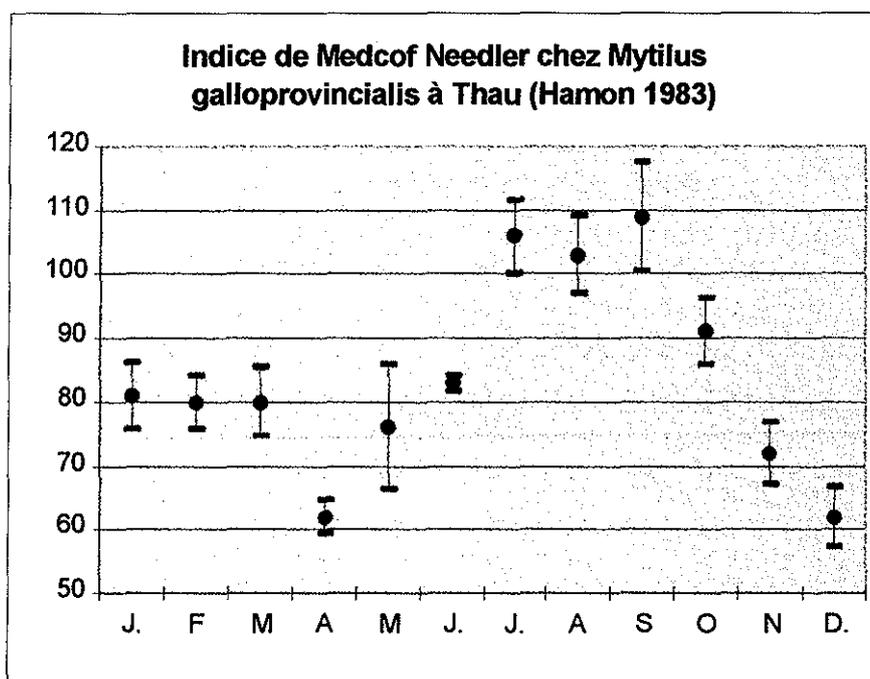


Figure 6. Variation moyenne de l'indice de condition selon Hamon (1983). Les barres figurent les écarts types.

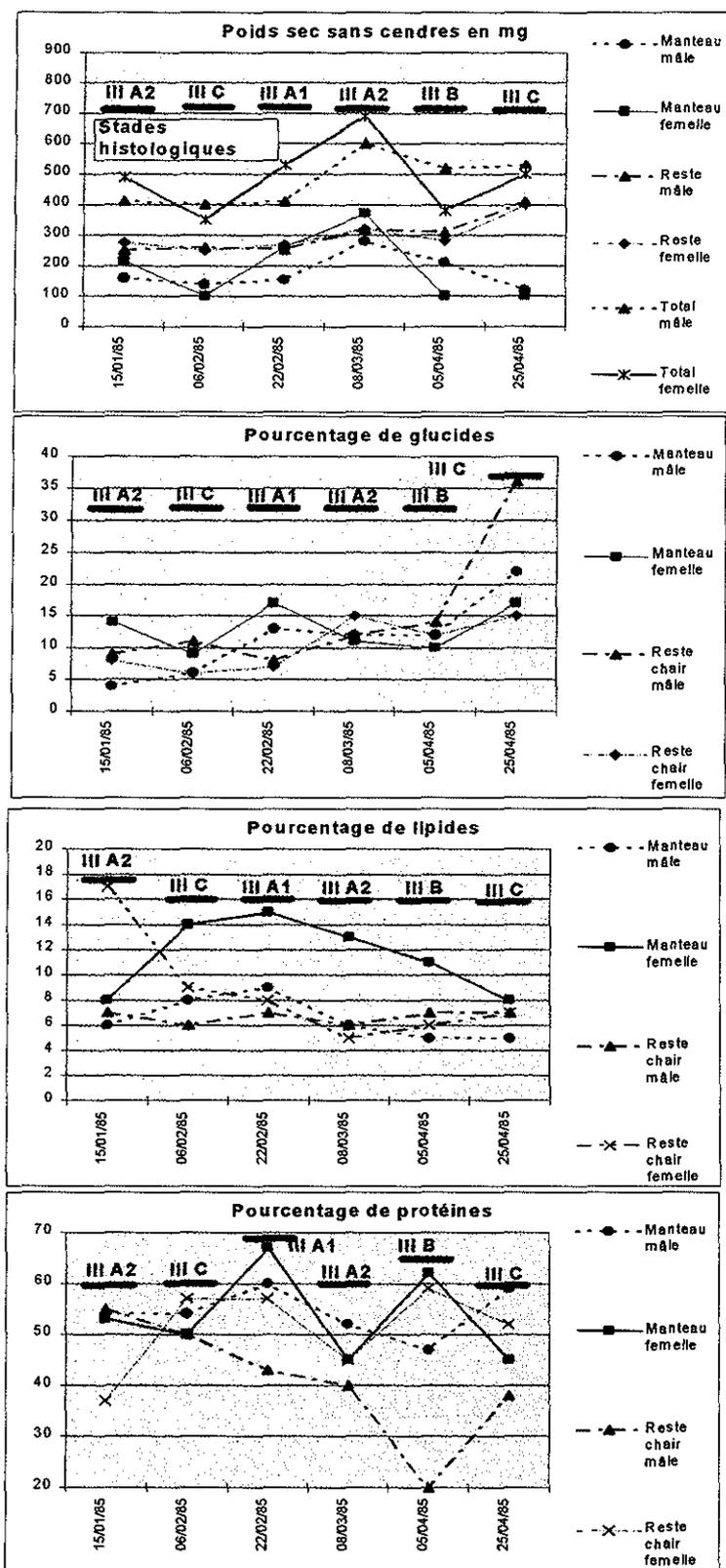


Figure 7. Poids sec sans cendres du manteau et du reste de la chair (mâles et femelles) et pourcentage des glucides, lipides, protéines par rapport au poids sec sans cendre de ces différents constituants selon Morchid et Massé 1987.

IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997

Centre de Nantes

Variation saisonnières des teneurs en contaminants dans les coquillages du RNO

par Didier CLAISSE
DEL/PC

1. Rappel historique

Depuis les années 70, L'intérêt des "organismes sentinelles" ou "indicateurs" pour la surveillance des contaminants dans le milieu marin est reconnue au niveau international. Le phénomène de bioaccumulation fonctionnant à l'échelle de quelques mois permet de s'affranchir des fluctuations rapides des masses d'eaux et facilite l'analyse par les teneurs plus élevées rencontrées dans les organismes. De nombreux pays ont développé des programmes similaires, connus sous le terme générique de "Mussel Watch". Le réseau français (RNO) est un des plus anciens et des plus denses.

Depuis 1979 des moules et des huîtres sont collectées tous les trois mois sur une centaine de points du littoral français. Le protocole de prélèvement et de prétraitement des échantillons est décrit (note 97.34-DEL/RNO.04.DC.). Les paramètres mesurés sont les métaux lourds (mercure, cadmium, plomb, cuivre, zinc), les polychlorobiphényles (PCB), les hydrocarbures aromatiques (PAH), et les organochlorés (DDT, DDD, DDE, aHCH, gHCH).

Ce type de surveillance se heurte cependant à quelques problèmes parmi lesquels les variations saisonnières des teneurs mesurées dans les organismes. Ce phénomène est fortement lié au cycle de reproduction des bivalves utilisés.

2. Les variations saisonnières observées dans le cadre du RNO

Les concentrations mesurées dans les moules et les huîtres ont tout de suite montré une forte variabilité en fonction des périodes d'échantillonnage. Cependant, jusqu'en 1983, aucun planning de prélèvement précis n'obligeait les laboratoires côtiers de l'IFREMER à effectuer les prélèvements dans un mois précis. Les quatre prélèvements annuels étaient donc répartis de façon quasi aléatoire dans l'année. A partir de 1983 une première note imposait les mois de février, mai, août et novembre pour les échantillonnages, avec une marge d'une semaine avant et une semaine après. Les variations saisonnières alors observées devinrent d'une lisibilité exceptionnelle comme le montre la figure 1.

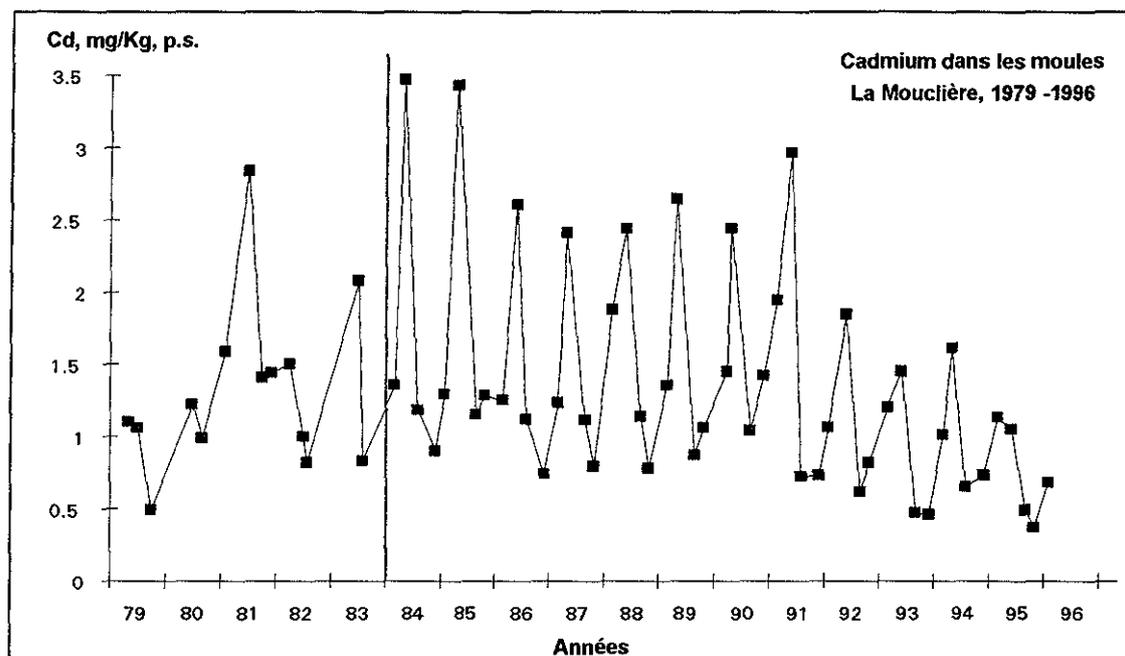


Figure 1 : Variations saisonnières des teneurs en cadmium dans les moules du bassin de Marennes-Oléron (1979-1996). L'irrégularité des prélèvements avant 1984 ne permet pas de mettre ces variations en évidence.

Ces observations, valables pour tous les paramètres, aussi bien dans les huîtres que dans les moules, sont corroborées par une abondante littérature (e.g. Cossa *et al.*, 1979, 1980, 1985; Simpson, 1979; Boyden & Phillips, 1981;).

Le cycle de reproduction des bivalves étant considéré comme déterminant pour expliquer les variations saisonnières, Une tentative de mise en parallèle des données RNO avec les périodes de ponte a donné les résultats présentés dans la figure 2 (Claisse, 1993; Faury et Ratiskol, 1993). Selon ces auteurs, la gamétogénèse des moules dans le bassin de Marennes-Oléron s'étend de fin septembre à février, la ponte se déroulant de février à juin. Cependant, selon les années, des larves ont pu être détectées jusqu'en juillet. En fait la ponte des moules intervient lorsque la température de l'eau atteint 10°C et se poursuit jusqu'à des températures de 19°C, avec une fourchette préférentielle comprise entre 10 et 12°C. Durant l'été l'animal reconstitue ses réserves de glycogènes.

Les données du RNO ont été traitées de façon à obtenir, pour chaque mois de l'année, la moyenne des observations dans les moules du littoral atlantique de 1979 à 1991. On observe un décalage d'un mois entre les maxima et minima observés respectivement pour le cadmium et pour les PAH. Cette différence peut être due à un biais introduit par le faible nombre d'observations existantes sur les mois ne correspondant pas au plan d'échantillonnage du RNO (chiffres en rouge). Toutefois, le schéma général présente un maximum situé dans la première moitié de la période de ponte et un minimum situé à la fin du repos sexuel.

Les moyennes mensuelles ainsi présentées montrent qu'une différence de quinze jours dans les dates de prélèvement a des conséquences sur les niveaux observés plus importantes durant le premier semestre que durant le second.

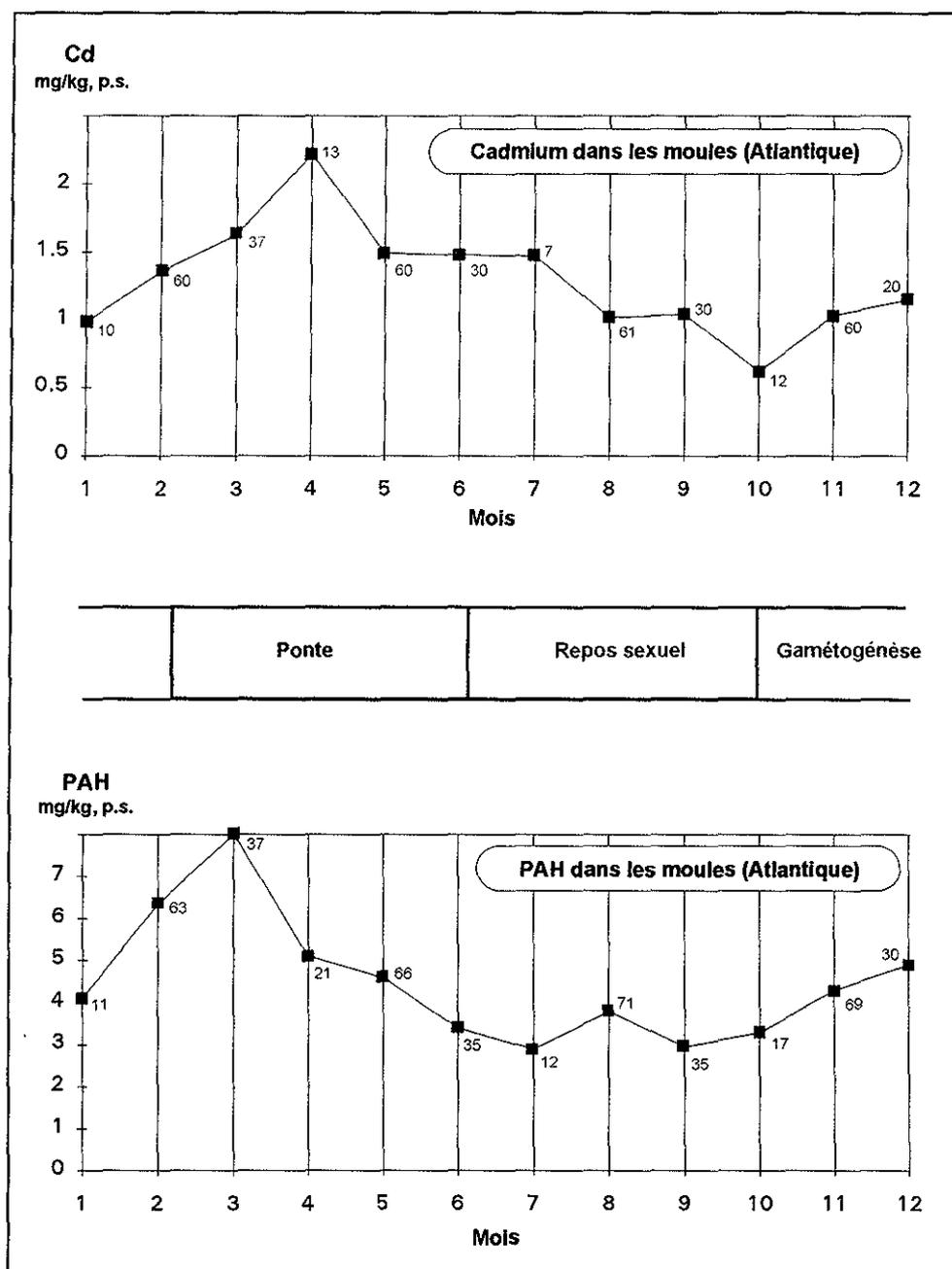


Figure 2 : Comparaison des moyennes mensuelles observées par le RNO et des périodes d'activité sexuelle de la moule. Les chiffres en rouge indiquent le nombre d'observations.

3. Conséquences du phénomène

3.1. Evaluation des niveaux de contamination

A titre d'illustration, on peut simuler à partir des données du RNO ce qui résulterait d'une surveillance basée sur un seul prélèvement annuel en mars-avril ou en septembre-octobre. L'exemple choisi ici porte sur le cadmium en estuaire de Loire de 1979 à 1991 :

	Mars- Avril	Septembre- octobre
Moyenne	2.13	1.11
Ecart-type	0.64	0.41
Observations	30	25

En accord avec les grilles élaborées par les Conventions d'Oslo et de Paris, L'estuaire de la Loire serait, selon les cas, classé en zone moyennement contaminée (moy. > 2 mg/kg, p.s.) ou peu contaminée (moy. < 2 mg/kg, p.s.).

La même simulation appliquée à l'estuaire de la Seine donne une moyenne de 6.15 mg/kg, p.s. au printemps et de 1.96 mg/kg, p.s. en automne. Dans ce cas le classement international passerait de très contaminé à peu contaminé.

Le problème est encore plus lourd de conséquences lorsqu'il s'agit de classer les zones de production conchylicole dans un but sanitaire. La réglementation française prévoit une mesure annuelle par zone (Cd, Pb, Hg) pour le suivi du classement, sans préciser la saison à laquelle elle doit être effectuée.

3.2. Evaluation des tendances

Plusieurs stratégies d'échantillonnage sont envisageables pour atténuer les conséquences des variations saisonnières dans les programmes de surveillance du milieu marin utilisant des organismes comme indicateurs. De nombreux "mussel watch", ainsi que les lignes directrices des programmes internationaux (OSPAR, PNUE...), sont basés sur un seul prélèvement annuel, obligatoirement situé avant la période de ponte (Commissions d'Oslo et de Paris 1990 et 1994). Cependant l'expérience montre les difficultés d'application de ce plan d'échantillonnage. En effet, la période de ponte, pour un bivalve donné, varie en fonction de la latitude, de la climatologie locale et de la climatologie de l'année. On a vu que dans le bassin de Marennes-Oléron la ponte des moules pouvait s'étendre sur six mois. Par conséquent un prélèvement situé quelques mois avant la période de ponte est également situé quelques mois après la période précédente. Lorsque le Groupe Conjoint de Surveillance (JMG) des Conventions d'Oslo et de Paris a pris conscience de ces problèmes, il fut décidé que chaque pays signataire fournirait les dates limites des périodes de ponte pour son littoral. Ceci avait pour but d'éliminer avant traitement toutes les données ne satisfaisant pas aux lignes directrices. La difficulté de répondre globalement à une telle question fut alors démontrée par les délais de réponse très long et les multiples demandes de correction enregistrées par la suite. Les chimistes de chaque délégation durent entrer en contact avec les biologistes de leur pays respectif. Au bout de deux ans, le tableau souhaité n'était toujours pas complet.

Si l'on s'en tient à un seul prélèvement annuel, ces phénomènes devraient théoriquement amener à effectuer celui-ci, non pas à date fixe, mais à état sexuel fixe, après un examen de l'état de maturité sexuelle de tous les individus de l'échantillon.

Imaginons un site où les concentrations d'un contaminant montrent une légère tendance décroissante, tel que décrit dans la figure 3. Examinons sur cet exemple quels seraient les effets de divers types d'échantillonnage :

Figure 4 : l'échantillonnage annuel est toujours pratiqué dans la même période de maturité sexuelle des bivalves (ici la fin du repos sexuel). Dans ce cas la tendance décroissante des concentrations est parfaitement mise en évidence. Cet échantillonnage suppose que l'état sexuel de

chaque individu de l'échantillon soit observé et que ne soient conservés que les individus répondant aux critères retenus.

Notons qu'un échantillonnage annuel à dates fixes donnerait des résultats voisins mais de qualité moindre. En effet les différences climatiques entre années peuvent provoquer un déplacement du cycle de reproduction. Le bruitage du signal observé sera donc supérieur.

Figure 5 : L'échantillonnage annuel est effectué à des dates aléatoires. La tendance décroissante disparaît dans le bruit et ne pourra être mise en évidence.

Figure 6 : L'échantillonnage annuel est effectué avec un décalage de 15 jours tous les ans. Dans ce cas extrême il est possible d'observer une tendance inverse de la réalité. Moins la tendance réelle est marquée, plus ce genre de biais devient possible.

Figure 7 : Ici la stratégie utilisée est celle du RNO. Quatre prélèvements par an sont effectués dans des mois imposés. Ceci laisse une latitude de 30 jours pour chaque échantillonnage et introduit forcément un léger biais. Cependant on remarque que, malgré ce bruitage du signal, la tendance décroissante reste parfaitement lisible. De plus cette stratégie présente l'avantage de donner une meilleure image des teneurs moyennes tout au long de l'année.

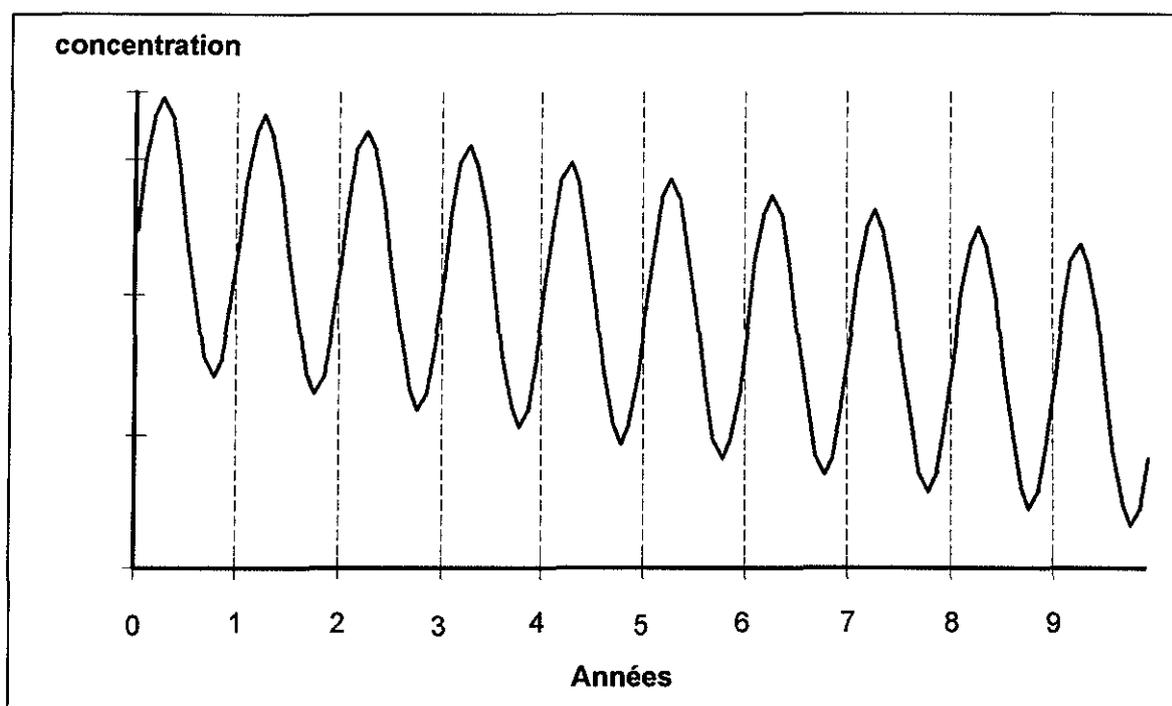


Figure 3 : Concentrations en contaminant d'un site théorique montrant les variations saisonnières et une légère tendance décroissante sur 10 ans.

Il paraît cependant intéressant de diminuer l'influence des irrégularités de dates et de "saison biologique" dans les résultats fournis par un tel plan d'échantillonnage. L'élaboration d'un modèle statistique linéaire incluant un effet de saison semestriel, et non plus trimestriel, permet de donner une robustesse bien supérieure aux évaluations de tendances (Beliaeff et Smith, 1996). Les effets des déplacements de période de ponte ou des irrégularités de dates de prélèvement sont atténués si l'on regroupe les données en deux semestres dont les moyennes seront traitées par le modèle.

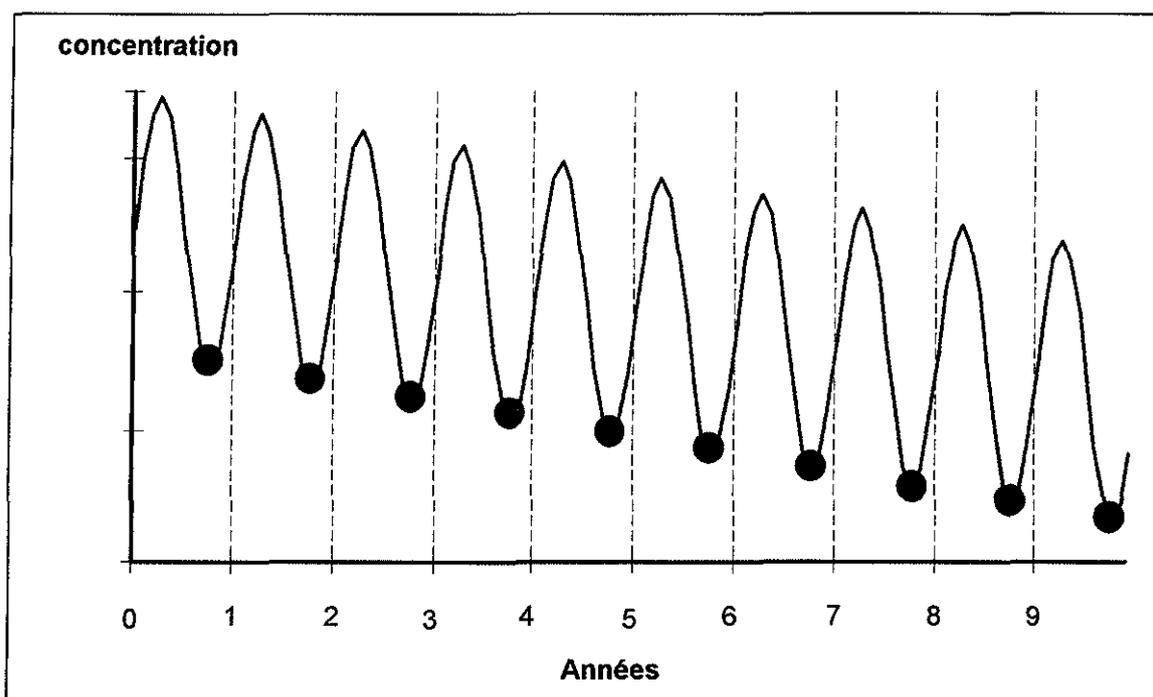


Figure 4 : Effet d'un échantillonnage régulier (toujours effectué au même stade sexuel des bivalves). Les concentrations mesurées sont représentées par les points bleus. La tendance est facilement mise en évidence.

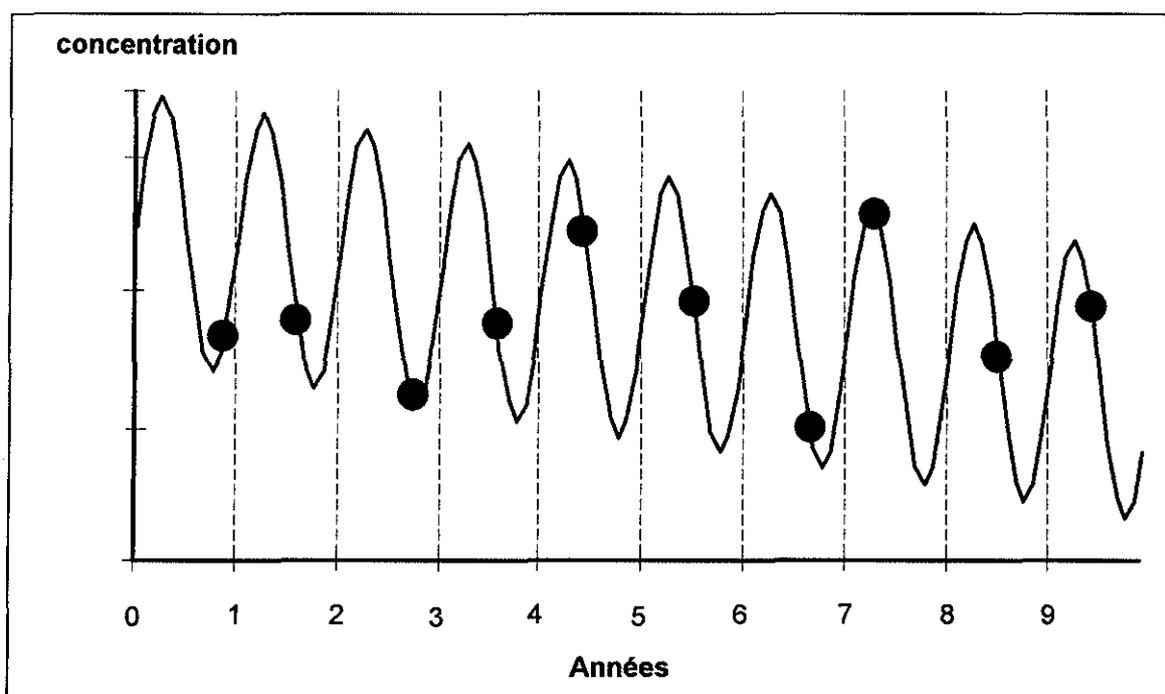


Figure 5 : Effet d'un échantillonnage à des dates aléatoires chaque année. Aucune tendance n'est visible.

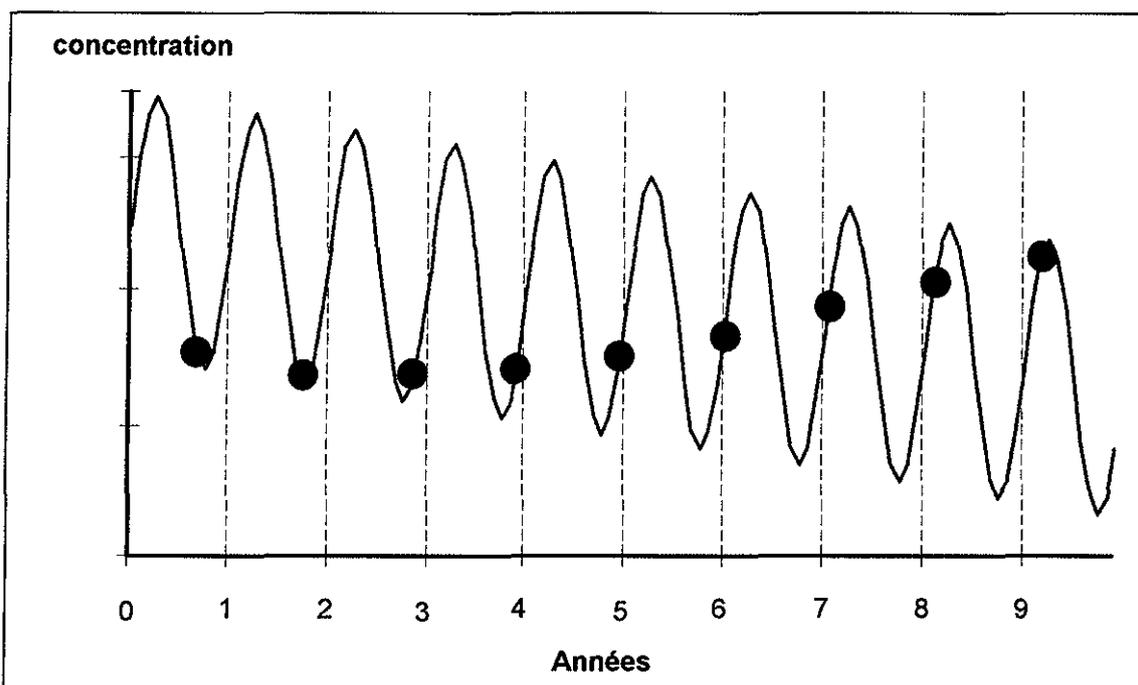


Figure 6 : Effet d'un échantillonnage présentant un décalage de 15 jours tous les ans. Dans ce cas extrême on peut déceler une tendance croissante, contraire à la réalité.

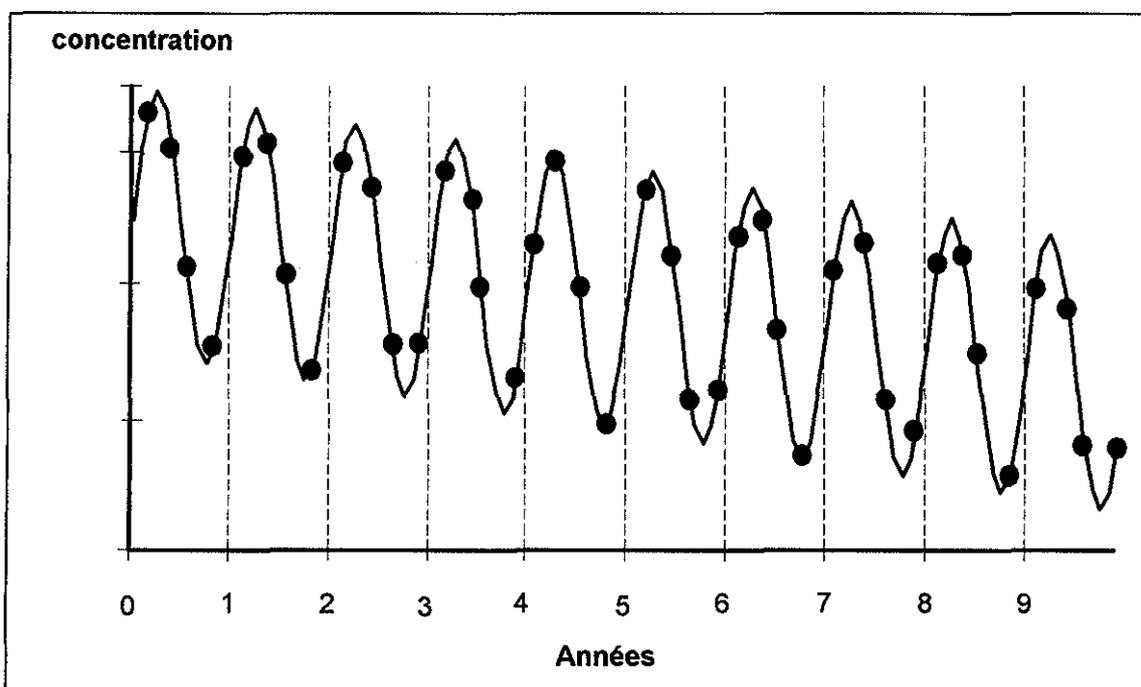


Figure 7 : Effet d'un échantillonnage trimestriel présentant des irrégularités de dates. La tendance décroissante reste facilement identifiable.

4. Conclusion

Il apparaît que tout programme de surveillance du milieu marin de type "mussel watch" doit être doté d'un plan d'échantillonnage prenant en compte le phénomène des variations saisonnières. La solution adoptée par le RNO (un prélèvement trimestriel) est sans doute satisfaisante mais son coût financier et humain peut la rendre inadaptée à certains programmes.

Lorsqu'un seul prélèvement annuel est prévu, celui-ci doit toujours être effectué dans le même état de maturité sexuelle des organismes utilisés. La méthode la plus rigoureuse consiste donc à observer l'état sexuel de tous les individus de l'échantillon et à rejeter ceux qui ne sont pas au repos. Cette méthode, coûteuse en temps, peut éventuellement être remplacée par un prélèvement à date fixe, sachant que le bruit ajouté au signal sera plus grand, et en évitant toute dérive de date au fil des années.

Enfin, en ce qui concerne l'évaluation des niveaux de contamination, la comparaison des sites entre eux ne peut se faire que si tous les échantillons sont prélevés à la même époque de l'année. Si le but recherché est l'évaluation du niveau de contamination des coquillages eux-mêmes, par exemple dans un but sanitaire, un seul prélèvement annuel n'est représentatif que de la contamination à l'époque du prélèvement et en aucun cas des niveaux moyens sur toute l'année.

5. Références

- Beliaeff B. et Smith P., 1996. Estimation of coastal water contamination long-term trend using seasonal linear models. *Water Resources Bulletin*. vol.32, N°3, 595-603.
- Boyden C.R. et Phillips J.H., 1981. Seasonal variation and inherent variability of trace elements in oysters and their implication for indicator studies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* vol.5, 29-40.
- Claissé D., 1993. Influence of the sampling period on results from bio-indicator based monitoring. Document de travail présenté par la France au 18ème Joint Monitoring Group des Conventions d'Oslo et de Paris.
- Commissions d'Oslo et de Paris 1990 et 1994. Principes et méthodologie du Programme Conjoint de Contrôle et de Surveillance Continus. Chap. A11 et sa mise à jour de 1994.
- Cossa D., Bourget E., Piuze J., 1979. Sexual maturation as a source of variation in the relationship between cadmium concentration and body weight of *Mytilus edulis* L. *Mar. Poll. Bull.*, vol.10, 174-176.
- Cossa D., Bourget E., Pouliot D., Piuze J., Chanut J.P., 1980. Geographical and seasonal variations in the relationship between trace metal content and body weight in *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 58, 7-14.
- Cossa D., Rondeau J.G., 1985. Seasonal, geographical and size-induced variability in mercury content of *Mytilus edulis* in an estuarine environment : A re-assessment of mercury pollution level in the estuary and Gulf of St. Lawrence. *Mar. Biol.*, 88, 43-49.
- Faury N. et Ratiskol J., 1993. Activité reproductrice de deux espèces de bivalves *Crassostrea gigas* et *Mytilus edulis*, cultivées dans le bassin de Marennes-Oléron. Annexe du document de travail présenté par la France au 18ème Joint Monitoring Group des Conventions d'Oslo et de Paris.
- Simpson R., 1979. Uptake and loss of zinc and lead by mussels (*Mytilus edulis*) and relationships with body weight and reproductive cycle. *Mar. Poll. Bull.*, 10, 74-78.

IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO
19 et 20 janvier 1997
Centre de Nantes

**Les expériences de transplantation de bivalves
bioindicateurs de contamination**

Bruno ANDRAL
DEL/Toulon

Avertissement : Cette synthèse repose sur le travail de Willem de Kock and Kess Kramer (1994) intitulé « Active Biomonitoring (ABM) by translocation of bivalve molluscs » réalisé dans le cadre de l'ouvrage « Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries » édité par Kess Kramer aux CRC Press.

1. Introduction

La mesure directe de contaminants dans l'eau fait appel à des techniques analytiques sophistiquées et coûteuses, difficilement applicables à de nombreux échantillons prélevés le long d'un important linéaire côtier. Par ailleurs, la variabilité du milieu littoral ne confère que peu de signification à une mesure ponctuelle (1).

Pour ces raisons, les mollusques sont communément utilisés comme biointégrateurs. Après un séjour de plusieurs mois dans l'eau, ils accumulent les micropolluants jusqu'à atteindre un pseudo-équilibre avec le milieu, atténuant les fluctuations rapides des concentrations en micropolluants. Les niveaux mesurés dans les organismes sont le résultat et le reflet de l'état chronique ou moyen du milieu, ou plutôt de la part biodisponible en contaminant présente dans l'eau sous forme dissoute ou adsorbée (2).

D'autres organismes marins sont également utilisés (poissons, algues, crustacés), mais les mollusques et plus particulièrement les bivalves possèdent des atouts qui en ont généralisé l'utilisation : large ère de distribution, facilité d'approvisionnement, nature sessile, bonne connaissance de la biologie, certaines espèces sont tolérantes à des niveaux de contamination élevés.

De nombreux pays mettent ainsi en oeuvre des programmes de surveillance sous le terme générique de « moule-sentinel (mussel watch) », en s'appuyant sur des populations naturelles de mollusques. Le RNO est un des plus anciens et des plus denses.

Selon leurs objectifs ces programmes se heurtent à des contraintes méthodologiques qui ont des répercussions directes sur les stratégies d'échantillonnage :

- Les espèces utilisées ne sont pas toujours disponibles le long du linéaire côtier.
- De nombreux auteurs font état de facteurs, externes et internes, susceptibles d'induire des fluctuations dans les mesures : variations entre espèces, variations dues à la taille des organismes, variations saisonnières, variations de concentration entre différents organes (3, 4).
- Dans une population naturelle, les niveaux de contamination fluctuent pour une même classe d'âge ou de taille en raison de différences génétiques (5, 6).

Le programme de suivi idéal n'existe pas, il est donc nécessaire de chercher des compromis permettant de minimiser les variations naturelles dans les organismes cibles. Pour ces raisons une approche basée sur la transplantation d'organismes issus d'un même site peut être également mise en oeuvre. Toutefois les conditions « artificielles » de leur mise en oeuvre ne permet pas aux données obtenues de compléter celles disponibles sur les populations naturelles.

2. Principes et caractéristiques

La technique des stations artificielles est utilisée depuis la fin des années 1970 (7). Les objectifs sont diversifiés. On peut citer par ordre décroissant de mise en oeuvre :

- suivi de rejets (industriels, station d'épuration, rejets de dragage...),
- études d'impact,
- détection locale de contamination,
- surveillance.
- compréhension des mécanismes de bioaccumulation (accumulation, élimination),
- modélisation

Elle se heurte à un certain nombre de contraintes au premier rang desquelles on peut citer la mise en oeuvre d'un mouillage capable de maintenir en stabulation les échantillons et de leur garantir des conditions de survie acceptables.

Selon les objectifs visés, les conditions locales de météorologie, d'hydrodynamique, la profondeur à laquelle les échantillons doivent être immergés, les solutions techniques sont nombreuses. De la simple ligne de mouillage sur laquelle l'échantillon est directement fixé dans un filet, on peut trouver des systèmes plus élaborés composés d'une ligne de mouillage et d'une ligne satellite permettant de stabuler plusieurs échantillons dans des paniers en plastique inerte spécialement conçus à cet effet. Des mouillages de subsurface sont également utilisés.

Les bivalves, les poissons, les macrophytes, les gastéropodes peuvent être utilisés. En milieu marin et en eau douce de nombreuses espèces de bivalves servent de support aux expérimentations : *Mytilus spp.*, *Perna spp.*, *Ostrea spp.*, *Crassostrea spp.*, *Dreissena spp.*, *Anodonta spp.*, *Unio spp.*

La moule étant le bivalve le plus largement utilisé, la suite de cet article se focalisera plus particulièrement sur cette espèce. Dans leur synthèse de Kock et Kramer résument les principales caractéristiques de la technique des stations artificielles. Les avantages sont les suivants :

- la période d'exposition est connue,
- les stations de surveillance peuvent être sélectionnées indépendamment de la présence de population naturelles et de leur distance à la côte,
- les mesures sont optimisées par l'utilisation d'échantillons homogènes au regard de la population d'origine, de la taille, de l'âge et de leur environnement ...,
- les expérimentations peuvent être réalisées avec une espèce sélectionnée.

Les inconvénients :

- la lourde logistique inhérente à la mise en place de mouillages en mer, le coût,
- la tenue des mouillages face aux aléas climatiques et humains.

3. Facteurs de variabilité

Malgré l'homogénéité des lots transplantés, les résultats obtenus en station artificielle dépendent des cinétiques de bioaccumulation propres aux organismes transplantés et rend difficile leur comparaison avec les données issues de populations naturelles. Ces processus sont toutefois soumis aux mêmes facteurs externes et internes. La variabilité semble a priori moins importante.

3.1. Taille et âge des organismes

La croissance est dépendante de l'énergie disponible pour fabriquer des tissus somatiques et des gamètes. Ce phénomène varie selon plusieurs facteurs : quantité de nourriture disponible, énergie utilisée par l'organisme pour lutter contre des stress externes (conditions météo, qualité de l'eau, matières en suspension...). Ces facteurs peuvent engendrer des différences de croissance importantes.

Dans une population naturelle, la sélection d'organismes de même taille ne représente pas nécessairement une même catégorie d'âge et les écarts (d'âge pour une même taille) seront d'autant plus importants que les stations seront hétérogènes du point de vue de leur environnement.

Ce phénomène est semble-t-il moins important chez les populations transplantées car le lot calibré utilisé est originaire d'un site unique.

Les moules, comme les autres organismes marins, n'accumulent pas les contaminants de la même manière tout au long de leur vie. Dans le cas des métaux par exemple, le métabolisme élevé des jeunes accélère les processus. De même, le ralentissement de la croissance chez les individus âgés augmente les concentrations dans les tissus. Les plus fortes concentrations se retrouvent donc chez les organismes jeunes ou très âgés. Les contenus totaux dans l'animal augmentent par contre tout au long de la vie de l'animal (3, 7). Des auteurs ne remarquent pas de si nettes différences liées à la maturité sexuelle (8). Dans leurs synthèses de Kock et Kramer l'expliquent chez les jeunes individus par le rapport surface volume des tissus qui facilite les « entrées » de contaminants et chez les individus âgés par une diminution des possibilités d'excrétion.

Tous s'accordent toutefois à sélectionner des organismes entre 1 et 3 ans, ayant atteint la maturité sexuelle, pour des catégories de taille comprises entre 30 et 50 millimètres.

Il est intéressant de noter que la diminution des capacités d'excrétion peut également se produire selon Kramer et de Kock dans des eaux froides ou lorsque les capacités nutritives du milieu ne sont pas satisfaisantes. Ce point relatif aux eaux oligotrophes sera traité dans un paragraphe ultérieur.

3.2. Cycle sexuel et variations saisonnières

La bioaccumulation peut fluctuer selon le cycle biologique des organismes, les masses d'eaux arrivant sur la zone et la disponibilité de la nourriture, ou la périodicité des apports en contaminants. Ainsi, dans l'hémisphère Nord, les concentrations maximales en contaminant se retrouvent chez la moule pendant le courant de l'hiver jusqu'au début du printemps, les plus faibles en période estivale. Les prélèvements trimestriels du RNO le montrent clairement (exposés précédents).

Le cycle sexuel en relation avec des facteurs écologiques externes (disponibilité de la nourriture, hydrologie) et interne conduisent en général les expérimentateurs à retenir des critères communs dans leur méthodologie.

Bien que certains auteurs aient plaidé pour l'utilisation d'individus immatures (9, 10), les organismes sont généralement sélectionnés selon les standards énoncés ci-dessus (entre 1 et 3 ans, pour des catégories de taille comprises entre 30 et 50 millimètres). Ceci évite également d'effectuer les analyses sur des individus trop petits.

C'est la période d'exposition qui revêt alors de l'importance.

Pour s'affranchir au mieux des phénomènes liés au cycle sexuel la plupart des auteurs préconisent chez la moule d'éviter la période de ponte que ce soit dans le cadre d'opérations de biomonitoring sur le long terme (pour la période de prélèvement), ou pour des études plus courtes (période d'immersion).

3.3. Disponibilité de la nourriture

La nourriture (quantité, qualité) influence les concentrations en contaminants. Elle n'est pas obligatoirement synchrone d'un site à l'autre et varie selon le climat et la saison. Elle agit sur le cycle biologique des individus et peut être un vecteur important de contamination sous forme adsorbée. D'autre part, la présence sous forme dissoute ou adsorbé d'un contaminant induit chez les mollusques des taux d'adsorption extrêmement variables (11).

On note également que les taux de filtration varient selon les niveaux et la composition du plancton (12). Un milieu trop riche en matière en suspension peut avoir un effet délétère sur les taux de croissance (13).

Dans des secteurs oligotrophes de Kock et Kramer notent que la faible disponibilité de la nourriture induit de faibles taux de croissance, donc des niveaux de contamination forts qui varient inversement au poids sec de l'animal. Ils considèrent toutefois que la faible quantité de nourriture présente dans le milieu peut être compensée par des taux de filtrations supérieurs, à condition que la teneur dans les eaux en particules minérales soit faible. Aucune référence n'est citée, mais ces auteurs pensent que cet effet est minime en raison des courtes durées d'exposition dans les expériences de transplants (ils préconisent des durées expérimentales < trois mois).

3.4. Cinétiques d'adsorption

De nombreux modèles de bioaccumulation (3, 14, 15, 16...) ont été développés chez la moule. Les expérimentations (population naturelles ou stations artificielles) montrent que les cinétiques d'accumulation et d'élimination sont extrêmement variables selon les contaminants.

La période nécessaire aux organismes pour se mettre en équilibre avec le milieu est généralement plus courte que l'élimination des contaminants accumulés. Pour le cadmium les phénomènes d'accumulation et d'élimination semblent relativement lents, une expérience de transplantation croisée (15) fait mention d'un équilibre atteint au bout de 150 jours et d'une période de récupération extrêmement longue. Pour le mercure un équilibre a été atteint avec le milieu extérieur en 20 jours (17), l'élimination étant beaucoup plus lente (53 - 293 jours). Pour les PCB l'équilibre peut être encore plus rapide de l'ordre de 12 jours (18).

Sur la base de ces observations une période d'exposition courte est recommandée dans les expérimentations. Kramer et de Kock mentionnent qu'une période comprise entre 6 semaines et 3 mois est suffisante à condition de travailler avec des échantillons originaires d'un secteur peu contaminé à l'origine, pour éviter de mesurer en final le niveau initial des lots d'origine.

4. Quelques études de cas

Les expérimentations de surveillance à grandes échelles spatiales ne sont pas nombreuses. Elles concernent plus particulièrement le suivi d'apports à des échelles réduites comme par exemple par

exemple un estuaire ou sur 10 km de côte, avec dans certains cas des stations situées très au large (maximum 60 km). Aucune étude de surveillance pérenne (sur l'année) n'a été a priori menée.

4.1. Suivi de la contamination par le mercure dans l'estuaire de l'Ems (19)

Ce travail a été initié en 1981 pour suivre la pollution par le mercure produite par des rejets industriels et les efforts pour les réduire. Trois sites ont été sélectionnés du secteur source vers la mer ouverte. Chaque échantillon contenait 80 moules de 4 à 5 cm de longueur. La concentration totale en mercure mesurée à intervalle de temps régulier pendant une période d'exposition de 250 jours montrait des niveaux décroissants de l'estuaire vers le large, avec des variations synchrones à toutes les stations. La variation temporelle des concentrations en mercure est comprise entre 15 et 30 % à tous les sites. Dans une étude antérieure, menée sur des populations naturelles prélevés à proximité des stations, elle était comprise entre 25 et 75 % (20).

4.2. Suivi de la contamination par le cadmium de l'estuaire de la Scheldt

Deux expérimentations ont été réalisées en hiver (novembre 79 - janvier 80) et en été (juin - septembre 80) dans cet estuaire néerlandais (température 4 - 9 ° C en hiver, 15 - 19° C en été). Les moules utilisées venaient d'Irlande (T° 13 - 14 °C, salinité 30 - 35 mg/l), chaque échantillon comprenait 100 individus. La période d'exposition était de 10, 25, 60 jours. Un gradient de cadmium biodisponible a été nettement identifié de l'estuaire vers le large, sans atteindre un plateau au bout de 60 jours. Les concentrations mesurées en hivers étaient largement supérieures (max > 6 mg / kg p.s) sauf pour la station située la plus au large où les niveaux étaient équivalents en été et en hiver (< 0,5 mg / kg p. s.

4.3. Etude de profils verticaux de DDT et de PCB en Californie (21)

Des échantillons de moule ont été placés à 0,5 , 4, 15, 25 et 35 mètres (près du fond) et collectés toutes les 2 semaines pendant 14 semaines. Exprimées en poids sec de chair les résultats montrent un équilibre atteint à toutes les profondeurs au bout de 4 à 6 semaines, avec un gradient très net de la surface vers le fond, où les concentrations pour les deux contaminants étaient les plus élevées.

4.4. Accumulation et distribution de métaux lourds (22)

Des moules d'un site reconnu comme peu contaminé (La Spezia - Italie) ont été implantées six mois dans un site contaminé (Scarlino - Mer Adriatique) en métaux lourds. Les échantillons d'une taille moyenne de 5 cm étaient stabulés à 1 m de profondeur pendant 6 mois (février - juillet). En parallèle des moules originaires des deux sites étaient échantillonnées et immergées dans des bacs alimentés en eau de mer « propre » pour étudier les cinétiques de décontamination.

Les moules de La Spezia ont atteint les niveaux des moules de Scarlino en 2 semaines pour le Pb, le Fe et le Mn. Le Cu et le Zn n'ont pas été accumulés aux mêmes niveaux que les moules autochtones, les auteurs suggèrent une biodisponibilité identique pour ces métaux dans les deux sites et une régulation du Cu et du Zn par les moules.

Au laboratoire, les cinétiques de décontamination ont été très variables selon les contaminants, chacun ayant une distribution subcellulaire caractéristique et identique entre les deux sites.

Les auteurs concluent que les différences entre les processus de bioaccumulation mis en jeu pour chaque contaminant sont reliés aux mécanismes cellulaires responsables des phénomènes de détoxification et/ou d'excrétion.

4.5. Comparaison de niveaux en métaux traces en Mer du Nord (23).

Ce suivi est réalisé aux Pays Bas près de Noodwich pour évaluer l'impact des apports du Rhin et de la Meuse. Six stations ont été placées à 0, 2, 4, 10, 20, 60 km de la côte, elles contiennent chacune 9 échantillons de 50 moules. Chaque semaine un échantillon est prélevé. Pour chaque contaminant métallique un gradient est mis en évidence de la côte vers le large. Pour le Zinc et le cuivre un équilibre est atteint à chaque station au bout de quelques semaines (<2), pour le cadmium l'équilibre n'a pas été atteint au bout des 9 semaines d'exposition.

5. Conclusions

La technique des stations artificielles semble apparemment un bon outil, dont le champ d'application permet d'obtenir des données supplémentaires à celles obtenues sur des populations naturelles de bivalves (sans pouvoir les comparer en raison de cinétiques de bioaccumulation certainement différentes).

Cette technique permet de placer des échantillons là où la disponibilité de populations naturelles exclue tout échantillonnage et permet de réduire l'influence d'un certain nombre de facteurs externes et internes sur les résultats et d'optimiser les comparaisons entre plusieurs sites.

Il s'agit cependant d'une technique relativement lourde à mettre en oeuvre, extrêmement tributaire des conditions du milieu dans lequel les stations sont implantées. C'est certainement pour ces raisons que cette technique n'est pas utilisée pour des suivis à long terme à de grandes échelles spatiales et semble plus adapté à des études d'impact et des suivis de rejets à des échelles spatiales et temporelles réduites.

Hormis ces considérations techniques et financières la bibliographie parcourue (peut être n'est elle pas exhaustive) n'écarte pas l'utilisation de la méthode des transplants sur un long linéaire côtier. Il n'est cependant pas fait mention de problèmes particuliers liés à l'immersion de moules dans des eaux oligotrophes.

Cette technique reste toutefois tributaire de deux impératifs. Eviter de trop longues périodes d'exposition et utiliser un lot originaire d'un site reconnu propre en matière de contamination chimique.

6. Références

- 1 Claisse, D. 1989. Chemical contamination of French coast : the result of a ten year mussel watch. *Mar. Pollut. Bull.*, **20** : 523 - 528.
- 2 Phillips, D. J. H et Douglas, A. S. 1986 . Use of bio- indicators in monitoring conservative contaminants. *Mar. Pollut. Bull.*, **17** : 10-17.
- 3 Cossa, D. 1989 . A review of the use of *Mytilus spp* as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal water. *Oceanol. Acta*, **12**: 417-432.
- 4 Phillips D. J. H. 1976. The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. Effect of environmental variables on uptake of metals. *Mar. Biol.*, **38**: 59 - 69.
- 5 Phillips D.J. H et Segar . D. A , 1986. Use of bioindicators in monitoring conservative contaminant: programme design imperative. *Mar. Pollut. Bull.*, **17** : 10-17.
- 6 De Kock, W. Chr, 1983. Accumulation of cadmium and PCB,s by *Mytilus edulis* transplanted from pristine water into polluted gradient. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **40** : 282-294.

- 7 Schulz-Baldes., M. 1973. Die mies muschel *Mytilus edulis* als indicator fur die bleikonzentration in wesrestuar in der deutschen bucht. *Mar. Biol.*, **21**: 98-102.
- 8 Walker, T.I., 1982 . Effects on lenght and locality on the mercury content of blacklip abalone, *Notohaliotis ruber* (Leach), blue mussel *Mytilius edulis planatus* (Lamarck), and flathead *Platycephalus bassensis* (Cuvier and Valenciennes), and long noosed flathead *Platycephalus caeruleopunctatus* (Mc Culloch), from Port Phillip Bay Victoria. *Aus .J. Mar. Freshw. Res.*, **33**: 553-560.
- 9 Cossa, D., E. Bourget et J. Piuze. 1979. Sexual maturation as a source of variation in the relationship between cadmium concentration and body weight of *Mytilus edulis*. *L. Mar. Pollut. Bull.*, **10**: 174-176.
- 10 Orren, M. J., G. A. Eagle, H. F.Henning et A. Green, 1980. Variation in trace metal content of the mussel *Choromytilus meridionalis* with season and sex . *Mar. Pollut. Bull.*, **11**: 253-257.
- 11 Jorgensen, C. B. 1990. Bivalve filter feeding: hydodynamics, bioenergetics, physiologie and ecology. Olsen and Olsen editeurs. Fredensborg, pp 140.
- 12 Winter, J.E. 1978. A review of knowledge of suspension in lamellibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. *Aquacultur.*, **13**: 1-33.
- 13 Prins , T. C. et A. C. Smaal. 1989. Carbon and nitrogen budget of *Mytilus edulis* and the cocckle *Cerastoderma edule* in relation to food quality. *Scient. Mar.*, **53**: 477-482.
- 14 Nelly, W.B., D. R. Bransonand G. E.Blau. 1974. Partition coefficient to mesure bioconcentration potential of organic chemical in fish. *Environ. Scien. Technol.*, **8**: 1113-1115.
- 15 De Kock, W. Chr.and H. Vzn Groenewoud, 1985. Modelling bioaccumulation and elimination dynamics of some xenobiotic pollutants (Cd, Hg, PCB, HCB) based on *in situ* observation with *Mytilus edulis*. TNO report R85/217, Netherland Organisation for Applied Scientific Research, Delft, pp 68.
- 16 Wang, W.X., Fisher, N.S., Luoma, S. N. 1996. Kinetic determination of trace element bioaccumulation in the *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog.*, **140**: 91-113.
- 17 Elliot, N.G., R.Swain et D.A. Ritz. 1985. The influence of cycle exposure on the accumulation of heavy metals by *Mytilus edulis planulatus*. *Mar. Environ. Res.*, **15**: 17-30.
- 18 Hummel, H., Uit Oude Groneweld, J.P., Nieuwenhuize, J., Van Liere J.M., et Bogaards R.H. 1989. Relationship between PCB concentration and reproduction in mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Environ. Res*, **28**: 489-493.
- 19 De Kock, W. Chr et J. Kuiper.1981. Possibilities for marine pollution research at the ecosystem level. *Chemosphere*. **10**: 575-603.
- 20 De Wolf, P. 1975. Mercury content of mussel from West European coasts. *Mar. Pollut. Bull.*, **6**: 61-62.
- 21 Youg, D. R. T, T. C. Heesen et D.J. Mc Dermott. 1976. An offshore biomonitoring system for chlorinated hydrocarbons. *Mar. Poll. Bull.*, **7**: 156-159.
- 22 Regoli, F. et E. Orlando. 1994. Accumulation et subcellular distribution of metals (Cu, Fe, Mn, Pb, Zn) in the mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* during a field transplant experiment. *Mar. Poll. Bull.*, **10**: 592-600.
- 23 Kerdijk, H., K. Kramer, M. Eggens, B. Van Eck et P. del Castillo, 1989. Biologische beschikbaarheid van contaminanten in het Nederlandse kustwater. RWS-DGW/MT-TNO/IB/WL report T 17. Vol I tekst/Vol II tabellen. Minitry of transport and Public Works. Tidal Waters Division Middelburg, pp 88 + 130.

IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997
Centre de Nantes

L'expérience RINBIO

B. ANDRAL et J. Y STANISIERE
DEL/Toulon

1. Introduction

Le Schéma Directeur d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SDAGE), élaboré par l'Agence de l'eau RMC dans le cadre de la loi sur l'eau de 1992 (Comité de bassin, 1995), définit l'espace littoral comme une double frange terrestre (bassin versant de proximité) et marine (soumise aux apports telluriques), découpée en cinquante zones homogènes ou unités de gestion cohérentes quant à leur exploitation, protection et restauration (Denis et al., 1994).

Le Réseau Littoral Méditerranéen (RLM) a été conçu pour faciliter, à travers ces cadres territoriaux, la collecte d'indicateurs de la qualité de l'environnement. Ces informations synthétisées et spatialisées doivent permettre d'orienter la politique de lutte contre les pollutions et de protection du milieu et des usages. Un de ses objectifs est d'évaluer, les niveaux de contamination chimique dans le champ soumis à l'action cumulée des apports du bassin versant affectant chaque zone homogène. Dans cet espace, appelé «champ moyen», les niveaux de concentration des contaminants chimiques sont considérés comme n'étant pas imputables à un apport identifié ou à son panache de dilution.

L'objectif de l'étude «Rinbio» (Réseau-intégrateurs-biologiques) était donc, à l'échelle du bassin, d'obtenir une photographie de l'état de la contamination chimique et de configurer, à terme, un outil capable de suivre à intervalle régulier les efforts en matière de dépollution mis en oeuvre sur le bassin versant.

La mesure directe des contaminants dans l'eau fait appel à des techniques de prélèvement et d'analyse sophistiquées qu'il est difficile de mettre en oeuvre le long d'un important linéaire côtier. De plus, la variabilité du milieu littoral ne confère que peu de signification à une mesure ponctuelle ; de nombreuses mesures échelonnées dans le temps seraient donc nécessaires pour intégrer cette variabilité avec des conséquences sur les coûts d'opération. Aussi on a privilégié une approche utilisant la moule comme indicateur biologique quantitatif, qui repose sur l'hypothèse qu'une relation existe entre le contenu en contaminants chimiques de sa chair et le niveau de contamination du milieu ambiant (Phillips et Rainbow, 1994).

Les gisements naturels de moules ne permettant pas de couvrir toutes les zones homogènes définies par le SDAGE, des stations artificielles ont été implantées le long des 1800 kilomètres de côtes de la façade méditerranéenne française. Après un séjour de plusieurs mois dans l'eau, les moules accumulent les contaminants chimiques jusqu'à atteindre un pseudo-équilibre avec le milieu, atténuant les fluctuations des concentrations en contaminant à court terme (Claisse et al., 1992).

2. Matériel et méthodes

2.1. Mouillages

Quatre vingt quatre (84) stations expérimentales ont été mouillées, 20 en milieu lagunaire, 64 dans la zone marine, pour renseigner chacune des 50 zones homogènes. En mer ouverte, les stations ont été disposées sur la ligne bathymétrique des 30 m, pour les côtes à forte pente, et sur la ligne bathymétrique des 20 m pour les côtes sableuses. Les distances à la côte variaient de 200 à 10 000 m. Le mouillage est composé de deux ensembles soutenant chacun un échantillon de moules dans une poche conchylicole en plastique alimentaire relié à un lest de 30 kg posé sur le fond. Chaque poche est maintenue dans la colonne d'eau au moyen d'un flotteur de 7 litres. La liaison des deux ensembles est réalisée au niveau des lests. La profondeur de stabulation est comprise entre 10 et 15 m.

En lagune, le mouillage est composé d'une table en acier galvanisé sur lesquelles repose à 0,5 m du fond, une poche conchylicole contenant l'échantillon de moules. Les relargages éventuels de contaminants par l'ensemble de ces dispositifs a été considéré comme négligeable compte tenu de la durée d'immersion et de la position des poches dans la colonne d'eau.

2.2. Echantillonnage

Deux tonnes de moules (*Mytilus galloprovincialis*) élevées en filières ont été utilisées : 10 kg par échantillon en mer ouverte, 3 kg en lagune. Les tailles des individus étaient comprises entre 30 et 60 mm (moyenne 42 mm), ce qui correspond à des moules d'environ 18 mois. En complément des analyses chimiques d'éléments stables et de composés organiques, des mesures de radioéléments ont été réalisées sur 37 stations de mer ouverte par l'Institut de Protection et de Sécurité Nucléaire (IPSN). La durée d'immersion a été de 5 mois (février - juillet 1996). Sur site, les moules étaient lavées à l'eau de mer, dégrappées, triées et calibrées. Des lots de 3 kilogrammes étaient stockés en glacière réfrigérée, puis préparés selon les procédures du Réseau National d'Observation de la qualité des eaux (RNO) (Joanny et al., 1994).

2.2. Analyses des contaminants

Les analyses chimiques ont été réalisées selon les protocoles du RNO. Après minéralisation par voie humide, plomb, cadmium, cuivre, chrome, nickel et zinc étaient dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique au four ou en flamme et le mercure par fluorescence atomique après formation des vapeurs froides. L'arsenic était dosé par la technique dite des hydrures.

Les dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT+DDD+DDE), hexachlorocyclohexane (γ HCH, α HCH), et les polychlorobiphényles ³ (PCB) étaient dosés par chromatographie capillaire en phase gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques ⁴ (HAP) par chromatographie haute pression couplée à un détecteur de fluorescence.

³ CB28, CB31, CB35, CB52, CB101, CB118, CB138, CB153, CB 180.

⁴ Benzo (b) fluoranthène, Benzo (k) fluoranthène, Benzo (a) pyrène, Benzo (ghi) pérylène, Indéno (1,2,3-cd) pyrène, Fluoranthène

3. Résultats

3.1. Récupération des mouillages

Le mouillage en mer ne disposant pas en général de repère de surface, pour éviter les dégradations, la localisation s'est faite par l'utilisation combiné du GPS, d'un sonar panoramique et d'un sondeur vertical. La récupération des échantillons sur les mouillages a été réalisée en plongée.

Le pourcentage de récupération a été de 80 %. Les stations où les mouillages ont été perdus se localisaient dans les zones à fond sableux où l'activité de pêche au chalut est importante (principalement à l'Ouest du bassin). Toutes les stations lagunaires ont été récupérées, 60 % seulement ont été exploitées en raison de fortes mortalités (envasement, bio-salissures, variations de salinité).

3.2. Caractéristiques des échantillons

Les tailles des moules recueillies étaient comprises entre 40 et 69 mm (moyenne 50,4 mm) ; les moules du golfe du Lion ayant les tailles les plus grandes. Sur les échantillons destinés à l'analyse des radioéléments l'IPSN a déterminé un indice de condition basé sur le rapport poids sec de chair / poids sec de coquille (Thébault et al., 1997). Cet indice est représentatif de la quantité de métabolites de réserve accumulées par les moules (Lobel et Wright, 1982). Sa distribution et celle de la taille, complétée par les observations faites lors du relevage des mouillages, permettent d'identifier quatre groupes d'échantillons répartis d'Ouest en Est : golfe du Lion, panache du Rhône, Provence - Alpes - Côte d'Azur (PACA), Corse (Fig 1).

Dans le golfe du Lion, les poches sont soumises à l'action combinée du captage de moules, du « fouling » et de l'envasement. La taille des échantillons et les indices de condition atteignent des valeurs maximales dans le panache du Rhône. De Marseille à la frontière italienne et sur tout le littoral Corse, la croissance des moules est au contraire réduite, le captage diminue vers l'Est et les coquilles sont moins épaisses. On distingue les échantillons prélevés en région PACA, des échantillons prélevés en Corse, qui ont les tailles les plus petites et les indices de condition les plus faibles.

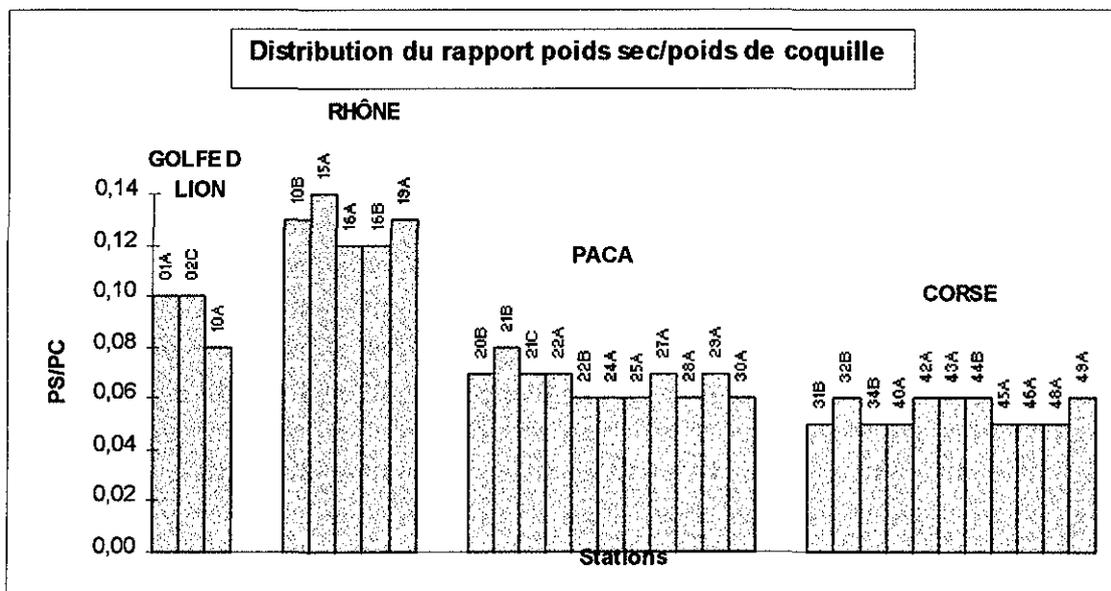


Figure 1 : Distribution des valeurs de l'indice de condition poids sec de chair / poids de coquille sur les stations en mer ouverte. PS: poids sec de chair; PC: poids sec de coquille; 31 B : numéro station.

3.3. Niveaux de contamination

Les niveaux de contamination mesurés dans la chair des moules sont en général peu élevés, au regard des données disponibles (Cossa, 1988 ; Claisse, 1989 ; Joanny et al., 1993 ; O'Connors, 1992 ; Bergman, 1993 ; MAP, 1995) obtenues sur des populations naturelles de moules et selon des stratégies d'échantillonnage tout à fait différentes (Tableau 1). En résumé :

- Les niveaux ne sont pas élevés, hormis certaines situations locales: DDT dans l'étang d'Urbino (57,7 mg/kg p.s), le nickel et chrome à la Pointe Stintinu (4,5 et 7,5 mg/kg p.s), le cuivre à la Pointe de Mouret (8,5 mg/kg p.s.) et le cadmium dans l'étang de Bages (2,7 mg/kg p.s.).
- Le niveau moyen de contamination en zinc (181 mg/kg p.s) est élevé sur l'ensemble du bassin, certaines stations pouvant atteindre en Corse 274 mg/kg p.s.
- Les niveaux de concentration en PCB sont très faibles. Seuls les congénères 138 et 153 ont été détectés dans tous les échantillons. La baie de Marseille présente des concentrations plus élevées (82,2 µg/kg p.s). Il en est de même pour les HAP ou sur six composés, seul le fluoranthène dépasse dans tous les échantillons le seuil de détection (1 µg/kg p.s), avec un pic dans le golfe de Fos (9,9 µg/kg p.s). Quatre stations en lagune fournissent des données proches de la limite de détection (1 µg/kg p.s) pour le γHCH.
- A l'échelle du bassin, les concentrations de Cd, Zn, Hg sont deux à trois fois supérieures en Corse et en région PACA par rapport à l'embouchure du Rhône ou le golfe de Fos. Ces valeurs élevées se produisent pour des échantillons qui ont les tailles et les indices de condition les plus faibles. C'est donc dans les zones où les apports nutritifs du Rhône qui favorisent la production biologique sont les plus forts (IFREMER, 1985 ; Minas et Minas, 1989) que l'on observe les concentrations en Cd, Zn et Hg les plus faibles. Les résultats étant exprimés en poids sec de chair, les concentrations sont plus faibles chez les individus ayant un poids de chair élevé, en relation avec leur cycle sexuel et leur contenu en métabolites de réserve. Cette observation est à rapprocher de celles effectuées par d'autres auteurs (Phillips, 1976 ; Phillips et Rainbow, 1994 ; Wang et al., 1996).

4. Discussion

Les conditions de croissance des moules interviennent sur la bioaccumulation des contaminants (Cossa, 1989). Dans les conditions de cette étude, la comparaison spatiale des données n'a pu donc être réalisée qu'à l'intérieur de secteurs homogènes du point de vue trophique. Les concentrations les plus faibles ont été mesurées à l'Ouest où les tailles et les indices de condition sont les plus élevés. L'expression de la contamination en quantité de contaminant par unité de poids sec semble mal adaptée pour la comparaison de stations présentant des indices de conditions très différents.

Pour s'affranchir de ces phénomènes de dilution, il semble nécessaire de rechercher une unité d'expression indépendante des réponses physiologiques liées aux différences trophiques pour pouvoir pondérer les résultats d'analyses chimiques obtenus dans la matière vivante. Une possibilité consiste à tenir compte de la biométrie, en utilisant, par exemple, des indices exprimant les résultats en fonction du poids de coquille comme l'ont fait au paravent plusieurs auteurs (Fisher, 1984 ; Cossa et Rondeau, 1985 ; Soto et al., 1995). D'autres pistes doivent toutefois être exploitées comme l'expression de la contamination par unité de moule.

Il est également important de s'interroger sur la représentativité des résultats obtenus dans des zones où les conditions de croissance des moules ont été défavorables. Des développements devront être entrepris pour mieux cerner les interactions entre les facteurs du milieu, la physiologie des organismes et la bioaccumulation des contaminants.

Contaminants en mg/ kg p.s	Lot initial	Moy bassin	Min	Station	Max	Station
Imersion	t = 0	t + 5 mois	t + 5 mois		t + 5 mois	
Plomb	1,5	1,35	0,3	Etang Diana	1,9	Tour Calzarello
Zinc	189	181,2	74	Etang Urbino	274	Pointe Latone
Cadmium	0,7	1,11	0,3	Etang de Paolo	2,7	Etang de Bages
Mercure	0,14	0,123	0,05	Aresquier	0,19	Etang de La Palme
Cuivre	6,2	5,4	2,9	Etang du Prévost	8,5	Pointe du Mouret
Nickel	0,8	1,16	0,2	Etang du Prévost	4,5	Ponte Stintinu
Chrome	0,7	1,13	0,2	Etang du Prévost	7,5	Pointe Stintinu
Arsenic	23	20	7,9	Pointe de la Fautea	35	Etang de l'Ayrolle
en µg/kg p.s						
DDT+DDE+DDD	13	8,4	2,7	Pointe Latone	57,7	Etang Urbino
Lindane	-	1,32	<s.d	-	1,9	Etang de La Palme
CB 138 + CB153	31	13,56	1,8	Pointe Latone	82,2	Escalidon
Fluoranthène	16,3	5,55	2,6	Etang de Diana	10,4	Iles Fourmiges

Tableau 1 : Synthèse des résultats de la campagne RINBIO pour chaque contaminant. Moy : moyenne - Min : minimum - Max maximum - s.d : seuil de détection - p.s : poids sec

5. Conclusion

Cette étude pilote, menée pour la première fois en France et à notre connaissance dans le monde à une échelle spatiale aussi vaste, a montré qu'il était possible de surmonter les nombreux aléas techniques inhérents à la mise en oeuvre de stations expérimentales à l'échelle du bassin.

Elle a permis d'évaluer les niveaux de contaminants biodisponibles pour les moules en stations artificielles dans la zone de dilution des apports polluants affectant la zone côtière, en fournissant des informations inédites sur des sites n'ayant jamais fait l'objet d'investigation. Le pourcentage de perte des mouillages en Languedoc Roussillon n'a cependant pas permis d'identifier l'extension spatiale des apports du Rhône vers l'Ouest.

Cette étude pilote a apporté des éléments nouveaux permettant de mieux cerner les limites de la technique d'implantations artificielles en Méditerranée et a montré la nécessité d'étudier de nouvelles voies pour rendre compte de la bioaccumulation dans des secteurs hétérogènes du point de vue trophique.

Lorsque les conditions ambiantes sont défavorables à la croissance des moules transplantées (secteurs oligotrophes), les interactions entre leur physiologie et les processus de bioaccumulation devront être précisés pour valider la représentativité des résultats obtenus par rapport à ceux mesurés dans les autres secteurs du bassin.

6. Références

- Comité de Bassin. 1995. Schéma Directeur d'Aménagement et de Gestion des Eaux du Bassin Rhône-Méditerranée-Corse. Agence de l'Eau RMC ed., Lyon.
- Denis J., Miossec L., Hénocque Y., Console J.J et Angeli J.P. 1994. Qualification du littoral Méditerranée et cartographie en zones homogènes. Rapport d'étude pour l'Agence de l'Eau RMC, IFREMER Toulon.
- Claisse D., Joanny M., Quintin J Y. 1992. Le réseau national d'observation de la qualité du milieu marin (RNO) . *Analisis*, 6 : 19 - 23.
- Joanny M., Console J. J., Claisse D., Hénocque Y. 1994. Proposition d'un cahier des charges pour une étude de la qualité du milieu littoral basée sur des intégrateurs biologiques. Proposition finale. Rapport d'étude pour l'Agence de l'Eau RMC, IFREMER Toulon.
- Thébault H., Charmasson S., Calmet D., Arnaud M et Henocque Y. 1997. The coastal mediterranean monitoring network project : radionuclide survey . *Radiation Protection Dosimetry*, in press.
- Lobel P.B et Wright., D.A. 1982. Relationship between body zinc concentration and allometric growth measurement in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 66 145-150.
- Joanny M., Belin, C., Claisse D., Miossec L., Berthomé J. P., Grouhel A., Raffin B. 1993 *Qualité du milieu marin littoral* - Editions IFREMER.
- O'Connors T. P. 1992. Mussel Watch: recent trends in coastal environmental quality. U. S. Department of Commerce. National Oceanic and Atmospheric Administration.
- Bergman A . 1993. Concentration of PAH, PCBs and heavy metals in the blue mussel *Mytilus edulis*. 1993 Project Polwad/ Beon Effekt Ministry of Transport, Public Work and Water Managment of Netherlands.
- MAP (Mediterranean action plan) 1995. Assesment of the state of pollution in the méditerranean by carcinogenic, mutagenic and teratogenic substances. *MAP Technical Reports Series* N° 92.
- IFREMER . 1987. Résultats de la campagne INTERSITE II du 13 - 27 septembre 1984.
- Minas M., Minas H.J., 1989. Primary production in the Golf of Lion with consideration with the Rhone river inputs. *Water Pollution Research Reports*, 13 « EROS 2000» J. M. Martin and H. Barth Eds. CES - MST, Paris, 112 - 125.
- Phillips D. J. H., 1976. The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. Effect of environmental variables on uptake of metals. *Mar. Biol.*, 38 : 59 - 69.
- Wang W.X., Fisher N.S., Luoma, S. N., 1996. Kinetic determination of trace element bioaccumulation in the *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog.* 140 : 91 - 113.
- Fischer H . 1984. Cadmium body burden/Shell weight of mussel : a precise index for environmental monitoring. Comm. Meeting in Council Explor. Sea, CM - ICES/E 41: 1 - 19.
- Soto M., Kortabitarte M., Marigomez I. 1995. Bioavailable heavy metals in estuarine waters as assessed by metal/shell weight indices in sentinel mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Ecol. Pro. Ser.*, 125 : 127 - 136.
- Phillips, D.J.H. et Rainbow, P.S. 1994. *Biomonitoring of trace aquatic contaminants*. Chapman & Hall, Londres, pp371.
- Cossa, D. 1988. Cadmium in *Mytilus* spp. : Worldwide Survey and Relationship Between Seawater and Mussel Content. *Mar. Environ. Res.*, 26 : 265-284.
- Claisse, D. 1989. Chemical contamination of the French coasts : the result of ten years mussel watch. *Mar. Pollut. Bull.*, 20 : 523-528.

- Cossa, D. 1989. A review of the use of *Mytilus* spp. as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanol. Acta*, **12** : 417-432.
- Cossa, D. et J.G. Rondeau. 1985. Seasonal, geographical and size induced variability in mercury content of *Mytilus edulis* in an estuarine environment. *Mar. Biol.*, **88** : 43-49.

IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997

Centre de Nantes

Expression de la contamination par unité de coquille : une solution pour l'interprétation spatiale des résultats de bioaccumulation chez *Mytilus galloprovincialis* transplantée en milieu hétérotrophe

J.Y STANISIERE et B. ANDRAL
DEL/Toulon

1. Problématique

L'objectif du Réseau Intégrateurs Biologiques (RINBIO) mis en place en 1996 était d'obtenir une photographie des niveaux de la contamination chimique biodisponible à l'échelle du bassin méditerranéen français dans chaque zone homogène définie par le SDAGE. La méthodologie s'appuyait sur la mesure des concentrations en contaminants métalliques et organiques bioaccumulés dans les tissus de moules (*Mytilus galloprovincialis*) transplantées 4 mois dans la zone dite du "champ moyen" (Denis et al., 1994).

La mesure des tailles moyennes et des indices de condition effectuée sur les moules après stabulation (Figure 1) a montré une croissance et un état physiologique hétérogènes en relation avec la variabilité trophique des eaux du littoral méditerranéen. Les relations inverses significatives observées entre le zinc, le mercure, le cadmium et le plomb et les indices de condition (Figure 2 : exemple du cadmium) traduisent que la variabilité des concentrations en contaminant est en partie le résultat d'un effet de dilution du contenu en contaminant des moules par la croissance de leurs tissus mous, ou *vice-versa*. Nous savons que la quantité de contaminant exprimée par unité de poids sec de chair est fonction des cinétiques de bioaccumulation et de la croissance pondérale du biointégrateur pendant la durée d'exposition (cf. Phillips, 1980 ; Cossa, 1989) ces cinétiques peuvent avoir des effets contradictoires sur le niveau de concentration atteint chez l'animal. La croissance agit en fait comme un facteur de dilution de la quantité de contaminant incorporée, l'amaigrissement comme un facteur de concentration. La comparaison spatiale des niveaux de concentration des contaminants biodisponibles n'est donc strictement possible que lorsque : (1) la croissance somatique des moules de chaque lot est relativement homogène, et (2) l'état physiologie des lots ne modifie pas de façon importante les cinétiques de bioaccumulation. Ces conditions n'étant pas réunies, l'exercice RINBIO-96 n'a pas permis de comparer les niveaux de contamination biodisponibles à l'échelle de l'ensemble du bassin. Seule une comparaison à l'intérieur de 4 secteurs géographiques homogènes (Corse, PACA, embouchure du Rhône et golfe du Lion) du point de vue trophique a permis de négliger l'effet de la physiologie sur la bioaccumulation.

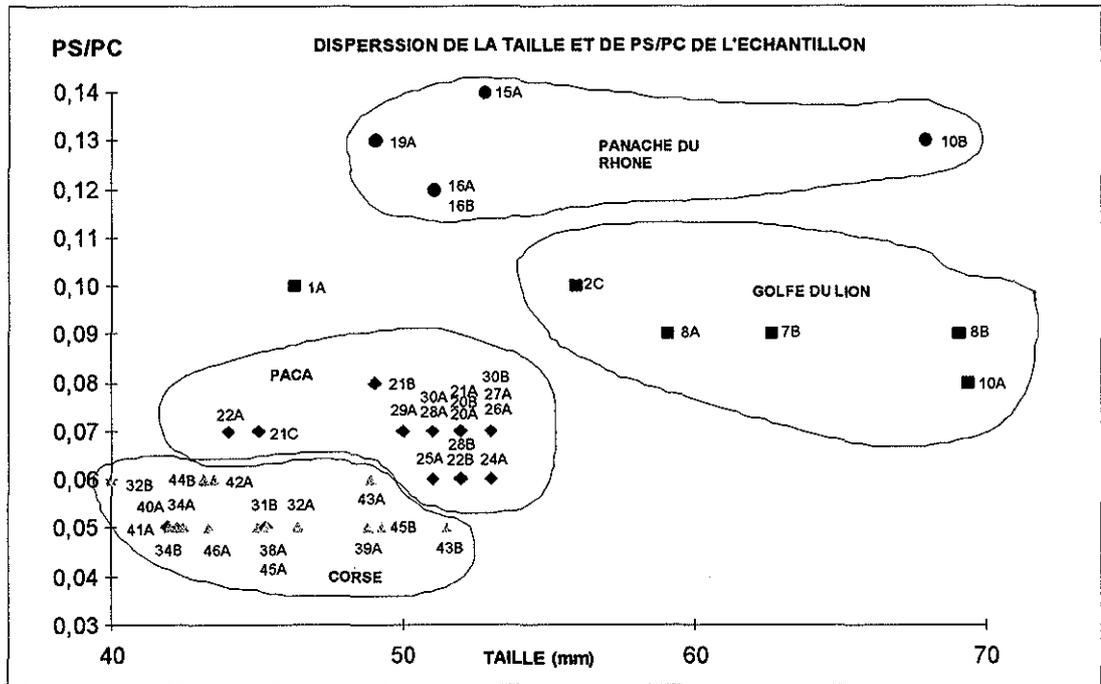


Figure 1. Caractérisation de l'état physiologique des lots de moules lors de l'expérience RINBIO 1996

2. Modèle correctif proposé

Pour permettre une interprétation spatiale à l'échelle de l'ensemble du bassin, nous avons exprimé les concentrations non plus par unité de poids sec de la chair de moule, mais par unité de poids de coquille. Cette technique utilisée déjà par plusieurs auteurs (ex. : Fisher, 1983 ; Cossa, 1989) a pour effet d'éliminer la dilution des contaminants contenus dans l'animal par la croissance des tissus mous. Ainsi, tous les résultats exprimés en concentration par poids sec de tissus mous ont été multipliés par l'indice de condition correspondant (chaque fois que celui-ci était disponible). Cette correction repose sur l'hypothèse d'une corrélation linéaire positive entre l'indice de condition et la croissance moyenne des lots analysés pendant la période de stabulation. Elle nous a semblé être une approximation acceptable, en accord avec les observations. Les résultats obtenus après correction sont alors bien plus cohérents avec les sources connues de contamination sur le bassin (Tableau 1 ; Fig. 3).

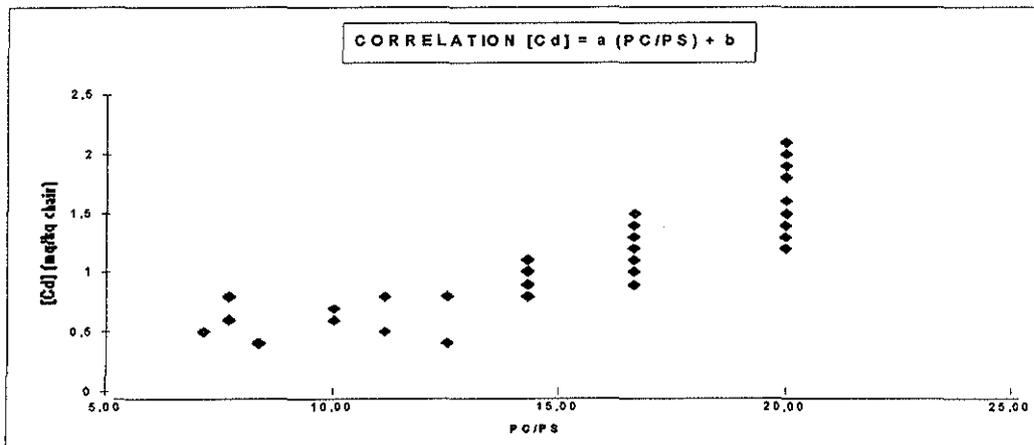


Figure 2. Expérience RINBIO 96. Relation entre les concentrations en cadmium et l'indice de condition ($r=0,86$).

n°	Pb	Zn	Cd	Hg	Cu	Ni	Cr	As	DDT	PCB	PAH
01A	1	2	2	1	2	1	2	3	3	1	2
02C	2	2	2	1	2	1	3	2	3	2	3
07B	1	1	1	1	1	2	3	3	3	1	2
08A	2	2	2	1	2	2	1	3	2	2	3
08B	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	1
10A	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	2
10B	2	3	2	2	3	3	2	3	3	3	3
15A	3	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3
16A	3	2	1	3	3	2	4	3	3	3	3
16B	3	2	1	3	3	2	4	3	2	3	4
19A	3	2	3	3	2	3	3	4	3	4	4
20A	3	3	3	3	3	4	3	4	2	3	3
20B	1	3	2	2	1	1	1	2	1	1	2
21A	1	2	2	2	2	1	1	2	1	1	2
21B	1	2	2	2	3	2	2	2	1	1	2
21C	1	2	2	1	2	1	3	2	1	1	2
22A	1	2	2	2	2	2	1	3	1	1	2
22B	1	2	1	1	1	2	2	2	1	1	2
23A	1	1	2	2	1	1	1	3	1	1	3
24A	1	2	2	1	1	2	1	2	1	1	1
25A	1	3	2	1	1	2	1	2	1	1	1
26A	1	3	2	1	2	1	1	2	1	1	2
27A	1	2	1	1	1	3	2	3	1	1	1
27B	1	3	2	1	2	2	3	3	1	1	1
28A	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1
28B	1	3	2	1	2	1	3	2	1	1	2
29A	1	2	2	1	2	2	2	2	1	1	1
29C	1	3	2	1	2	1	2	2	1	1	2
30A	1	2	2	1	1	2	1	2	1	1	2
30B	1	2	2	1	2	3	2	3	1	1	2
31A	1	2	2	1	1	4	4	1	1	1	1
31B	1	2	2	1	1	2	2	2	1	1	1
32A	1	2	2	1	1	2	2	2	1	1	1
32B	1	3	3	2	1	2	3	2	1	1	1
34A	1	2	2	1	1	2	2	2	1	1	1
34B	1	2	2	2	1	3	3	2	1	1	1
38A	1	2	2	2	1	2	1	1	1	1	1
39A	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1
40A	1	2	3	2	1	1	1	2	1	1	1
41A	1	2	3	1	1	1	1	2	1	1	1
42A	1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1
43A	1	2	2	1	1	3	2	2	1	1	2
43B	1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1
44A	1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1
44B	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
45A	1	2	3	1	1	2	1	1	1	1	1
45B	1	2	3	1	1	1	1	2	1	1	1
46A	1	3	3	1	1	2	1	1	1	1	2
47A	1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1
48A	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
48B	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
49A	1	3	3	1	1	2	2	1	1	1	1
50A	1	1	2	1	1	3	3	1	1	1	1

Tableau 1. Résultats des concentrations en contaminants exprimés par unité de poids de coquille suivant les stations RINBIO. (1) absence de contaminé ; (2) faiblement contaminé; (3) moyennement contaminé; (4) fortement contaminé.

Ce modèle reste cependant une correction discutable tant que l'indépendance de l'état physiologique des lots sur les cinétiques de bioaccumulation n'est démontrée. Pour ce faire nous avons essayé de mieux cerner cette relation grâce à une étude consistant en une analyse des résultats RNO des stations des Saintes Maries de la mer (Camargue) et Darse 2 (golfe de Fos). Elle a été conduite en tenant compte de la croissance des populations naturelles des deux sites par des mesures mensuelles d'indice de condition sur 3 ans. Nous avons tenté de comprendre grâce à ces données l'effet de l'état physiologique de la moule (très différent selon les saisons où ont été effectuées les analyses) sur les processus de bioaccumulation des contaminants.

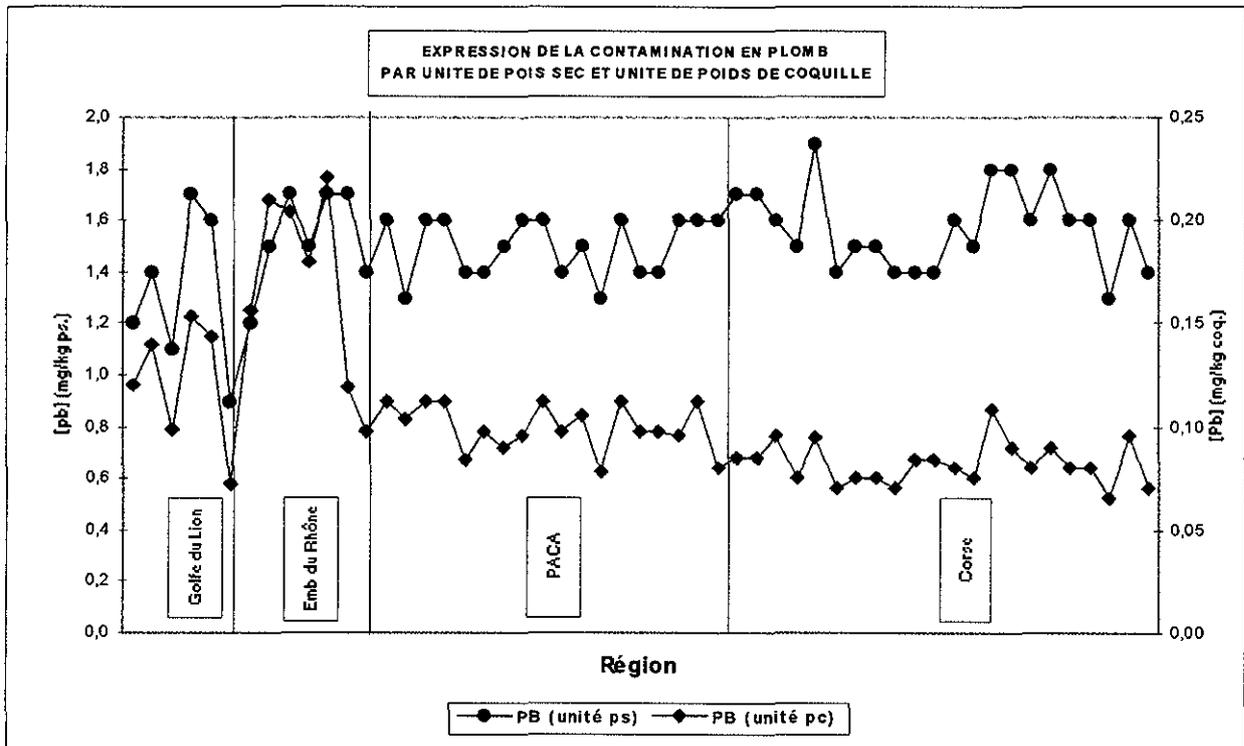


Figure 3. Expérience RINBIO 96. Représentation de la distribution géographique de la contamination par le plomb chez la moule suivant la forme d'expression choisie. En rouge par poids sec de tissu mou, en bleu par poids de coquille.

A ces deux sites, l'indice de condition des échantillons analysés trimestriellement par le RNO entre 1994 et 1996 a pu être estimé grâce à des mesures réalisées par le réseau OPERA de l'IPSN. Ces mesures, destinées au suivi des radioéléments, sont obtenues sur des gisements de moules sauvages situés dans des secteurs éloignés de moins de 200 m des stations RNO et prélevés dans la même semaine.

Une première analyse des résultats met en évidence une corrélation linéaire significative entre presque tous les contaminants métalliques ainsi qu'une corrélation de tous contaminants avec l'indice de condition (Tableau 2). Ces deux types de corrélation suggèrent que les variations saisonnières des contaminants mesurés sont dues essentiellement à des facteurs physiologiques et non à une variation effective de la contamination du milieu.

La forte corrélation entre la l'indice de condition et la concentration d'un contaminant exprimée par unité de chair (ainsi que le type de régression) suggère que les distributions obtenues par cette unité résultent de la dilution engendrée la croissance des tissus. Ce phénomène a pour conséquence de masquer les variations effectives de la contamination du milieu.

En d'autres termes, il semble que le rapport vitesse de bioaccumulation / vitesse de calcification de la coquille soit beaucoup moins variable dans le temps que le rapport vitesse de bioaccumulation / vitesse croissance des tissus. L'expression de la contamination par unité de poids de coquille (ou volume de coquille) permettrait alors de corriger non seulement les différences de cinétique de bioaccumulation engendrées par l'hétérogénéité spatiale de l'activité métabolique de la moule (fonction des paramètres physiques et trophiques du milieu), mais aussi les variations temporelles en un même site.

Cependant, cette déduction n'a été faite que pour quelques contaminants métalliques seulement. Il est nécessaire de compléter ces résultats par une étude plus large tant au niveau du nombre de contaminants que du nombre de sites étudiés. De plus, l'expression de la concentration par unité de coquille, si elle diminue fortement la variabilité des données, ne permet pas d'annuler complètement l'effet de dilution par la croissance pour quelques contaminants (Cd, Zn et Pb au site de Saintes Marie). L'étude complémentaire est aussi nécessaire pour éclaircir ce dernier point (voir recommandations). Quoiqu'il en soit, l'utilisation du modèle proposé permet de réduire de façon très significative la variance expliquée par l'indice de condition.

4. Conclusion

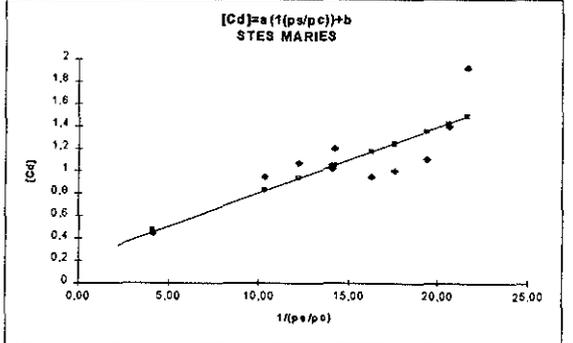
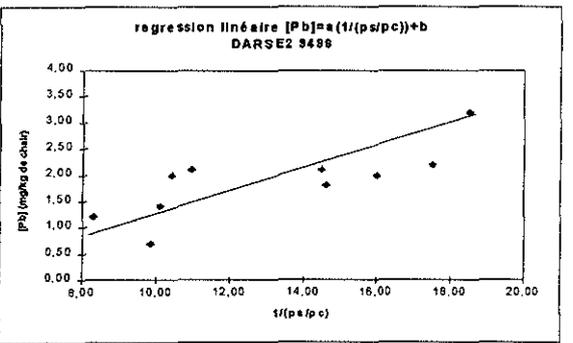
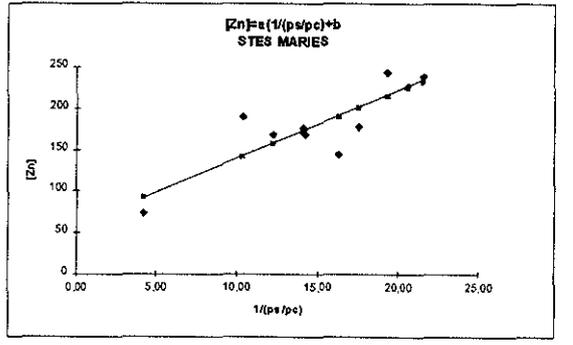
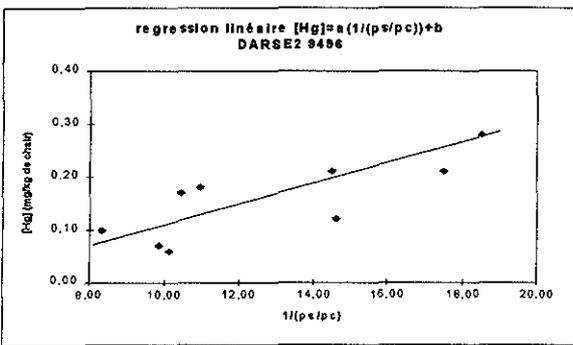
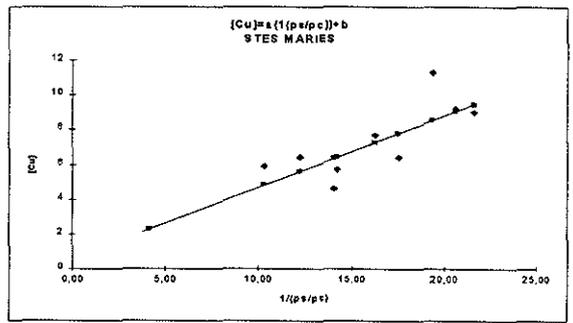
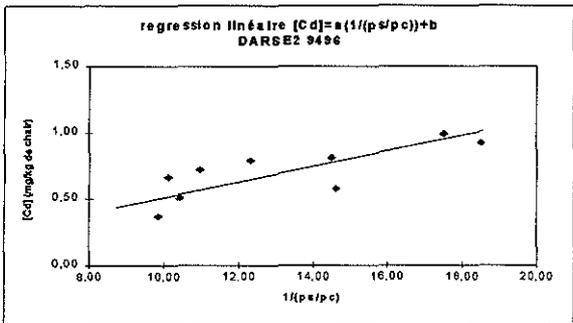
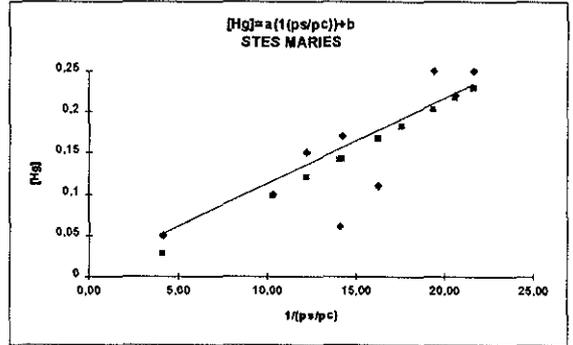
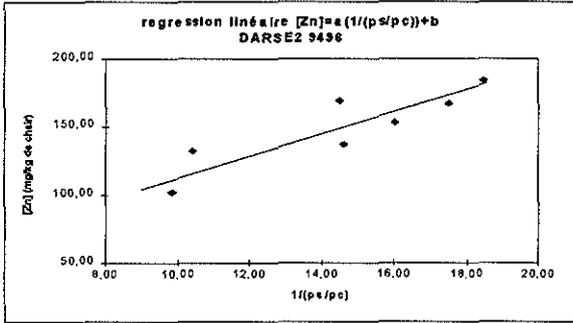
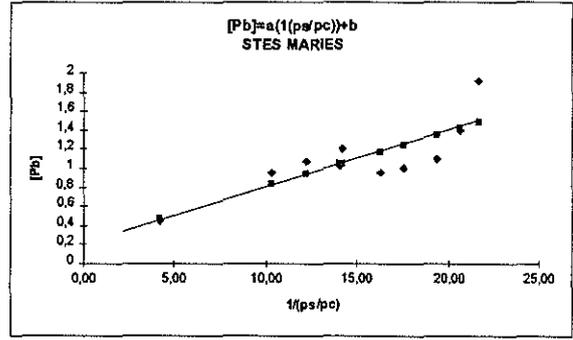
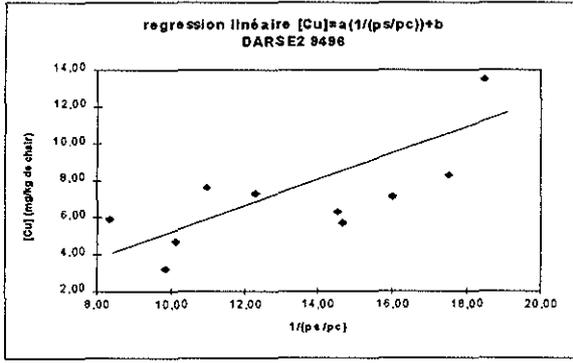
Les concentrations des contaminants exprimées par unité de poids sec dépendent étroitement de la croissance ou de la réduction des tissus mous de la moule. La comparaison spatiale des niveaux de contaminants biodisponibles exprimée par cette unité de masse n'est donc pas pertinente dans le cas de RINBIO-96 du fait de l'hétérogénéité trophique de la façade méditerranéenne française.

L'expression des concentrations par unité de poids de coquille est préférable car elle élimine une grande partie de la variance liée à la croissance des tissus. Elle élimine l'effet de dilution par la constitution du tissu de réserve ou inversement l'effet de concentration par perte de poids. De ce fait l'expression des contaminants bioaccumulés par unité de masse de coquille est donc conseillé pour évaluer les différences de niveaux de contamination de milieu très hétérogène du point de vue trophique comme cela est le cas sur le littoral méditerranéen français. Une étude complémentaire est cependant requise pour tester la validité du modèle proposé à l'ensemble des contaminants et des zones concernées.

5. Références

- Cossa, D. 1989. A Review of the use of *Mytilus* spp. as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanol. Acta*, **12**: 417-432.
- Denis J., Miossec L., Hénocque Y., Console J.J et Angeli J.P. 1994. Qualification du littoral Méditerranée et cartographie en zones homogènes. Rapport d'étude pour l'Agence de l'Eau RMC, IFREMER Toulon.
- Fisher, H. 1983. Shell weight as an independant variable in relation in relation to cadmium balance of molluscs. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **12** : 59-75.
- Phillips, D.J.H. 1980. *Quantitative Aquatic Biological Indicators*. Applied Sci. Publi. London, 488pp.

Remerciements: L'ensemble du laboratoire côtier de Toulon tient à remercier pour leur collaboration : Jean-Pierre Bergeron et Nathalie Schreiber du Laboratoire ECOHAL de Nantes qui ont aidés à la l'interprétation des résultats. Dominique Buestel, Jocelyne Oheix et Jean Michel Chabiran du Laboratoire RA de Palavas qui nous ont aidés à la réalisation et l'interprétation des analyses biochimiques. Monsieur Mathieu du Laboratoire de Biotechnologie Marine de l'Université de Caen qui a réalisé amicalement l'examen histologique des tissus gonadiques des échantillons et aidé à la compréhension des résultats. Jean Marc Deslou-Paoli du Laboratoire DEL de Sète qui nous a aidé à la compréhension biologique des résultats de cette étude.



IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997

Centre de Nantes

Les capteurs passifs de contaminants organiques Les membranes semi-perméables (SPMDs) : une alternative à l'utilisation des bivalves pour la surveillance du milieu

par Alain ABARNOU
DEL/EC

Le recours aux organismes sentinelles pour la surveillance de la qualité des eaux littorales présentent quelques limites. L'accumulation par les organismes de contaminants organiques présents dans la colonne d'eau sous formes dissoutes et particulaires dépend de nombreux facteurs comme par exemple : le sexe, la teneur et la composition en lipides, la disponibilité en nourriture, la vitesse de respiration, la vitesse de filtration, etc.. Pour la surveillance, il nous faut un «outil» fiable qui permette (1) la comparaison des niveaux de contamination entre zones géographiques distinctes et (2) le suivi de l'évolution de ces niveaux. Les caractéristiques des organismes ne sont pas toujours compatibles avec ces objectifs.

Une piste possible est l'utilisation de capteurs physico-chimiques passifs. Ces dernières années, depuis 1990 environ, les membranes semi-perméables ont fait l'objet d'applications pour le suivi des substances organiques dans divers milieux et plus particulièrement l'environnement aquatique.

1. Comment les capteurs chimiques se présentent-ils? Comment fonctionnent-ils ?

Les capteurs à membranes semi-perméables (SPMDs : semi-permeable membrane devices) se présentent comme un tube aplati (ayant la forme d'un ruban) en matériel fin et semi-poreux (polyéthylène) enfermant une huile, l'ensemble monté sur un support permettant son utilisation dans l'eau (Fig.1 & 3).

Les éléments essentiels sont donc :

- la membrane constituée d'un film poreux (10Å) contenant l'huile. Les pores (Fig.2) permettent le passage de molécules relativement petites de la colonne d'eau vers huile et retiennent les molécules plus grandes qui constituent l'huile (triglycérides) ;

- l'huile, contenue dans ce tube (lipides neutres, trioléine), qui a pour fonction d'accumuler les composés comme le feraient les tissus gras des organismes ;

Il s'agit donc plutôt d'un système d'extraction et de concentration (et non pas d'un capteur physique) qui « reproduit » la bio-extraction réalisée par les organismes sentinelles. L'information sur les niveaux de contamination se fait ensuite par analyse chimique des lipides selon des protocoles usuels, après récupération des lipides par dialyse.

La capacité d'un « solvant » à concentrer les substances dissoutes est fonction du coefficient de partage octanol-eau (K_{ow}), grandeur qui caractérise le caractère hydrophobe. Plus les contaminants sont hydrophobes, plus ils auront tendance à « aller » vers la réserve lipidique et à s'y accumuler. A la différence de ce qui se passe dans les organismes il n'y a pas d'état d'équilibre puisqu'il y a toujours accumulation avec ces « accumulateurs passifs ». Dans les organismes l'équilibre résultent de processus d'accumulation et de processus d'élimination. La taille des cavités du film peuvent constituer un obstacle à la migration des substances vers le milieu séquestrant (lipides). Le problème est comparable à ce qui est connu pour les organismes (l'encombrement stérique est un facteur réduisant la bioaccumulation). Les contaminants organiques de l'environnement marin qui sont *biodisponibles* satisfont a priori ces conditions.

Les composés les plus adaptés à l'utilisation de ces capteurs sont hydrophobes et de taille réduite comme les chlorobenzènes, les HAP, les PCB, les dioxines (voir références citées sur les exemples d'utilisation). Ce sont dans l'eau que ces appareils ont été les plus utilisés, mais d'autres applications ont été réalisées (dans l'air, les composts, etc.).

2. Intérêt de ces systèmes

- Ces systèmes sont commercialement disponibles, fabriqués aux US et distribués en Europe (par le Dr. P.A. Berqvist, Université d'Umea, Suède) soit la membrane (environ 500 FF) ou soit l'ensemble en location (environ 1000 FF/mois). Notons qu'avec de tels systèmes la partie analytique au laboratoire est plus rapide puisqu'on dispose alors d'un extrait prêt pour la purification et l'analyse (les étapes préalables de purification des moules, écoquillage, broyage, lyophilisation, extraction n'ont plus lieu).

- Leurs conditions de fonctionnement ont été étudiées en vue d'être optimisées. Cependant, la maîtrise des conditions opératoires ne semble pas immédiate et l'utilisateur doit s'appropriier la technique et identifier ses limites avant utilisation (précision inter-capteurs, effets la température, validation dans des sites distincts, définition du domaine d'utilisation en fonction des conditions du milieu, etc.).

- A priori, ces systèmes permettent la comparaison des niveaux de contamination dans des sites très divers avec une meilleure reproductibilité (pas de variations dues à la biologie, pas de bio-transformation). Ils sont par conséquent utilisables pour la surveillance.

- Ils permettent une approche théorique des processus *in situ* de la bioaccumulation (par exemple en modifiant les quantités et composition de la substance accumulatrice, étude du rôle des lipides dans les processus de bioaccumulation).

- Ils peuvent être utilisés pour les suivis d'impact de pollutions accidentelles en permettant l'accumulation de polluants en quantité suffisante en vue de la réalisation subséquente de tests toxicologique.

3. Avantages et inconvénients de ces capteurs par rapport biomonitoring passif ou actif (« mussel watch » et « caging »).

3.1. Principaux avantages.

- intégrateurs de niveaux de contaminants bio-disponibles,
- donnent une information sur les composés potentiellement bioconcentrés;

- indépendants de facteurs biologiques (intérêt pour des composés biotransformables);
- meilleure reproductibilité donc amélioration de la surveillance (comparaison intersites);
- donnent une information sur l'exposition.

3.1. Limites d'utilisation

- Ils donnent une information sur les composés dissous qui sont les plus biodisponibles. Il ne faut pas attendre le même signal chimique qu'avec les bivalves. la figure 4 présente le signal obtenu dans le cas des PCB avec les capteurs SPMDs et les moules. Le prépondérance dans la chair de moules des composés les plus chlorés et donc plus encombrants et plus hydrophobes s'explique par une contamination des moules par les filtration du matériel particulaire et des contaminants qui lui est associé. Au contraire, dans le cas des membranes à lipides d'une part les composés solubles sont rapidement accumulés et stockés définitivement et d'autre part les composés hydrophobes sont essentiellement présents sous forme particulaire ; ceux qui pourraient être dissous ont leur cheminement vers la substance lipidique accumulatrice réduit du fait de leur encombrement stérique (taille d'environ 10Å).

- Le fouling peut réduire les processus d'échanges de contaminants au niveau du film semi-poreux pendant la phase de déploiement dans la colonne d'eau. Cette période dure une vingtaine de jours ou plus. Des solutions possibles pour réduire le fouling consisteraient à ajouter, dans l'huile ou le support, des substances biocides qui n'interfèrent pas avec les contaminants recherchés. On peut aussi corriger les effets du fouling en ajoutant, au préalable à l'huile, un composé en concentration connue qui ait même comportement que les substances recherchées. La mesure de ce composé dans l'huile après utilisation permet de calculer un facteur correctif dans la mesure où le fouling réduit les échanges de contaminants dans les deux sens.

4. Conclusion.

Compte tenu de leur apparente facilité d'utilisation et des nombreuses applications ces accumulateurs passifs sont susceptibles d'apporter un complément d'information aux programmes de surveillance basée sur l'utilisation d'organismes indigènes ou transplantés. La plupart de ces utilisations concerne des opérations limitées dans l'espace, essentiellement dans des zones à gradients de pollution. L'utilisation dans des zones géographiques très éloignées, comme dans le cas de l'étude RINBIO et a fortiori dans celui du RNO, suppose au préalable une validation de ces outils.

Le point le plus délicat concerne l'utilisation de cette information. Dans l'état des connaissances actuelles, il est difficile de comparer les mesures de contaminants réalisées avec ces membranes semi-perméables avec celles dans les organismes comme les moules. Les deux types d'information ne sont pas comparables : les moules privilégieraient les contaminants associés au matériel particulaire (processus actif) alors que les membranes accumulent les composés dissous. L'objectif est d'obtenir une information sur la qualité du milieu et ses variations spatio-temporelles. Lors des discussions des expériences RINBIO on a bien perçu toutes les difficultés d'interprétation des mesures dans les moules, pour lesquelles pourtant une longue expérience a été accumulée, tant sur leur physiologie que sur leur utilisation dans des programmes de surveillance. Avec de « nouveaux systèmes passifs » toute l'expérience est encore à acquérir.

Sans dénier l'intérêt de nouvelles approches en matière de surveillance il ne paraît pas judicieux de promouvoir une étude pilote sur l'utilisation de ces capteurs, pour les contaminants organiques, dans le cadre de RINBIO.

5. Références

Le serveur consacré aux SPMDs, <http://www.ecrc.cr.usgs.gov>, contient beaucoup d'informations sur les membranes SPMDs, leur utilisation et des développements en cours, le club des utilisateurs, etc.

Ces travaux se sont développés à partir de 1990 (2 références) et le nombre de publications a rapidement augmenté (9 en 1996). Notons aussi, dans l'ensemble de ces références, la part importante représentée par les travaux qui proviennent des « mêmes écoles » représentées par Huckins, Petty, Lebo, Orazio, Prest, Gale, etc.

- 1) Cleveland L., Little E.E., Petty J.D., Johnson B.T., Lebo J. A., Orazio C.E., Dionne J., Crockett A., 1997, - Toxicological and chemical screening of Antarctica sediments : use of whole sediment toxicity tests, Microtox, Mutatox and SPMDs. *Marine Pollution Bulletin* **34(3)** : 194-202.
- 2) Ellis, G.S., Huckins, J.N., Rostad, C.E., Schmitt, C.J., Petty, J.D., and MacCarthy, P., 1995, - Evaluation of lipid-containing Semipermeable Membrane Devices (SPMDs) and gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry for monitoring organochlorine contaminants in the Upper Mississippi River. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14(11)** : 1875-1884.
- 3) Gale, R.W., Huckins, J.N., Petty, J.D., Peterman, P.H., Williams, L.L., Morse, D., Schwartz, T.R., and Tillitt, D.E., 1997, - Comparison of the uptake of dioxin-like compounds by caged Channel Catfish and semipermeable membrane devices in the Saginaw River, Michigan. *Environ. Science and Technology*, **31**, 178-187.
- 4) Herve, S., Prest, H.F., Heinonen, P., Hyötyläinen, T., Koistinen, J., and Paasivirta, J., 1995, - Lipid-filled Semipermeable Membrane Devices and Mussels as samplers of organochlorine compounds in lake water. *Environmental Science and Pollution Research International*, **2(1)** : 24-30.
- 5) Hofelt, C.S. and Shea, D., 1997, - Accumulation of organochlorine pesticides and PCBs by semi-permeable membrane devices and *Mytilus edulis* in New Bedford Harbor. *Environmental Science and Technology*, **31**, 154-159.
- 6) Huckins, J.N., Tubergen, M.W., and Manuweera, G.K., 1990, - Semipermeable membrane devices containing model lipid: a new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential. *Chemosphere*, **20(5)** : 533-552.
- 7) Huckins, J.N., Manuweera, G.K., Petty, J.D., Mackay, D., and Lebo, J.A., 1993, - Lipid-containing semipermeable membrane devices for monitoring organic contaminants in water. *Environmental Science Technology*, **27(12)** : 2489-2496.
- 8) Huckins, J.N., Petty, J.D., Lebo, J.A., Orazio, C.E., Prest, H.F., Tillitt, D.E., Ellis, G.S., Johnson, B.T., and Manuweera, G.K., 1996, - Semipermeable Membrane Devices (SPMDs) for the Concentration and Assessment of Bioavailable Organic contaminants in Aquatic Environments. in *Techniques in Aquatic Toxicology*. Ed. G. Ostrander. CRC-Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- 9) Huckins, J.N., Petty, J.D., Lebo, J.A., Orazio, C.E., Prest H.F. 1997; - Comment on : Accumulation of organochlorine pesticides and PCBs by semipermeable membrane devices and *Mytilus edulis* in New Bedford Harbor. *Environ. Science Technology* **31(12)** : 3732-3733.
- 10) Huckins, J.N., Petty, J.D., Lebo, J.A., Orazio, R.C. Clark, V.L. Gibson 1997; - SPMD technology : a tutorial. Midwest Science Center , U.S. Geological Survey.

- 11) Kolok, A.S., Huckins, J.N., Petty, J.D., and Oris, J.T., 1996, - The role of water ventilation and sediment ingestion in the uptake of benzo[a]pyrene in Gizzard Shad (*Dorosoma cepedianum*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15** : 1752-1759.
- 12) Lebo, J.A., Zajicek, J.L., Huckins, J.N., Petty, J.D., and Peterman, P.H., 1992, - Use of Semipermeable Membrane Devices for in situ monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic environments. *Chemosphere*, **25(5)** : 697-718.
- 13) Moring, J.B., 1996, - Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban streams as assessed using semipermeable membrane devices, Dallas-Forth Worth Metropolitan Area, Texas, U.S.Geological Survey, FS-081-96, 2 p.
- 14) Petty, J.D., Huckins, J.N., and Zajicek, J.L., 1993, - Application of semipermeable membrane devices as passive air samplers. *Chemosphere*, **27(9)** : 1609-1624.
- 15) Petty, J.D., Huckins, J.N., Orazio, C.E., Lebo, J.A., Poulton, B.C., Gale, R.W., Charbouneau, C.S., and Kaiser, E.M., 1995, - Determination of bioavailable organochlorine pesticide residues in the lower Missouri River. *Environmental Science and Technology*, **29(10)** : 2561-2566.
- 16) Petty, J.D., Huckins, J.N., Martin, D.B., and Adornato, T.G., 1995, - Use of semipermeable membrane devices (spmds) to determine bioavailable organochlorine pesticide residues in streams receiving irrigation drainwater. *Chemosphere*. **30(10)** : 1891-1903.
- 17) Prest, H.F., Jarman, W.M., Burns, S.A., Weismuller, T., Martin, M., and Huckins, J. N., 1992, - Passive water sampling via semipermeable membrane devices (SPMDs) in concert with bivalves in the Sacramento/San Joaquin River Delta. *Chemosphere*, **25(12)** : 1811-1823.
- 18) Prest, H.F., Richardson, B., Jacobson, L.A., Vedder, J., and Martin, M., 1995, - Monitoring organochlorines with semipermeable membrane devices and mussels (*Mytilus edulis*) in Corio Bay, Victoria, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, **30(8)** : 543-554.
- 19) Prest, H.F., Huckins, J.N., Petty, J.D., Herve, S., Paasivirta, J., and Heinonen, P., 1995, - A survey of recent results in passive sampling of water and air by semipermeable membrane devices. *Marine Pollution Bulletin*, **31(4-12)** : 306-312
- 20) Strandberg B., Wagman N., Berqvist P- A, Haglund P., Rappe C., 1997, - Semipermeable membrane devices as passive samplers to determine organochlorine pollutants in compost. *Environmental Science and Technology*, **31(10)** : 2960-2965.

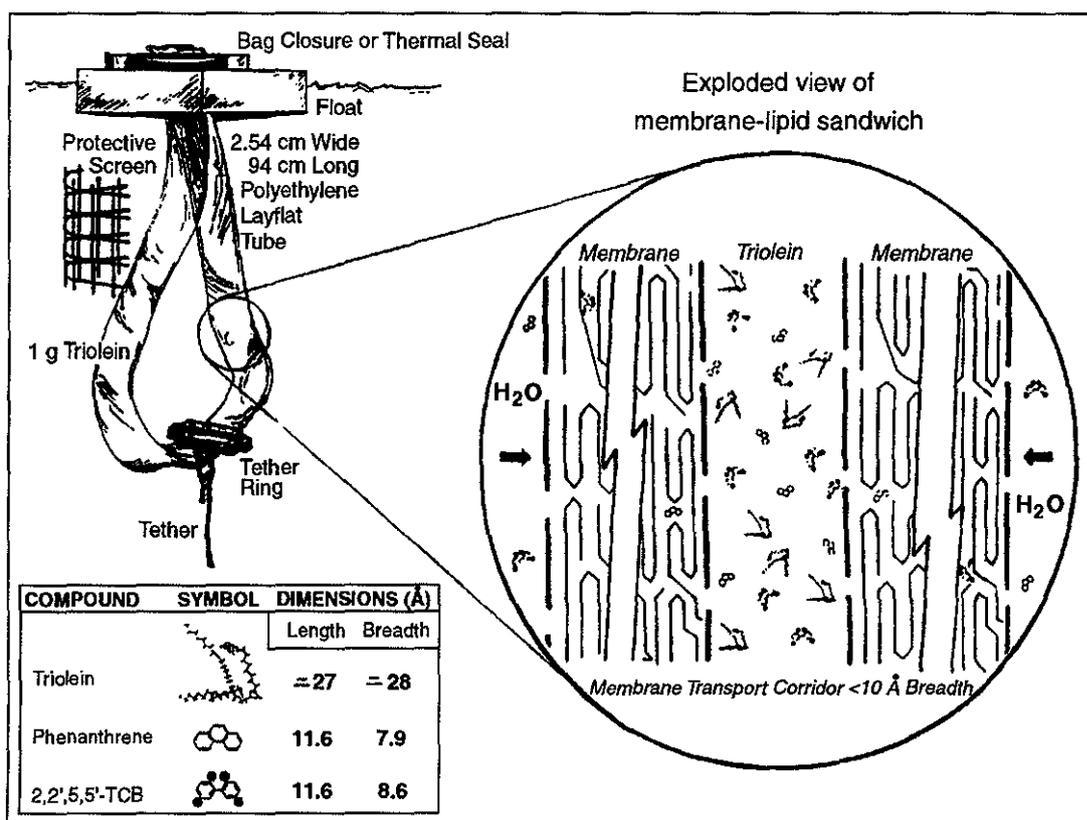


Figure 1. Déploiement des membranes semi-perméables à lipides et vue détaillée et coupe du tube en film de poly-éthylène (Tiré de Huckins et al. ; Ref. 7).

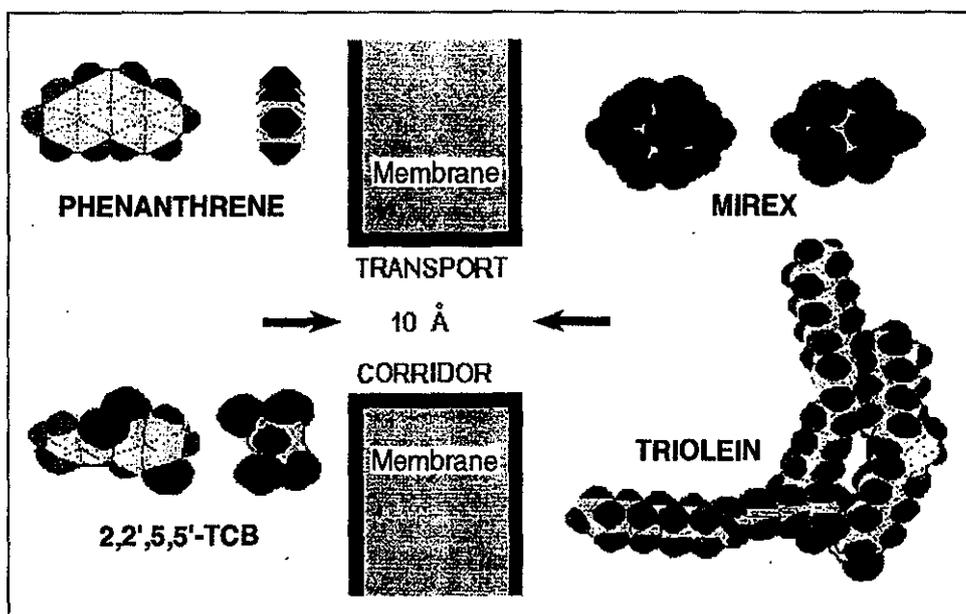


Figure 2. Schéma des échanges des substances au niveau des pores : effet de la taille (tiré de Huckins et al.; Ref. 10).

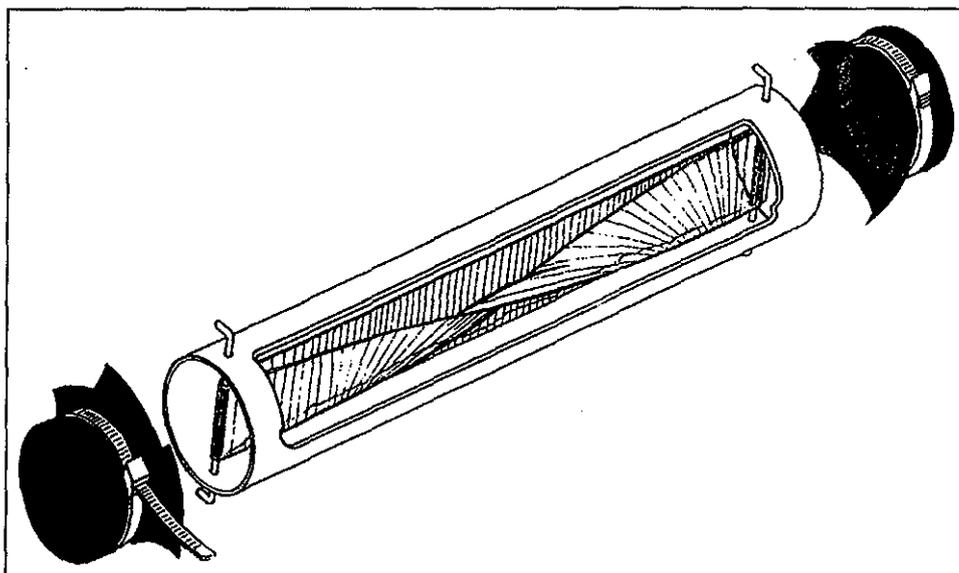


Figure 3. Adaptation des membranes semi-perméables dans son système de protection (Tiré de Lebo et al.; Ref. 12).

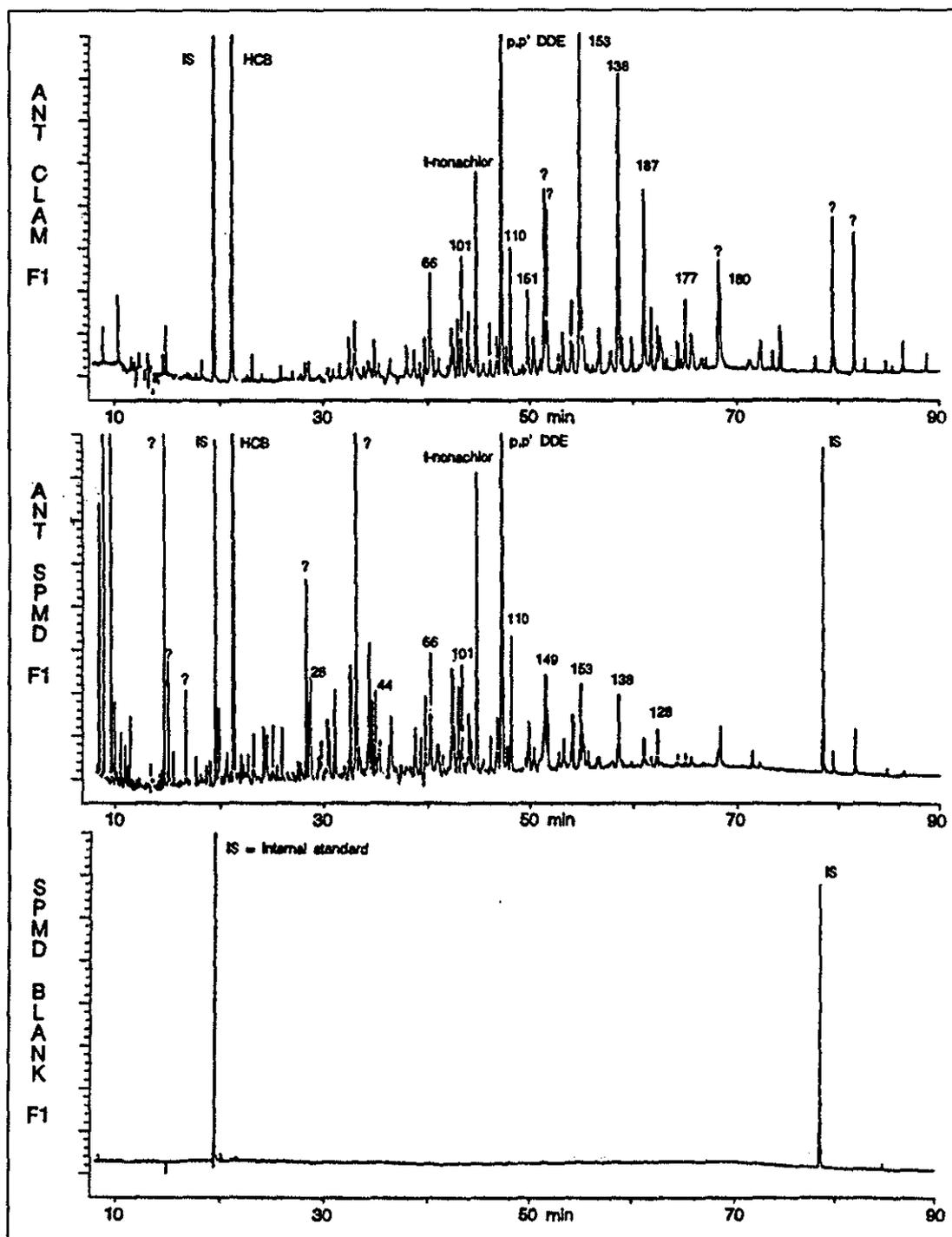


Figure 4. Comparaison des empreintes de PCB et des composés organochlorés peu polaires dans les clams, les membranes et le blanc analytique (tiré de Prest et al. ; Ref.17).

IFREMER
DEL / DRV
Groupe de travail RINBIO

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997

Centre de Nantes

Les capteurs passifs de contaminants inorganiques : les gels en couche mince

par Daniel COSSA
DEL/PC

Des capteurs chimiques pour la mesure des éléments traces en milieu aquatique ont été développés ces dernières années (Davison et Zhang, 1994). Leur applicabilité au suivi de la contamination chimique littorale a été suggérée, en particulier comme alternative ou complément à l'utilisation des indicateurs biologiques quantitatifs (Zhang et Davison, 1995). Que peut-on en attendre à court et plus long terme ?

1. Principe

Des mesures précises d'espèces chimiques métalliques en trace dans les eaux naturelles sont délicates en raison en particulier des problèmes de contamination des échantillons au cours de leur prélèvement. C'est pourquoi des techniques de préconcentration *in situ* ont été développées. La technique présentée initialement par Davison et Zhang (1994) met en œuvre une résine échangeuse d'ion isolée de la solution à analyser par un gel perméable aux ions (Figure 1). C'est donc une technique qui *a priori* ne permet que le dosage des espèces métalliques dissoutes ionisées.

2. Théorie

Le gel utilisé est un gel de polyacrylamide qui recouvre une mince couche de gel (100-150 μm) contenant une résine cationique de type Chelex 100 (Figure 1). Dans la couche de résine la concentration du métal en solution est égale à zéro en raison de la capacité complexante de la résine. La concentration de la solution à l'extérieur du gel est celle qu'il convient de mesurer, C_b . Le gel est séparé de la solution par une couche limite diffusive (DBL) d'épaisseur Δr où le transport ne résulte que de la diffusion. Pour être transporté de la solution jusqu'à la résine les ions doivent diffuser au travers de la DBL et ensuite au travers du gel d'épaisseur Δg . Les ions les plus petits peuvent diffuser au travers des pores dont le diamètre moyen est de l'ordre de 5nm avec un coefficient de diffusion (D) équivalent à celui de l'eau. Si l'épaisseur de la couche de diffusion est suffisante (1 mm dans la pratique) le flux de métal est indépendant de l'hydrodynamique de la solution. Ainsi, le flux de métal

peut être calculé d'après la loi de Fick, $F = D C_b / \Delta g$. La masse de métal fixé (M) par unité de surface de résine et unité de temps (t) est de $M = F t$, et la concentration dans la résine $C_r = M / \Delta r$. La mesure de C_r est possible par les méthodes traditionnelles (spectrométrie d'absorption atomique, polarographie, etc.). Tant que la résine n'est pas saturée et au bout du temps t la concentration de la solution sera égale à :

$$C_b = C_r \Delta g \Delta r / D t$$

3. Pratique

La résine, incluse dans un gel de polyacrylamide, adhère sur une feuille de matière plastique et est recouverte de la couche diffusante de gel. Le gel peut être protégé de la solution à doser par une membrane de polycarbonate de porosité arbitraire (le plus souvent 0,4 μm) (Figure 2).

La quantité d'espèces chimiques transportée à travers le gel par unité de temps est contrôlée par la diffusion. L'obtention de résultats quantitatifs sur les concentrations des ions en solution est réalisée après une période relativement courte, d'une journée à quelques semaines. La méthode est en principe applicable à n'importe quelle espèce chimique chargée susceptible de diffuser à travers le gel et se fixer sur la résine.

Cette technique a été d'abord validée pour le zinc (Davison et Zhang, 1994). Les travaux subséquents ont montré sa validité pour le nickel, le cuivre, le cadmium le fer et le manganèse (Zhang et al., 1995). Pour un déploiement d'un jour le facteur de concentration atteint est d'environ 300, ce qui permet de mesurer des concentration *in situ* extrêmement faibles. Aux concentrations métalliques des eaux naturelle, la résine n'est pas saturée avant 2 mois d'exposition. Par ailleurs, la mesure est indépendante du pH dans la gamme de pH rencontrée dans l'eau de mer. L'effet de la température peut être prédit par la correction du coefficient de diffusion.

4. Limites

Les gels en couche mince donnent une information sur les composés dissous qui sont les plus biodisponibles ; ce qui à première vue n'est pas strictement équivalent aux formes biodisponibles pour la moule. Cependant, contrairement à ce qui a été avancé pour les contaminants organiques, il semble que ce soit les formes dissoutes métalliques qui soient préférentiellement accumulées par la moule à l'exemple du cadmium (Borchardt, 1983) comme elles le sont dans les gels.

Les biosalissures ou « fouling » peuvent réduire les processus d'échanges de métaux au niveau de la surface du gel au bout d'un certain temps. Une réduction de la durée de déploiement pour palier cet inconvénient aura pour effet de limiter la période d'intégration des variations de concentration des métaux en solution.

5. Conclusion.

Comme pour les composés organiques, en raison de leur apparente facilité d'utilisation ces accumulateurs passifs sont susceptibles d'apporter un complément d'information, voire même remplacer l'utilisation d'organismes pour suivre la contamination métallique.

Cependant, en raison de la nouveauté de cette technique, on manque d'expérience permettant de comparer les résultats obtenus par les gels et les moules. Dans l'état actuel des connaissances, la prudence s'impose. On ne peut, à court terme promouvoir l'utilisation de ces capteurs pour métaux dans un programme opérationnel comme RINBIO, ce malgré la conviction que l'on peut avoir que cette outil constitue une des techniques de l'avenir tant pour des raisons pratiques que financières.

6. Références

Borchardt, T. 1983. Influence of food quantity on the kinetic of cadmium uptake and loss via food and sea water in *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* **76** : 67-76.

Davison, W. et H. Zhang. 1994. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gel. *Nature, Lon.*, **367** : 546-548.

Zhang, H. et W. Davison. 1995. Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. *Anal. Chim. Acta*, **67** : 3391-3400.

Zhang, H. W. Davison, S. Miller et W. Tych. 1995. In situ high resolution measurements of fluxes of Ni, Cu, Fe, and Mn and concentrations of Zn and Cd in porewaters by DGT. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **59** : 4181-4192.

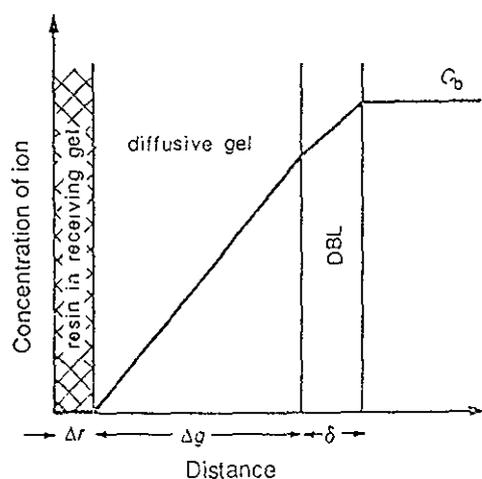


Figure 1. Représentation schématique de la concentration en ions libres dans un gel en contact avec une solution d'eau naturelle ou la concentration est C_b et DBL la couche limite diffusive.

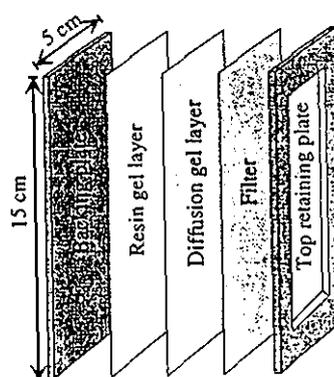


Figure 2. Constitution d'un gel sur couche mince.

Conclusions et recommandations

L'atelier RINBIO a permis de mettre en commun les informations écologiques et physiologiques de la littérature scientifique sur la moule et les expériences acquises à l'IFREMER en mytiliculture et en molysmologie dans le cadre du RNO et du RINBIO. L'alternative au biomonitorage que représente l'utilisation des capteurs chimiques n'a pas été retenue en raison de problèmes non encore résolus dans leur mise en œuvre, tels les biosalissures, et en raison aussi du manque de validation de cet outil.

Le biomonitorage utilisant la moule repose sur le constat ou l'hypothèse que le contenu en contaminant chez cet animal reflète la concentration en contaminants biodisponibles dans l'eau sous formes particulaire et/ou dissoute, selon un processus de bioaccumulation. Les techniques dites des bioindicateurs-quantitatifs utilisent cette propriété pour suivre la contamination chimique du milieu. Les stratégies développées sont de deux types. Celles qui utilisent les populations indigènes de moules sauvages ou cultivées (biomonitorage passif, cas du RNO) et celles qui ont recouru aux transplants d'individus provenant d'un site de référence (biomonitorage actif, cas du RINBIO). Cependant, la bioaccumulation constitue un phénomène complexe qui fait intervenir des facteurs biotiques et abiotiques. Pour des raisons physiologiques et cinétiques, on ne peut en aucun cas comparer directement entre eux les résultats obtenus par ces deux méthodes. C'est la première conclusion forte de l'atelier.

Les stratégies de surveillance, incluant le traitement des résultats, doivent s'efforcer de minimiser l'influence des facteurs biotiques sur la bioaccumulation des contaminants. L'hétérogénéité trophique des zones à étudier dans le cadre du RINBIO, constitue un facteur dont l'effet a été mis en évidence et dont il faut s'affranchir. Une manière de le faire consiste à exprimer le contenu en contaminants des tissus mous de la moule par unité de masse de coquille (et non par masse de tissus mous). Ceci revient à privilégier l'hypothèse que l'accumulation est proportionnelle à la surface du corps et non à sa masse. En d'autres termes, ce mode d'expression des résultats permet de s'affranchir de l'effet de «dilution» ou de «concentration» occasionné par la croissance ou la diminution des tissus mous de la moule, autorisant ainsi la comparaison entre secteurs trophiquement hétérogènes. Il est indispensable bien sûr que ce mode d'expression des résultats soit unique pour l'ensemble du programme RINBIO. C'est la deuxième conclusion de l'atelier.

Des considérations écologiques, physiologiques et chimiocinétiques (discutées en détail dans ce rapport) dictent des conditions précises de mise en expérience des transplants. Elles consistent principalement à :

- sélectionner un lot de moules d'une population stable, abondante (pour avoir le même «produit» d'année en année) et non-contaminée (les cinétiques de décontamination étant plus longues que celles de contamination) ;

- ne transplanter que des moules d'une taille homogène ($\pm 10\%$) ayant déjà atteint leur première maturité sexuelle et au moment de leur maximum de réserves. La durée de stabulation de trois (3) mois (ex.: juin - juillet - août) est un compromis entre les contraintes des cinétiques d'accumulation des contaminants et celles d'une relative stabilité des conditions physiologiques de l'animal ;

- ancrer des mouillages conçus pour situer les moules sur dans la colonne d'eau sur des fonds de 15 à 25 m, et pour résister aux conditions marines et au vandalisme, sans pour autant introduire de contamination chimique ;

- déterminer les mortalités éventuelles de moules mises en expérience et leurs caractéristiques biométriques (incluant l'indice de condition) avant et après stabulation.

Ces exigences méthodologiques devraient optimiser l'approche par bioindicateur actif du programme RINBIO. Cependant, à court terme, une question doit être approfondie avant l'implémentation d'une stratégie valide pour tous les contaminants. Le modèle reliant les concentrations en contaminant et l'indice de condition des moules n'a été testé que sur les métaux et en deux sites seulement ; il doit être validé pour les contaminants organiques et dans différents secteurs trophiques. C'est pourquoi une étude complémentaire est nécessaire. Elle devrait comporter 3 stations, représentant les diverses situations trophiques rencontrées au large des côtes méditerranéennes françaises : un site oligotrophe (Rade de Toulon), un mésotrophe (golfe du Lion, les Aresquiers), un eutrophe (un site lagunaire : l'étang de Bages). Y seront suivis pendant 3 mois par prélèvements bimensuels (7 prélèvements), les concentrations en contaminants, l'indice de condition, la salinité, la température, la chlorophylle, la turbidité et le carbone organique particulaire. Cette étude a été chiffrée à 66 KF⁵.

Des études à plus long terme sur le cycle reproductif des moules le long du littoral languedocien permettraient une meilleure évaluation des périodes les plus favorables à la transplantation. Il est surprenant de constater qu'en dépit de l'importance de la conchyliculture sur ce littoral ces connaissances de base ne sont pas disponibles.

⁵ 3 stations de suivi, 6 analyses par station (soit 18 analyses) et 6 interventions en bateau (Aresquiers 2000F la sortie). Une analyse comprend le dosages des contaminants organiques et des métaux = 3000F.

Annexe

Décision DEL / DRV du 24 septembre 1997

Nantes le 24 septembre 1997

DECISION DEL / DRV

OBJET : Groupe de travail RINBIO

Motivations

Un des objectifs que s'est fixé le Réseau Littoral Méditerranéen (RLM) consiste à connaître les niveaux de contamination de l'ensemble de la façade, y compris dans la zone côtière influencée par les apports telluriques. Le RNO, par son volet "matière vivante" utilisant le moule *Mytilus galloprovincialis* comme bioindicateur de la contamination par les métaux et les composés organiques, apporte des informations sur les niveaux et tendances en milieu littoral et lagunaire. Pour obtenir les informations équivalentes dans les zones homogènes définies par le SDAGE deux études pilotes (RINBIO I et RINBIO II) basées sur la transplantation de moules ("caging") en mer ouverte ont été réalisées en 1995 et 1996, avec le concours de l'Agence de l'Eau RMC.

Les résultats acquis au cours de ces deux campagnes posent un certain nombre de problèmes quand à leur représentativité vis à vis de la contamination ambiante. Ainsi, les stations implantées dans des zones peu propices à la croissance des mollusques, donnent des niveaux de contamination dans les tissus exagérément élevés. Ces valeurs ne peuvent alors être interprétées selon des méthodes classiques et il a été convenu qu'un effort de recherche méthodologique devait être entrepris pour connaître les limites de la méthode des transplants et éventuellement proposer d'autres approches.

En particulier, ces recherches devraient apporter des connaissances sur les processus de bioaccumulation des contaminants chez des moules vivant dans des milieux où les conditions ambiantes sont défavorables. Ceci implique de mobiliser des compétences complémentaires de celles de la DEL, notamment dans le domaine de la physiologie des mollusques (croissance, résistance aux stress) et de l'observation des coquillages dans leur milieu.

En vue de définir le contenu du programme de recherche finalisé qui devrait être mis en oeuvre, la création d'un groupe de travail, composé de chercheurs de la DEL et de la DRV, est décidé.

Mandat du groupe de travail

Le groupe de travail RINBIO est chargé de :

- prendre en considération les difficultés rencontrées dans l'interprétation de certains résultats des campagnes RINBIO,
- passer en revue les données bibliographiques existantes sur les opérations de "caging",

– proposer les actions de recherche, y compris moyens coûts estimés et échéancier, pour obtenir les connaissances de bases indispensables à l'élargissement de la surveillance aux zones homogènes, en utilisant les moules, ou à défaut d'autres espèces de mollusques, ou encore toutes autres techniques pouvant servir d'indicateur quantitatif de la contamination.

Le GT remettra son rapport pour le 15 mars 1998.

Composition :

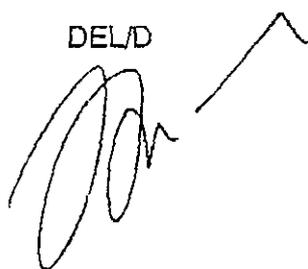
DRV : Bougrier, Buestel, Hatt, Gouletquer

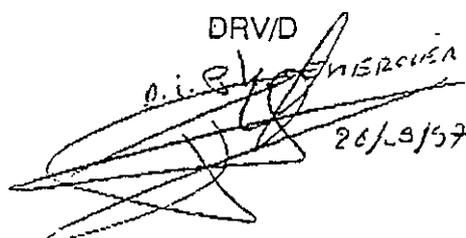
DEL : Andral, Claisse, Cossa, Stanisière, Abarnou

Claire Le Baut se joindra au groupe pour la partie écophysiologie de la moule qui intéresse DEL/MP au titre de ses travaux sur l'épuration des biotoxines.

Animation

D. Cossa

DEL/D


DRV/D
D. i. R. ENERGENA

26/3/97

Annexe

ATELIER - RINBIO

19 et 20 janvier 1997

Centre de Nantes

Ordre du jour

Lundi 19 janvier 98

Matin :

- 09 :30 Présentation du mandat du groupe de travail et des objectifs de l'atelier.
- 10 :00 « La Bioaccumulation des contaminants chimiques chez la moule : processus physiologiques impliqués » par Daniel Cossa.
- 10 :30 « Les indices de stress physiologiques chez la moules » par Serge Bougrier.
- 11 :00 « Variation saisonnières des teneurs en contaminants dans les coquillages du RNO » par Didier Claisse.
- 11 :30 « La croissance des moules dans les eaux méditerranéennes » par Dominique Buestel.

Après-midi :

- 14 :00 « Les expériences de transplantations de bivalves- bioindicateurs de contamination » par Bruno Andral.
- 14 :30 « L'expérience RINBIO » par Bruno Andral et Jean-Yves Stanisière.
- 15 :30 Discussion sur l'expérience RINBIO : destruction et reconstruction.

Mardi 20 janvier 98

Matin :

- 09 :00 « Les pistes de solutions biologiques » par Jean-Yves Stanisière.
- 10 :00 « Les pistes de solutions chimiques : capteurs passifs » par Alain Abarnou et Daniel Cossa.
- 11 :00 Synthèse de l'atelier : « Limites de la méthode des transplants et approches alternatives ». Définition des étapes futures pour un document à finaliser pour le 15 mars 98.

Annexe**Participants à l'atelier RINBIO****ABARNOU Alain**

PDG-DEL-EC-EB

IFREMER

BREST

Tél : 02 98 22 43 57

Fax : 02 98 22 45 48

E-mail : Alain.Abarnou@ifremer.fr

ANDRAL Bruno

PDG-DEL-TL

IFREMER

TOULON

Tél : 04 94 30 48 02

Fax : 04 94 06 55 29

E-mail : Bruno.Andral@ifremer.fr

BOUGRIER Serge

DRV-RA-CREMA

IFREMER

LA ROCHELLE

Tél : 05 46 50 06 25

Fax : 05 46 50 06 00

E-mail : Serge.Bougrier@ifremer.fr

BUESTEL Dominique

PDG-DRV-RA-LPALAVAS

IFREMER

PALAVAS

Tél : 04 67 50 41 01

Fax : 04 67 68 28 85

E-mail : Dominique.Buestel@ifremer.fr

CLAISSE Didier

PDG-DEL-PC

IFREMER

NANTES

Tél : 02 40 37 41 82

Fax : 02 40 37 40 75

E-mail : Didier.Claisse@ifremer.fr

COSSA Daniel

PDG-DEL-PC

IFREMER

NANTES

Tél : 02 40 37 41 76

Fax : 02 40 37 40 75

E-mail : Daniel.Cossa@ifremer.fr

HATT Philippe-Jacques

responsable

PDG-DRV-RA-PI

GIE-RA ; BREST

Tél : 01 44 32 36 29

Fax : 01 44 32 39 10

E-mail : Philippe.Jacques.Hatt@ifremer.fr

STANISIERE Jean-Yves

PDG-DEL-TL

IFREMER

TOULON

Tél : 04 94 30 48 37

Fax : 04 94 30 55 29

E-mail : Jean.Yves.Stanisiere@ifremer.fr