

**DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT
ET DES RECHERCHES OCEANIQUES**

COMPTE-RENDU DE REUNION DES 21 ET 22 JANVIER 1986

BILAN 1984-1985 DES ETUDES

"EAUX COLOREES"

par **G.ARZUL**



IFREMER - Centre de BREST SDP
BP. 337 - 29273 BREST CEDEX
Tél. 98.45.80.55 - Télex 940627 F

DERO - 86.06 - EL-M R

IFREMER
 Centre de BREST
 S.D.P.
 B.P. 337
 29273 BREST CEDEX
 Tél. : 98.45.80.55
 Téléx 940 627

DIRECTION ENVIRONNEMENT
 ET RECHERCHES OCEANIQUES

DEPARTEMENT ENVIRONNEMENT LITTORAL

AUTEUR(S) :		CODE :
Geneviève ARZUL		N° <u>DERO/86.06/EL/MR</u>
TITRE		Date : 24 mars 1986
Compte-rendu de réunion des 21 et 22 janvier 1986 :		Tirage nb : 26
Bilan 1984 - 1985 des études "eaux colorées".		Nb pages : 64
		Nb figures : 23
		Nb photos : 0
CONTRAT (intitulé)		DIFFUSION
N° _____		Libre <input type="checkbox"/>
		Restreinte <input checked="" type="checkbox"/>
		Confidentielle <input type="checkbox"/>
<u>RESUME</u>		
Les études entreprises sur le thème "Eaux colorées" durant les années 1984-1985 ont montré des résultats divers :		
<ul style="list-style-type: none"> - les essais de cultures de <i>Dinophysis acuminata</i> et de <i>Gyrodinium aureolum</i> ont donné des résultats fragmentaires tout en permettant de dégager quelques points positifs, mais les essais de mise en culture n'ont pas encore abouti. - les études hydrologiques à long terme pour la surveillance d'apparition de <i>Gyrodinium aureolum</i> en Baie de Douarnenez, <i>Dinophysis acuminata</i> dans un bassin du Havre et en Baie de Vilaine sont en voie d'achèvement. Y sont adjointes les observations faites sur les échantillons prélevés à Plogoff et Ploumoguer en 1978-80. 		
<u>ABSTRACT</u>		
<ul style="list-style-type: none"> - l'extraction des toxines de <i>Gyrodinium aureolum</i>, la standardisation du test souris pour le DSP, l'analyse de l'acide okadaïque et les tests PSP sur les cultures de <i>Prorocentrum minimum</i> ont donné quelques résultats positifs. - l'essai de détermination du rôle des sédiments sur la maturation des kystes de dinoflagellés a montré l'influence possible du cuivre, ou d'un composé dont le cuivre serait le traceur. 		
Mots-clés :	Eaux colorées. <i>Dinophysis acuminata</i> . <i>Gyrodinium aureolum</i> . Phyto-toxines. Sédiments.	
Key words :		



Ifremer Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer

COMPTE-RENDU DE REUNION DES 21 ET 22 JANVIER 1986

OBJET :

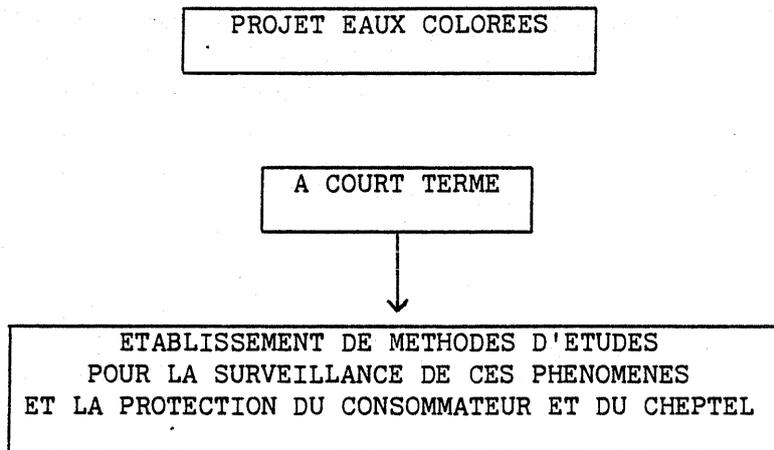
BILAN 1984-1985 DES ETUDES ENTREPRISES DANS LE CADRE DU PROJET
"EAUX COLOREES"

Etaient présents : J.L. MAUVAIS
M. BARDOUIL
M.P. CRASSOUS
E. ERARD
P. GENTIEN
P. LASSUS
C. LE BAUD
P. LE HIR
M. MERCERON
G. de NADAILLAC
F. QUINIOU
M. RYCKAERT
A. YOUENOU
G. ARZUL

TABLE DES MATIERES

- Rappel de P. LASSUS sur le projet "eaux colorées".....	1
- Résultats des essais entrepris par Paris VII pour mettre en culture <u>Dinophysis acuminata</u> . Présentation de P. LASSUS.....	3
- Résultats des essais de culture de <u>Gyrodinium aureolum</u> par E. ERARD	6
- Résultats concernant <u>Gyrodinium aureolum</u> à Plogoff-Ploumoguer, par M. RYCKAERT.....	15
- <u>Gyrodinium aureolum</u> , par C. LE BAUT.....	16
- Standardisation du test souris pour le DSP, par C. LE BAUT.....	16
- Purification et préparation à l'analyse de la toxine responsable du DSP, par C. LE BAUT.....	26
- Test PSP sur cultures de <u>Protogonyaulax tamarensis</u> , par M. BARDOUIL	31
- Résultats concernant <u>Gyrodinium aureolum</u> en Baie de Douarnenez, présentés par M. RYCKAERT.....	36
- Résultats de la surveillance phytoplanctonique dans un bassin portuaire du Havre, par M. RYCKAERT.....	38
- Distribution de <u>Dinophysis</u> en Baie de Vilaine pendant l'été 1985, par P. LASSUS.....	46
- Rôle des sédiments dans la maturation des kystes de dinoflagellés, par G. ARZUL.....	56

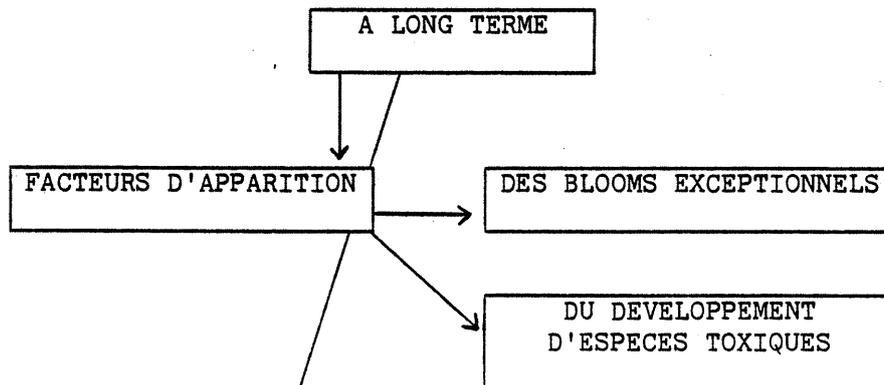
RAPPEL DE P. LASSUS SUR LE PROJET "EAUX COLOREES".



Utilisateurs : CSRU, Professionnels, Pouvoirs publics.

Thèmes de recherche :

- Niveaux de prélèvements, fréquence.
- Techniques microscopiques, cytofluorimétrie.
- Tests toxicologiques, seuils toxiques.
- Effets sublétaux sur les mollusques.
- Cinétique de décontamination.
- Analyse chimique des toxines.



Thèmes de recherche :

- Paramètres hydrologiques.
- Facteurs de croissance (eau, sédiments).
- Cycle biologique des organismes.
- Mécanismes d'action des toxines sur les organismes.

MOYENS D'INTERVENTION

- Aménagements côtiers.
- Agents "mouillants".
- Traitement des fonds.

Commentaires :

But des travaux à long terme :

1. déterminer les mécanismes et facteurs de blooms exceptionnels (Gyrodinium aureolum), ou les cas d'apparition d'espèces toxiques, par l'hydrologie.
2. déterminer un facteur de croissance des eaux colorées dans les extraits de sédiments.

Intérêt de ces deux axes de recherche : détecter une relation entre l'eutrophisation des côtes ou un phénomène de pollution, et l'apparition des eaux colorées.

3. connaître le cycle biologique des organismes en relation avec les mécanismes d'action des toxines.

- l'absence de kystes en formation.
- la présence quasi inévitable d'autres espèces phytoplanctoniques voire zooplanctoniques dans certains cas.
- la dégénérescence rapide des cellules, leur difficulté à supporter une centrifugation, même faible, leur mauvaise compétitivité par rapport à d'autres espèces.
- un mauvais rendement du tri cellulaire ne dépassant pas 20 cellules à l'heure.

De ce fait, une stratégie applicable en 1986 a été proposée par Mme PUISEUX-DAO dont le laboratoire de Cytophysologie Végétale aurait la charge et à laquelle l'IFREMER pourrait apporter quelques facilités logistiques (prélèvements sur le terrain par exemple). Cette coopération hors contrat reste à définir rapidement, c'est-à-dire avant le printemps 86.

Les traits saillants des essais à entreprendre dans le secteur d'Antifer (plus fortes concentrations en Dinophysis) entre mai et septembre sont les suivants :

- tri à effectuer aussi près que possible du lieu de récolte.
- transport à Paris effectué sur des cellules déjà isolées.
- 2 chercheurs de Paris VII présents sur le lieu de prélèvement avec flacons et milieux stériles.
- présence d'un laboratoire d'accueil équipé de paillasses, microscopes et matériel courant de laboratoire.

Des aménagements sont à l'étude du côté IFREMER, aux niveaux DERO/MR et CSRU afin de faciliter ces opérations, néanmoins un protocole général doit être proposé par Mme PUISEUX-DAO.

Commentaires :

A partir des études effectuées par le laboratoire de Madame PUISEUX-DAO, on peut retenir que les meilleurs résultats ont été obtenus en eau de mer + MPP. Les milieux riches ne conviennent pas car trop favorables aux bactéries, et les Dinoflagellés isolés présentent une forte fragilité cellulaire.

Les observations microscopiques de Dinophysis acuminata du Havre présentent des cellules plus grosses que celles provenant de la baie de Vilaine, avec des vacuoles et des chromatophores dilatés (figure 1 ci-dessous).

En résumé les résultats sont fragmentaires et le plus souvent négatifs. Compte tenu de l'importance de la mise en culture de D. acuminata pour les futurs programmes de recherche il convient de ne pas rester sur ces premiers échecs et de formaliser le protocole d'accord entre le LCVTC, le LM du Havre et le laboratoire EBN en ce qui concerne les essais d'isolement à partir du site d'Antifer pendant l'été 86.

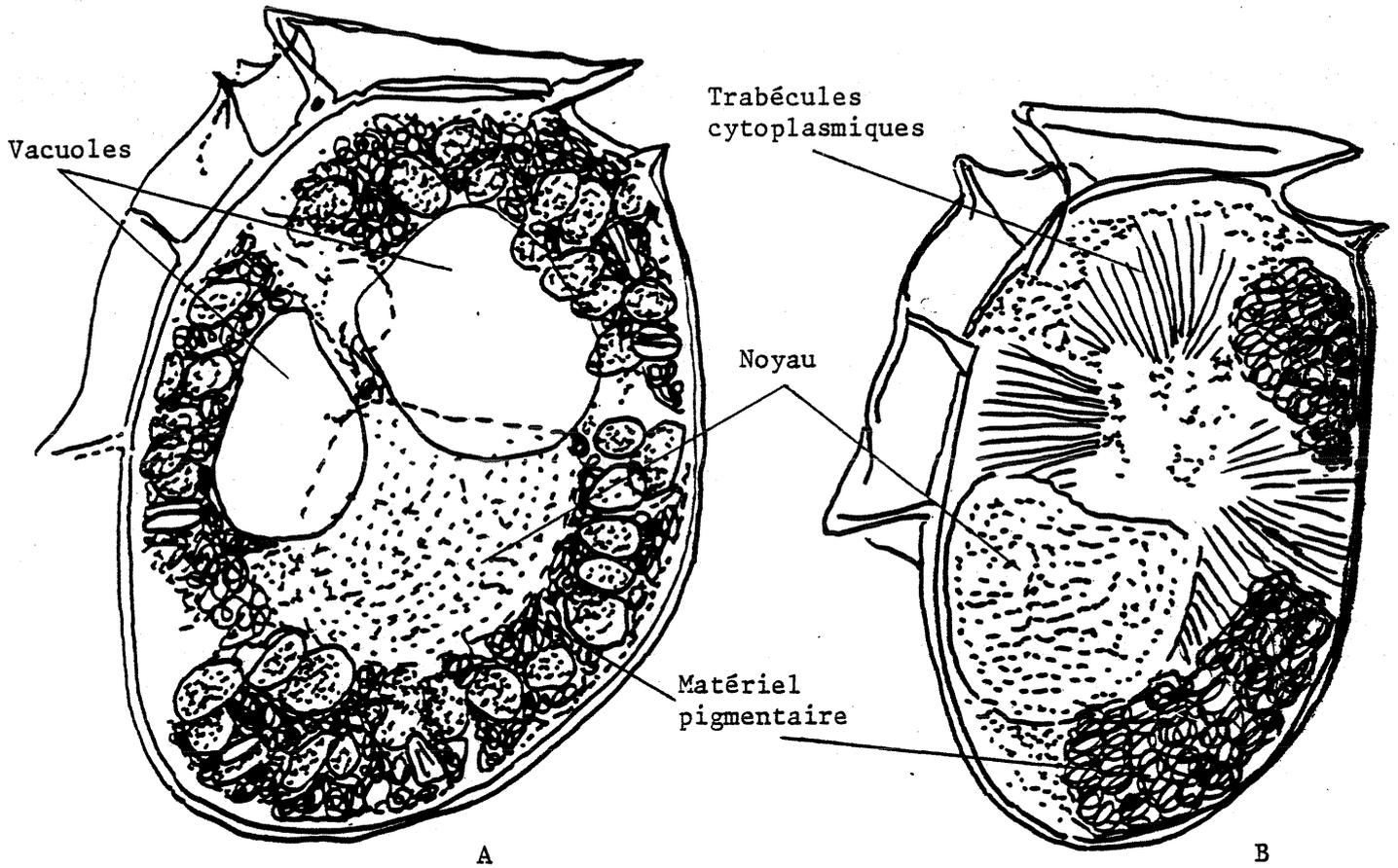


Figure 1 : D'après microphotographies de Dinophysis vivants.
A : exemplaire du Havre.
B : exemplaire de Baie de Vilaine.

RESULTATS DES ESSAIS DE CULTURE DE GYRODINIUM AUREOLUM, PAR E. ERARD.

L'EPRD 85, en ce qui concerne le projet "Eaux colorées et risques d'intoxication" prévoyait l'étude des biotoxines marines, entre autre de l'ichthyotoxine de Gyrodinium aureolum.

L'étude de cette toxine nécessite :

- la connaissance de Gyrodinium aureolum (conditions optimales de croissance, culture en masse...).
- la recherche des conditions au cours desquelles l'algue devient toxique (variations des facteurs du milieu).

En 85, l'étude sur la connaissance de Gyrodinium aureolum s'est déroulée en différentes étapes :

- par la recherche de la souche.
- par les essais d'isolation de l'espèce lors de ses proliférations estivales.
- par sa mise en culture.

I. RECHERCHE DE LA SOUCHE.

A partir de la bibliographie dépouillée sur Gyrodinium aureolum, des demandes de souche ont été établies auprès de différents laboratoires:

- en Angleterre :
 - * en Ecosse : Dr ROBERT, Dr TURNER : plus de souche.
 - * à Plymouth : Dr GREEN : envoi d'un échantillon.
- en Espagne : Dr BLANCO : pas de souche.
- en Irlande : Dr PARKER, Dr GRIFFITH, Dr DOYLE : envoi de deux échantillons lugolés.
- en Norvège : Dr TANGEN : voir Dr GREEN.

II. ISOLATION DE L'ESPECE LORS DE SES PROLIFERATIONS ESTIVALES.

- Dans les eaux de la baie de Douarnenez.
- Dans les bacs d'aquaculture du COB au Tinduff.

1. Dans les eaux de la baie de Douarnenez : plage de Kervel, après une alerte du CSRU le 16.07.85, les échantillons prélevés contenaient plus de 99 % de Gyrodinium aureolum en division (400 000 cellules/l).

Les cellules très mobiles ont été isolées le 17.07 sous microscope inversé à la pipette pasteur effilée, puis transférées dans quatre bains successifs d'eau de mer stérile pour élimination progressive des autres organismes prélevés. On a observé une perte de 40 à 50 % de cellules vivantes à chaque transfert.

2. Dans les bacs d'aquaculture du Tinduff : ces bacs permettent l'élevage des post-larves de coquilles St-Jacques de 250 μ à 3 mm. Ces bacs sont alimentés en eau filtrée à 50 μ .

Le 17 juin 85, A. GERARD (Comité Local des Pêches du Tinduff) notait un bloom de diatomées et quelques Gyrodinium aureolum dans les bacs. En même temps, D. BUESTEL (DRV/Pêche) constatait des perturbations dans la croissance des coquilles St-Jacques (de 3 à 30 mm) au port de Ste Anne. A partir du 13 juillet, dans les nurseries du Tinduff, les larves de 250 μ ne se métamorphosaient plus. Le 23 juillet, les bacs furent envahis par Gyrodinium aureolum. La prolifération des cellules était accompagnée d'un arrêt de croissance anormal puis de la mortalité des coquilles < 2 mm. Les échantillons du Tinduff dont nous disposons le 23 juillet contenaient 6 000 000 de Gyrodinium aureolum/l dans l'eau écrémée des bacs recouverts, et 100 000 cell/l dans l'eau prélevée à l'extérieur.

Ces observations nous ont été communiquées à la suite des proliférations algales du 23.07.85.

Une observation est à noter concernant la physiologie de Gyrodinium aureolum : en fin d'après-midi les cellules qui séjournèrent dans des flacons laissés au repos près d'une source lumineuse (baie vitrée) migraient à la surface.

Les algues du Tinduff étaient en division, les cellules se présentaient donc dans leur phase active de croissance (phase exponentielle).

III. ESSAIS DE MISE EN CULTURE DE GYRODINIUM AUREOLUM : observation et comparaison de l'évolution des populations.

Avec les faibles quantités de matériel dont nous disposons, nous avons essayé de faire varier divers facteurs physico-chimiques :

- la température de 17°-20°.
- la lumière : éclairage artificiel par tubes fluorescents, lumière du jour, intensité lumineuse 30-60 à 130-180 $\mu\text{E/s/m}^2$, temps d'éclairement 12h D/12h L.
- le milieu nutritif :
 - * milieu E.S. Provasoli.
 - * milieu F/2 - Si.
 - * influence de l'eau de mer locale prélevée lors de l'eau colorée.
 - * forme des récipients : erlens, ballons, tubes à essais, flacons pour culture.

Les comptages cellulaires ont été effectués :
- sur cellules Malassez et cellules Nageotte
- par cytofluorimétrie Becton Dickinson.

1. Mise en culture de la souche de Plymouth.

Aucune indication comme provenance, température d'élevage, milieu de culture, n'a été fournie avec la souche. Dans un premier temps (reçu le 1er avril) 2 ml/30 ml furent mis en culture dans un ballon (250 ml) et dans un tube à essais (10 ml) d'eau de mer filtrée enrichie par le milieu Provasoli. Pour éviter tout stress, le reste de l'échantillon a été adapté quelques jours à la température et à la luminosité (130-180 μ E/m²/s - 12h L/12h D) de la salle, puis a été mis en culture dans un ballon de 250 ml avec E.S. Pravasoli.

Avant cette dernière mise en culture nous avons observé quelques cellules qui semblaient "enkystées". Le suivi de l'échantillon n'a donné aucun résultat positif. L'échantillon ne contenait que très peu de cellules (observation confirmée par G.T. BOALCH, comm. personnelle).

2. Mise en culture des cellules isolées à Douarnenez et au Tinduff.

Mise en culture le 24.07. Le tableau 1 résume l'ensemble des essais et les observations réalisées pendant 3-4 semaines.

D'après ces résultats on peut émettre quelques hypothèses sur les facteurs qui interviennent dans le développement algal :

- facteur "milieu nutritif" :
 - . le milieu eau de mer enrichie par le complément Provasoli (stérilisé) donne des résultats négatifs et favorise même la prolifération de flagellés. Les cellules se maintiennent plus longtemps dans des milieux non enrichis. La pression osmotique du milieu de culture peut nuire à cette espèce non protégée.
 - . le milieu eau de mer "locale" (prélevée lors de l'eau colorée) semble contenir une substance qui favorise sinon le développement, le maintien de Gyrodinium aureolum. De plus, elle doit posséder un pouvoir antibactérien (pas de voiles bactériens dans les ballons de culture).
- facteur "lumière" :
dans l'ensemble, les cultures exposées à une lumière faible 30-60 μ E/m²/s (ballons enveloppés dans de la gaze) se maintiennent mieux que celles exposées à 130-180 μ E/m²/s.

3. Mise en culture de la souche Gyrodinium aureolum Hulbert désignée KT₃, du laboratoire de culture de Bigelow.

Cette souche (40 ml), culture clonale de K. TANGEN non axénique fut envoyée avec comme recommandations d'utiliser le milieu F/2 - Si (milieu Guillard) et de placer la culture à une température de 12-20°C. La souche était expédiée avec 40 ml de milieu F/2 - Si stérile.

	mil.	lum.	Dates				
			26.7	29.7	01.8	05.8	09.8
<u>Douarnenez</u>							
EMF ster. + cell. isolées	+	+	CO	0	0		
COB	+	+	CO	0	0		
<u>Tinduff</u>							
EMF ster. + cell. isolées	+	+	0	0	0		
COB	+	-	0	CO	0		
+ cell. non isolées	+	+	0	0	0		* repiquage
	+	+	altéré	0	0		des EMF Tin-
	+	-	0	0	0		duff décongelée
							+ mil.
EMF "locale" non ster.	-	+	P2	PO+"5"	1		
+ cellules non isolées	bac-	-	P3	P5	P6*	4	0+"2"
	+	+	CO	flag	CO	0	0 flag.
	+	-	CO	flag	CO	0	0
	-	+	P4	P2	2+"2"	2	0+"3"
	ext-	-	P11	6	4*	1	flag.
	+	+	C1	flag	0	0	0+"2"
	+	-	0	0	0		Ociliés flag

Tableau 1 : Gyrodinium aureolum comptés sur cellules Malassez/mm³.

mil = milieu Es Provasgli
lum = + 130 - 180 $\mu\text{E m}^2 \text{ S}^{-1}$
- 30 - 60 $\mu\text{E m}^2 \text{ S}^{-1}$
EMF = eau de mer filtrée
C = culture contaminée
P = culture propre
flag= flagellés
"- " = petits Gyrodinium sp.

La souche contenue dans un flacon de culture en plastique a été observée au microscope inversé. Les cellules très mobiles étaient relativement concentrées. Elle présentait également des amas verts comme des amas de cytoplasme. Elle fut mise en culture le 08 novembre et le 19 novembre 85.

Les tableaux suivants 2 et 3 résument les essais et les résultats.

IV. BILAN.

Malgré les essais de tri et de mise en culture de cellules de Gyrodinium aureolum, les résultats s'avèrent négatifs quant à l'obtention de maintien de souche et a fortiori de culture en masse.

Néanmoins, un certain nombre de points positifs sont à dégager de cette étude et orientent les travaux à entreprendre en 86. L'ensemble des essais et les observations réalisées ont abouti à une meilleure connaissance du matériel, cet acquis facilitera les recherches futures dès que nous aurons obtenu de nouvelles souches, ou de nouvelles proliférations dans le milieu.

Points positifs (cf. conseils d'E. GRANALI).

- température : 15-20°.
- lumière : 30-60 μ E/m² s⁻¹.
- milieu :
 - * Provasoli non approprié.
 - * utiliser le milieu F/2.
 - * influence de l'eau de mer "locale" prélevée lors de l'eau colorée.

A vérifier.

- la composition du milieu F/2 (Bigelow).
- le problème des vitamines autoclavées.
- le facteur salinité (choc osmotique).
- si un apport d'extrait de sol peut influencer la croissance de Gyrodinium aureolum.
- si les recipients en verre n'inhibent pas la croissance.
- si, lors des prélèvements de souche à la pipette, les cellules ne restent pas déposées le long du capillaire (cf. cytofluorimétrie).

Culture de Gyrodinium aureolum (KT3)

Ballons - 08.11.

A	100 ml EMF COB stérile + F/2 Bigelow diluée + 1 ml souche	
B	+ 1	} rajout le 19.11 nitrates phosphates métaux
C	+ 2	
D	+15	

Tubes - 19.11.

3 tubes 10 ml F/2 Bigelow	A + 2 ml souche prélevée à la pipette
	B + 1
	C + 1
5 tubes { 10 ml F/2 Roscoff	D + 2 ml souche
	E + 2
	F + 2
	G + 3
5 ml F/2 Roscoff	H + 5

Flacon de culture de Bigelow F/2 7.5 ml dans 5 ml souche.

13 échantillons placés sous la rampe lumineuse : $30-60 \mu E/m^2/s$, $t^\circ 17-20^\circ$

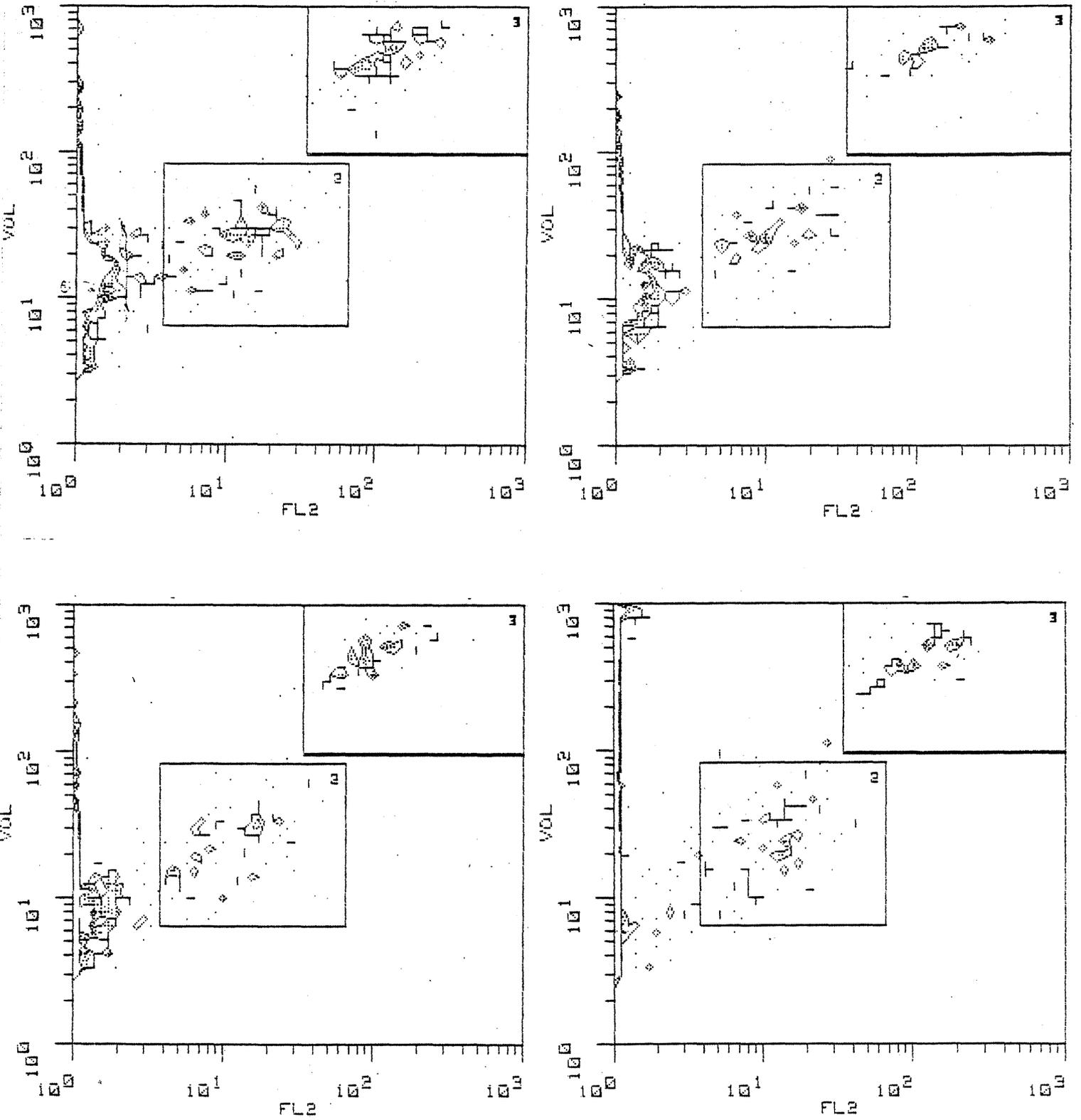
Tableau 2 : Mise en culture.

CULTURE DE GYRODINIUM AUREOLUM (KT₃)

	Observations microscope Cellules Malassez - Cellules Nageotte	Observations cytofluorimètre
18.11.85	Ballons A } B } 0 C } D }	Ballons A → 0 B → 0 C → 12/ml D → 100/ml
12.12.85	Ballons A } B } 0 C } D } Flacon de culture : belles cellules en division, fluorescentes.	Ballons A → 10/ml D → 5/ml
18.12.85	Tubes A } H } 0 Flacon de culture : 4000-5000/ml, cellules de deux tailles.	Tubes A → 0 H → 0 Flacon de culture : 2190/ml 45 % gros 1430 36 Gyr. 3120 42 4050 40
24.12.85	Repiquage flacon de culture. 3 ml souche + 5 ml de milieu → 2 t. F/2 eau Tinduff décongelée. → 2 t. F/2 eau COB.	
07.01.86	Ballons A } Tubes A } B } 0 ↓ } 0 C } D } H }	
	Tubes repiqués le 24.12.85 : - eau Tinduff 1 Gyr. lysé - eau COB 0	

Tableau 3 : Résultats des cultures.

Résultats des observations cytofluorimétriques, sur les cultures de Gyrodinium, mettant en évidence l'existence de 2 classes de tailles de cellules.



(ordonnées : volume ; abscisses : fluorescence).

Diapositives :

- montrant la ressemblance des grains de pollen avec Gyrodinium aureolum.
- mettant en évidence les problèmes en systématique pour distinguer les cellules toxiques des autres.
- montrant les détails de la cellule grâce au contraste interférentiel.
- montrant les différences morphologiques entre cellules vivantes et cellules fixées (lugolées).

Commentaires :

Les observations des cellules prélevées dans l'eau des bacs d'aquaculture à Sainte-Anne du Portzic ont montré une proportion de 10 à 20 % de petites cellules, rigoureusement identiques aux grosses. Le même phénomène s'observe sur Protogonyaulax, où on observe sur une même chaîne une succession de grosses et de petites cellules. Ce peuvent être des formes sexuées, ou des formes de division.

Un problème a été signalé récemment concernant des Palourdes en prégrossissage à Herbignac-en-Terre : retards de croissance, formes en "boulets". D. BAUD (CSRU) a identifié Gyrodinium aureolum, en abondance dans les bassins d'élevage ; la présence de ce dinoflagellé serait permanente sur le site, dans les claires. Il faudrait connaître l'historique de la contamination, et voir s'il est possible de récupérer des échantillons.

D'autre part, il devient urgent de faire un poster sur les problèmes de croissance des pectinidés en relation avec les blooms de Gyrodinium. Les personnes du BAP qui ont été confrontées à ce problème pourraient certainement collaborer efficacement à ce document (photographies, courbes de croissance, etc...).

RESULTATS CONCERNANT G. AUREOLUM A PLOGOFF-PLOUMOGUER, PAR M. RYCKAERT.

Tous les échantillons de Plogoff et Ploumoguier, prélevés en 78-79-80 ont été analysés. Il y en a 448, et dans 212 le Gyrodinium a été observé. Les résultats ont été classés en fonction de leur densité et des températures (cf. page suivante).

RESUME DES OBSERVATIONS SUR Gyrodinium aureolum

PLOUMOGUER 1978 - 56 observations en 8 campagnes

Dates d'apparition : 30 juin au 30 août (dernière campagne de l'année)
Maximum d'abondance : 14 et 30 août (2 à $9 \cdot 10^5$ cell./l)
Température : 13,25 à 16,08°C (14,2 à 16,08°C au maximum)
Salinité : 35,02 à 35,34‰.

PLOGOFF 1978 - 30 observations en 6 campagnes

Dates d'apparition : 28 juillet au 29 août (dernière campagne de l'année)
Maximum d'abondance: 13 août ($4 \cdot 10^4$ à $4 \cdot 10^5$ cell./l)
Température : 13,55 à 17,23°C (13,55 à 15,23 au maximum)
Salinité : 35,09 à 35,28‰.

1979 - 195 observations en 15 campagnes

Dates d'apparition : 12 juin au 14 septembre
Maximum d'abondance: 14 septembre (10^4 à 10^5 cell./l)
Température : 12 à 15,6°C (13,9 à 15,6°C au maximum)
Salinité : 35,00 à 35,43‰ (35,31 à 35,41 au maximum)

1980 - 167 observations en 15 campagnes

Dates d'apparition : 5 mai au 23 juillet
Maximum d'abondance: 23 juillet (jusqu'à $4 \cdot 10^5$ cell./l)
Température : 11,34 à 14,70°C (12 à 14,7°C au maximum)
Salinité : 34,27 à 35,27 (35,10 à 35,23 au maximum)

TEMPERATURE

Abondance température °C	1 à 999	10^3	10^4	10^5 cell./l
10,0 à 10,99	3			
11,0 à 11,99	13			
12,0 à 12,99	26	11	2	
13,0 à 13,99	23	29	8	1
14,0 à 14,99	11	17	28	12
15,0 à 15,99	2	3	5	10
16,0 et +	2	4	1	1

212 échantillons où Gyrodinium aureolum est présent

2ème Partie : PHYTOTOXINES

I. GYRODINIUM AUREOLUM, PAR C. LE BAUT.

Nous avons utilisé le Gyrodinium du Tinduff récupéré sur filtres pour étudier la toxine inconnue. La Faculté de Pharmacie a donné un mode opératoire, comportant des extractions dans l'éthanol et l'eau ; le test a ensuite été fait sur l'épinoche, mais aucune mortalité n'a été observée, d'où pas de toxicité apparente. Il faudra cependant que se fasse l'histologie des branchies, pour détecter une nécrose éventuelle. Ce test n'est peut-être pas assez sensible.

Si la toxine est excrétée, il faut la rechercher dans l'eau ayant contenu des cellules. Mais il ne reste pas assez d'eau filtrée au moment des blooms de Gyrodinium aureolum pour pouvoir la tester et y déceler une éventuelle toxine hydrosoluble.

La toxine recherchée serait probablement liposoluble, les auteurs japonais signalant une extraction dans l'éther à partir de Gyrodinium nagasakiense (peut être la même espèce que de Gyrodinium aureolum).

Les essais seront refaits sur des larves de bars (Nantes) et des embryons de bivalves (Brest).

II. STANDARDISATION DU TEST SOURIS POUR LE DSP, PAR C. LE BAUT.

Actuellement le seul moyen de détecter cette toxine est le test biologique qui est calibré et largement utilisé dans la détection du poison paralytique ou P.S.P. Rappel de la méthodologie : Extraction de la toxine et injection de 1 ml de cet extrait par voie intrapéritonéale à des souris mâles de 20 g. Pour comprendre les difficultés que nous avons rencontrées dans l'application de ce test, nous allons exposer la calibration du test P.S.P.

a) Calibration du test souris pour la recherche du P.S.P.

L'unité souris (U.S.) est définie comme suit : c'est la quantité de toxine qui, injectée par voie intrapéritonéale, tue une souris de 20 g en 15 mn. Le temps de survie est le délai compris entre l'injection et le dernier spasme.

La relation entre temps de survie et unités-souris a été établie par Howitz (1980) (tabl. 4).

Mais les conditions d'exécution étant propres à chaque laboratoire, on introduit un facteur correctif (F.C.) caractérisant du laboratoire. Les résultats étant pondérés par le FC, ils deviennent comparables d'un laboratoire à un autre. L'établissement du FC est possible car on dispose de la toxine purifiée, conservée en solution acide, et qu'un organisme américain délivre gratuitement.(fig. 2).

Etablissement du FC (voir : Calibration du test P.S.P.)

On ne retient que les dilutions correspondant à des temps de survie compris entre 5 et 7 mn. Ils sont convertis en U.S. dont on déduit la quantité de toxine en mg/l.

Pour chaque dilution on calcule le FC puis le FC moyen

$$FC = \frac{\text{quantité de toxine}}{\text{Nbre d'U.S}} = \text{quantité de toxine équivalente à 1'U.S.}$$

Ce coefficient doit être vérifié de temps à autre dans un même laboratoire par une procédure simplifiée, on admet un écart de $\pm 20 \%$.

Pour indication toute valeur supérieure à 80 μg de toxine pour 100 g de chair de coquillage est considérée comme dangereuse.

b) Le test D.S.P. (Diarrhetic Shellfish Poison)

On se heurte à deux difficultés majeures :

- pas de toxine standard donc pas de quantification possible en μg de toxine par ml ou quantité de chair
- pas de matériel toxique disponible en quantité suffisante.

De plus les temps de survie sont plus longs. Cependant nous avons besoin de comparer les résultats.

On a réalisé un échantillon de référence en réunissant les extraits les plus toxiques. Des dilutions de cette référence ont été injectées à des souris. On a pu ainsi tracer une courbe : temps de survie en fonction de la dilution (voir

figure 3). On remarque que la dispersion dans les temps de survie est d'autant plus grande que la dilution est grande. La réaction des souris devient prépondérante devant l'effet de la toxine.

Malgré la variabilité de la variance nous avons linéarisé la courbe par transformation log, log pour convertir ensuite les temps de survie en unités-souris.

L'unité-souris étant définie comme étant la dilution la plus forte qui tue les 2/3 des souris de 20 g en 24 heures. Les survivantes ont été considérées comme mortes au bout de 48 heures.

Connaissant le nombre d'U.S. assigné à chaque échantillon on a pu comparer la toxicité des prélèvements de coquillage dans le temps et l'espace.

c) Application pratique de cette "calibration"

1. Elle nous a permis de mettre en évidence une corrélation entre les niveaux de présence de *D. acuminata* et la toxicité des coquillages (voir figure 4).

Suite à une contamination importante à Antifer en 1984, nous avons pu stocker une grande quantité de moules toxiques et nous avons recommencé l'expérience et réalisé les travaux de purification qui sont exposés plus loin.

Résultats préliminaires :

- la courbe obtenue à même allure (voir figure 5)
- la prépurification n'a pas amélioré la reproductibilité

2. Le délai d'observation de 24 heures auquel s'ajoute les délais d'acheminement et de traitement de l'échantillon était trop long pour prendre une décision, d'autant que ce délai passé dans la plupart des cas le test est négatif. Les japonais, confrontés au même problème ont fait appel à un autre type de test-biologique : le test bébé-souris.

Procédure : on fait ingérer 0,5 ml de l'extrait dissout dans le tween à des bébés-souris de 4-5 jours et après incubation de 4 heures à 28°C ils sont sacrifiés et on prélève l'intestin entier. Puis on calcule le rapport :

$$\frac{\text{Poids de l'intestin}}{\text{Poids total du corps}} = R$$

Si $R < 0,07$ le test est négatif (cas des témoins)
 $0,07 < R < 0,09$ le test est douteux
 $R > 0,09$ le test est positif

Nous avons réalisé ce test avec les mêmes dilutions que celles utilisées pour le test souris adulte avec l'échantillon d'Antifer (1984) tabl. 5 et 6). On a pu définir la dilution à partir de laquelle le test est positif. De cette dilution a été déduit un temps de survie (250-300 mn) et on a déterminé ainsi un seuil à partir duquel on admet qu'il n'y a pas de danger pour la santé humaine.

Remarques : - la détermination du seuil reste empirique

- le test bébé-souris est difficile à mettre en oeuvre
- il faut cependant rester prudent devant un test négatif : la toxine pourrait présenter un caractère cumulatif (comme le venin d'abeille) ou peut entraîner une mythruidatisation.

TABIEAU 4. RELATION DELAI DE MORT/UNITES SOURIS POUR LE POISON PARALYSANT DES FRUITS DE MER (EXTRAIT ACIDE) (d'après Horwitz, 1980)

Délai de mort ^a	Unités souris	Délai de mort ^a	Unités souris
1:00	100	40	2,79
10	66,2	45	2,71
15	38,3	50	2,63
20	26,4	55	2,56
25	20,7	4:00	2,50
30	16,5	05	2,44
35	13,9	10	2,38
40	11,9	15	2,32
45	10,4	20	2,26
50	9,33	25	2,21
55	8,42	30	2,16
2:00	7,67	35	2,12
05	7,04	40	2,08
10	6,52	45	2,04
15	6,06	50	2,00
20	5,66	55	1,96
25	5,32	5:00	1,92
30	5,00	05	1,89
35	4,73	10	1,86
40	4,48	15	1,83
45	4,26	20	1,80
50	4,06	30	1,74
55	3,88	40	1,69
3:00	3,70	45	1,67
05	3,57	50	1,64
10	3,43	6:00	1,60
15	3,31	15	1,54
20	3,19	30	1,48
25	3,08	45	1,43
30	2,98	7:00	1,39
35	2,88	15	1,35
30	1,31	14	1,015
45	1,28	15	1,000

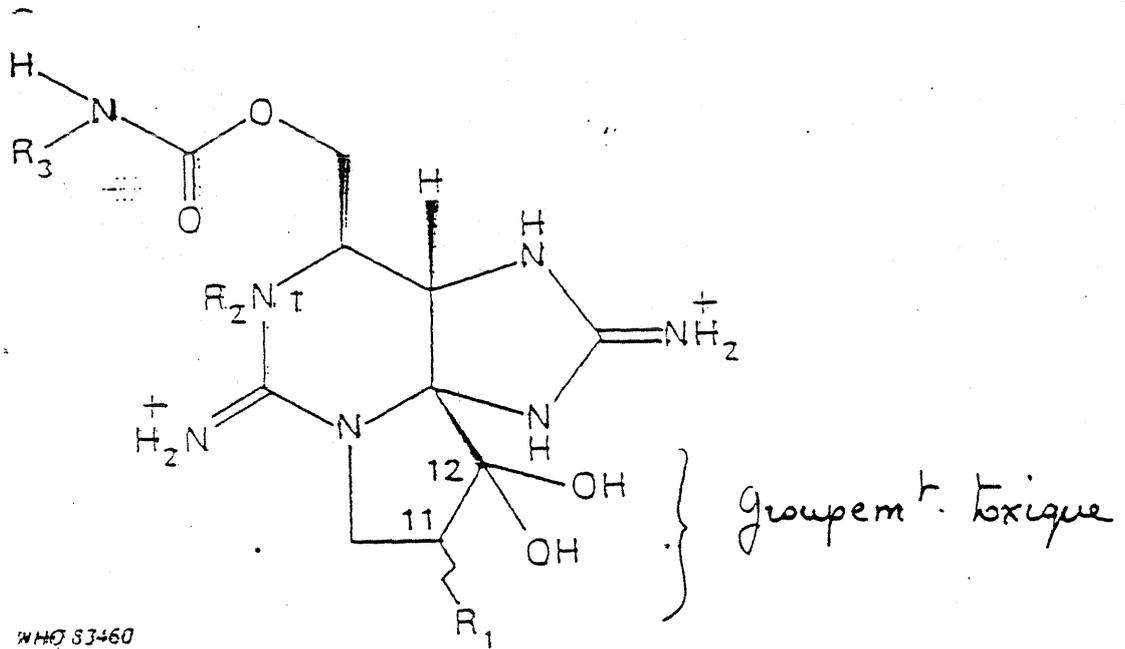
Calcul du facteur de conversion

$$F.C. = \frac{\text{Dilution mg/l}}{\text{Nbre U.Souris}}$$

exprime quantité de poison équivalente à 1 U.Souris.

F.C. moyen = caractéristique d'un laboratoire.

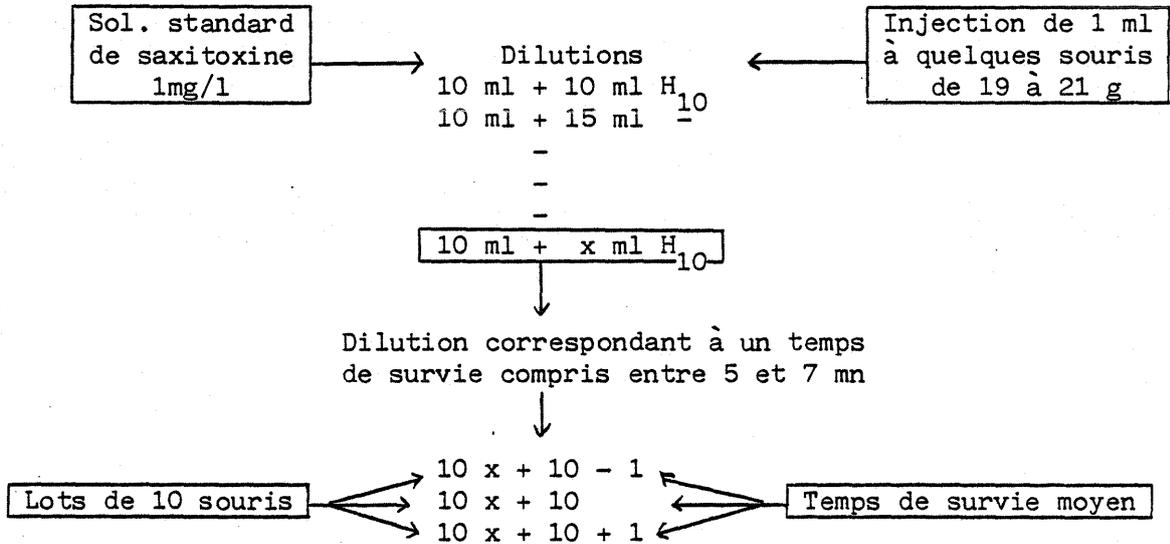
FIG. 2. STRUCTURE CHIMIQUE DES POISONS
DES DINOFLAGELLES PROVOQUANT L'INTOXICATION
PARALYTIQUE PAR FRUITS DE MER



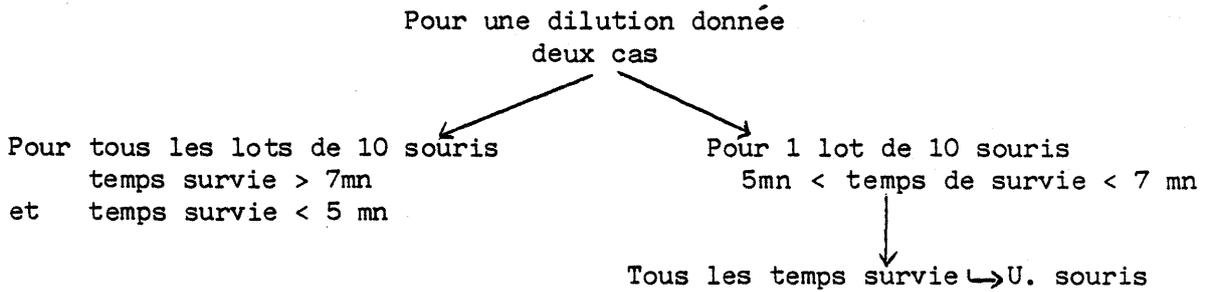
Poison	\underline{R}_1	\underline{R}_2	\underline{R}_3
Saxitoxine (STX)	-H	-H	-H
Néo-STX	-H	-OH	-H
(OSO ₃)-11 STX	-OSO ₃	-H	-H
<u>N</u> -Carbamoyl-OSO ₃	-H	-H	-OSO ₃

Les dérivés de la saxitoxine produits par substitution d'un des deux atomes d'hydrogène en position 11 existent sous forme d'épimères α et β ; ces 12 formes sont toutes des dérivés de la saxitoxine. Les toxines sulfatées sont parfois appelées gonyautoxines au lieu de dérivés de la saxitoxine.

CALIBRATION DU TEST P.S.P.



Réitération de l'opération
2 à 3 jours après



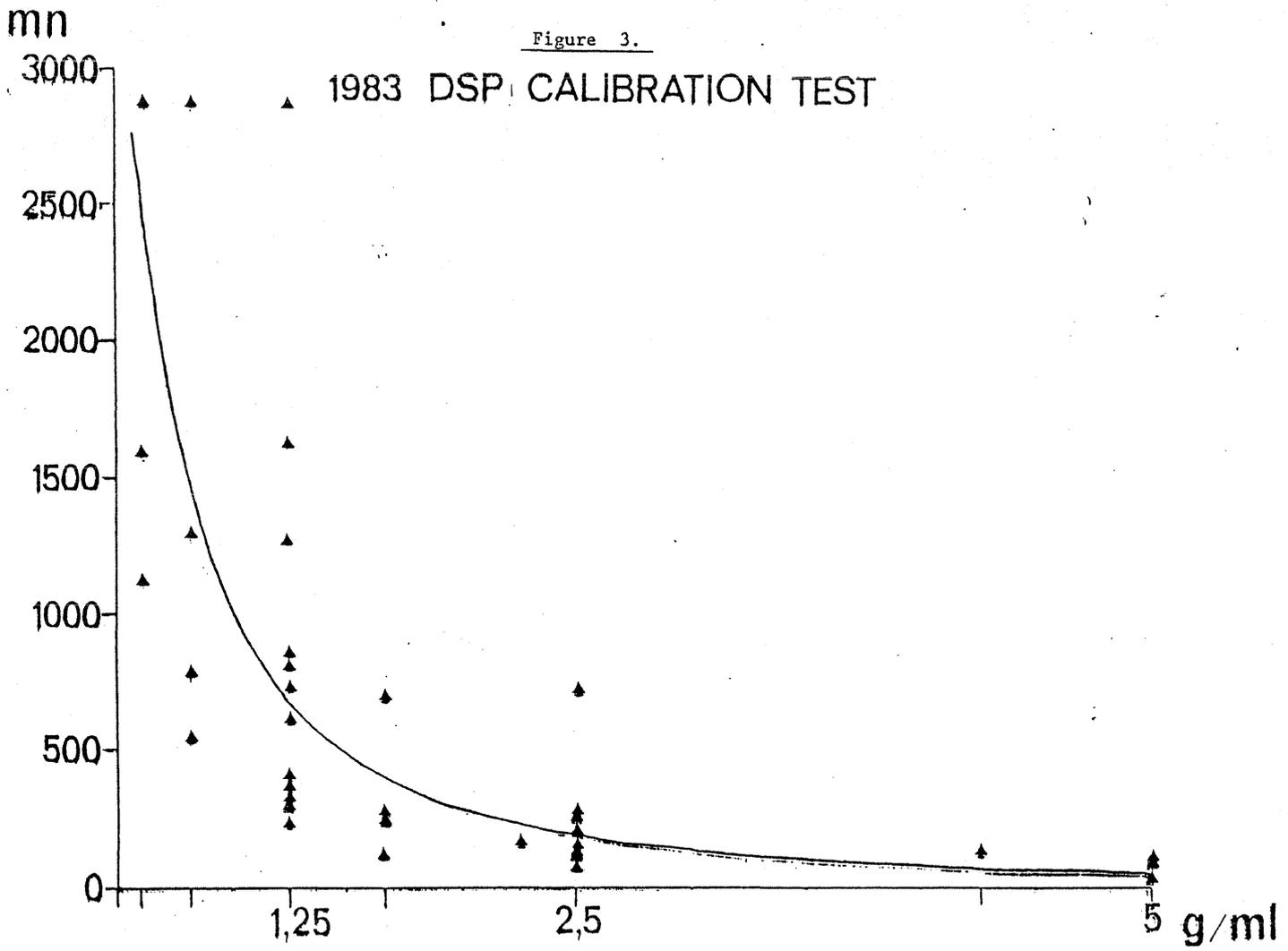


Figure 4.

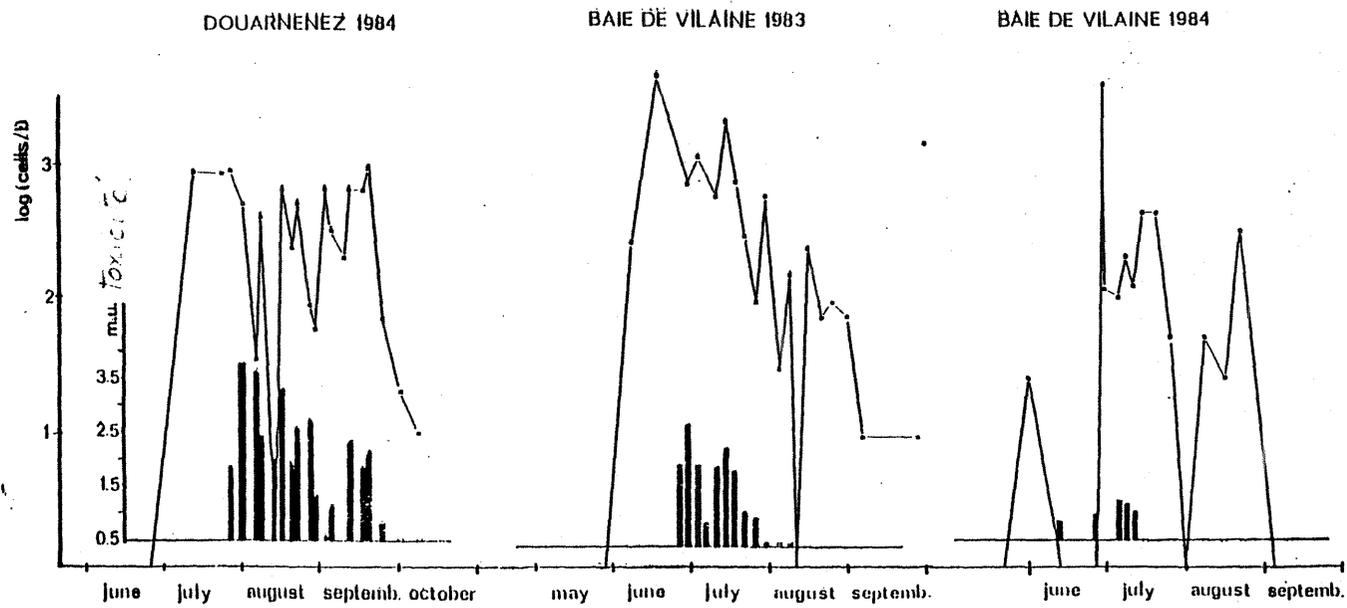
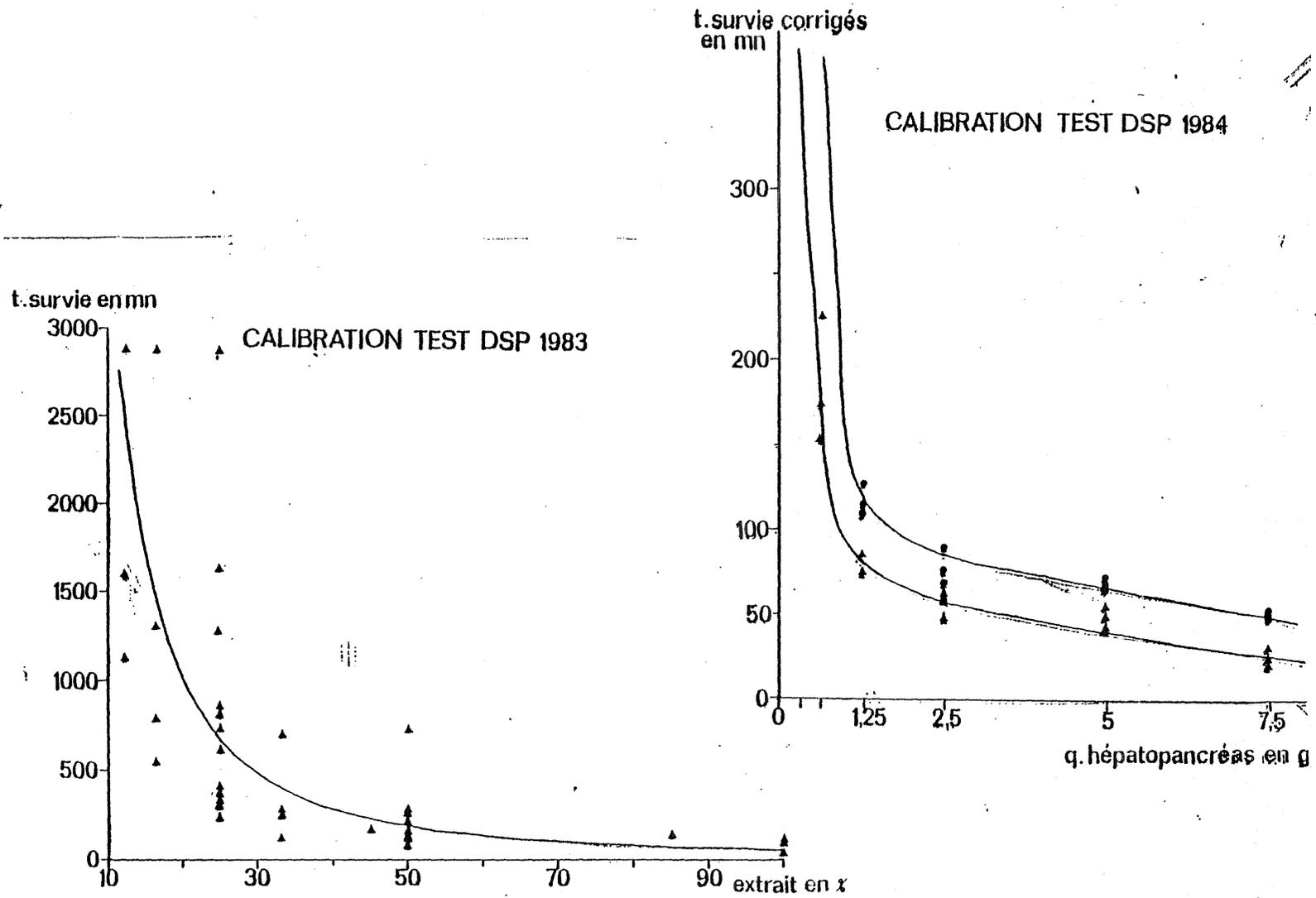


Figure 5.



Hépatopancreas g/ml	R	moyenne arithmétique	écart- type
Témoins	0,057 - 0,050 - 0,048 - 0,050	0,051	0,003
	0,058 - 0,051 - 0,048 - 0,058	0,054	0,005
0,32	0,073 - 0,062 - 0,065 - 0,067	0,067	0,005
0,63	0,074 - 0,078 - 0,092 - 0,087	0,083	0,008
1,25	0,108 - 0,074 - 0,100. - -	0,094	0,014
2,5	0,115 - 0,065 - 0,094 - -	0,091	0,025
5,0	0,119 - 0,121 - 0,108 - 0,130	0,120	0,009
7,5	0,099 - 0,097 - 0,095 - +	0,097	0,002

Tabl. 5 - Valeurs de R pour différentes concentrations d'hépatopancreas en solution dans le Tween 60 à 1 % (+ : mort ; - résultat inutilisable).

Hépatopancreas (en g/ml)	0,32	0,63	1,25	2,5	5	7,5
Test souris adulte moyenne des temps de survie corrigés (mn)	∞	190	81	56	48	24
Test souriceau	-	+	+	+	+	+

Tableau 6 - Résultats regroupés des deux tests

III. PURIFICATION ET PREPARATION A L'ANALYSE DE LA TOXINE RESPONSABLE DU D.S.P. PAR C. LE BAUT

D'après Yasumoto à qui nous avons envoyé un extrait acétonique, la toxine est un polyether d'acide gras en C 38 de formule brute C 44 H 68 O 13 (P.M = 804) appelé acide okadaïque (A.O). Formule développée (voir figure 7).

a) Purification de l'A.O

L'extraction a porté sur environ 500 g d'hépatopancréas toxiques traités à l'acétone et l'éther.

L'extrait est passé successivement sur 3 colonnes, élevé avec différents solvants comme le montre la figure 8.

Après chaque colonne, différentes fractions sont obtenues et séparées sur chromatographie sur couche mince. Les fractions de même rf sont regroupées et testées à l'aide du test souris adulte et d'un test de toxicité utilisant une culture de tissu humain (KB). La fraction toxique est retenue et est passée sur la colonne suivante.

Après la chromatographie en phase inverse (3ème colonne) la purification est à un stade tel qu'elle peut se prêter à un dosage de l'acide okadaïque par une méthode spectrochimique.

b) Dosage de l'A.O, travaux en cours

La méthode utilisée est inspirée de la méthode de dosage des acides gras et Yasumoto l'a adaptée au dosage de l'A.O. Actuellement elle est mise au point au laboratoire "Chimie Environnement" à Nantes par P. Masselin.

La faible volatilité et le haut poids moléculaire de l'A.O font qu'on ne peut le doser par chromatographie en phase gazeuse.

On utilise alors HPLC plus une détection spectrofluométrique (U.V. 210 μ m) et pour améliorer la sensibilité et la spécificité on procède à une réaction d'estérification avec un réactif de fluorescence ayant une forte absorbance (voir fig. 7).

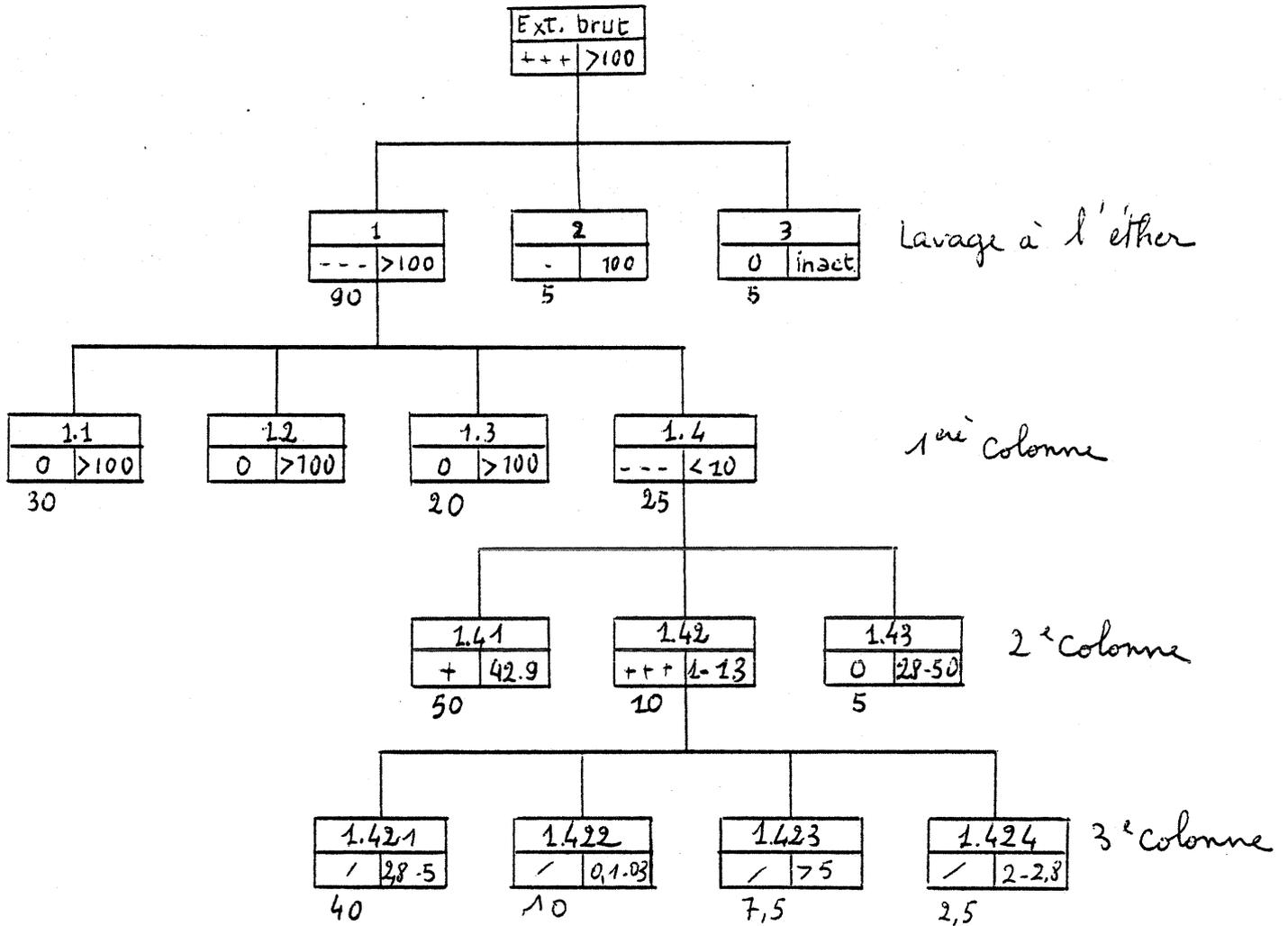
Ce réactif est le 9 anthryldiazométhane ou A.D.A.M. dont nous avons été obligés d'effectuer la synthèse car nous n'avons pas pu nous en procurer en effet ce produit est instable et n'est commercialisé qu'au Japon (coût d'acheminement exorbitant).

Après que P. Masselin ait réussi la synthèse d'un A.D.A.M. stable et suffisamment pur, il a effectué des courbes d'étalonnage avec 2 acides gras : les acides laurique et stéarique.

La reproductibilité s'est révélée être suffisamment bonne pour envisager le dosage de l'A.O par la méthode de l'étalon interne.

c) Perspectives si le dosage est maîtrisé

- simplifier la méthode pour réaliser le dosage d'une manière aisée, peut être en routine ?
- rechercher l'A.O dans du phytoplancton (riche en *Dinophysis*) recueilli à partir du milieu naturel



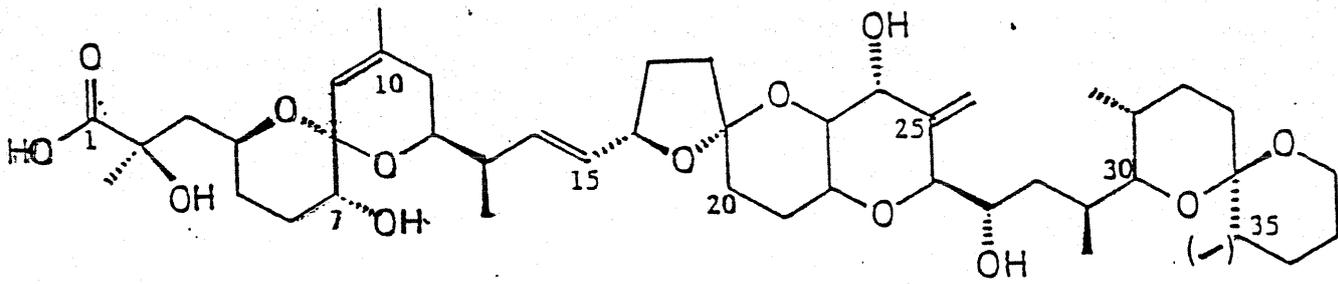
Legende :

N° Extrait	
Test Souris	D' 50 (µg/ml)

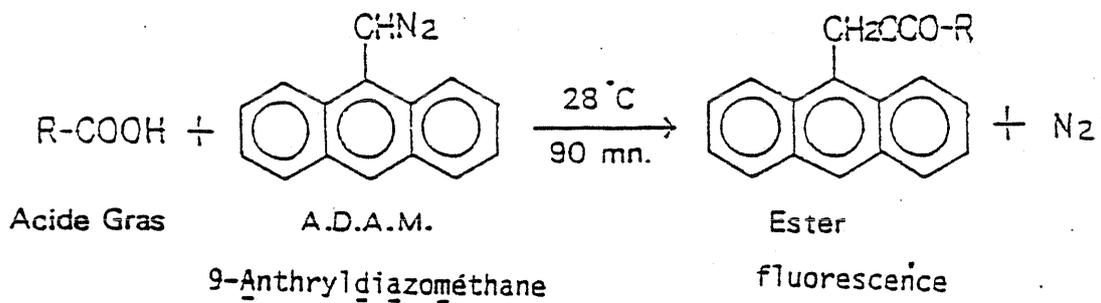
Pourcentage

Figure 6 : Résultat de l'extraction.

Figure 7.



Acide Okadaïque - formule développée



Conditions chromatographiques :

Colonne : phase inverse, L= 250 mm et Ø int. 4 mm.

Température de colonne optimale : 45° C

Solvant d'élution : Acétonitrile/Eau , 90/10

Débit de solvant : 1,1 ml/mn

Longueur d'onde d'émission : 412 nm

Longueur d'onde d'excitation : 365 nm

Volume injecté : 10 µl

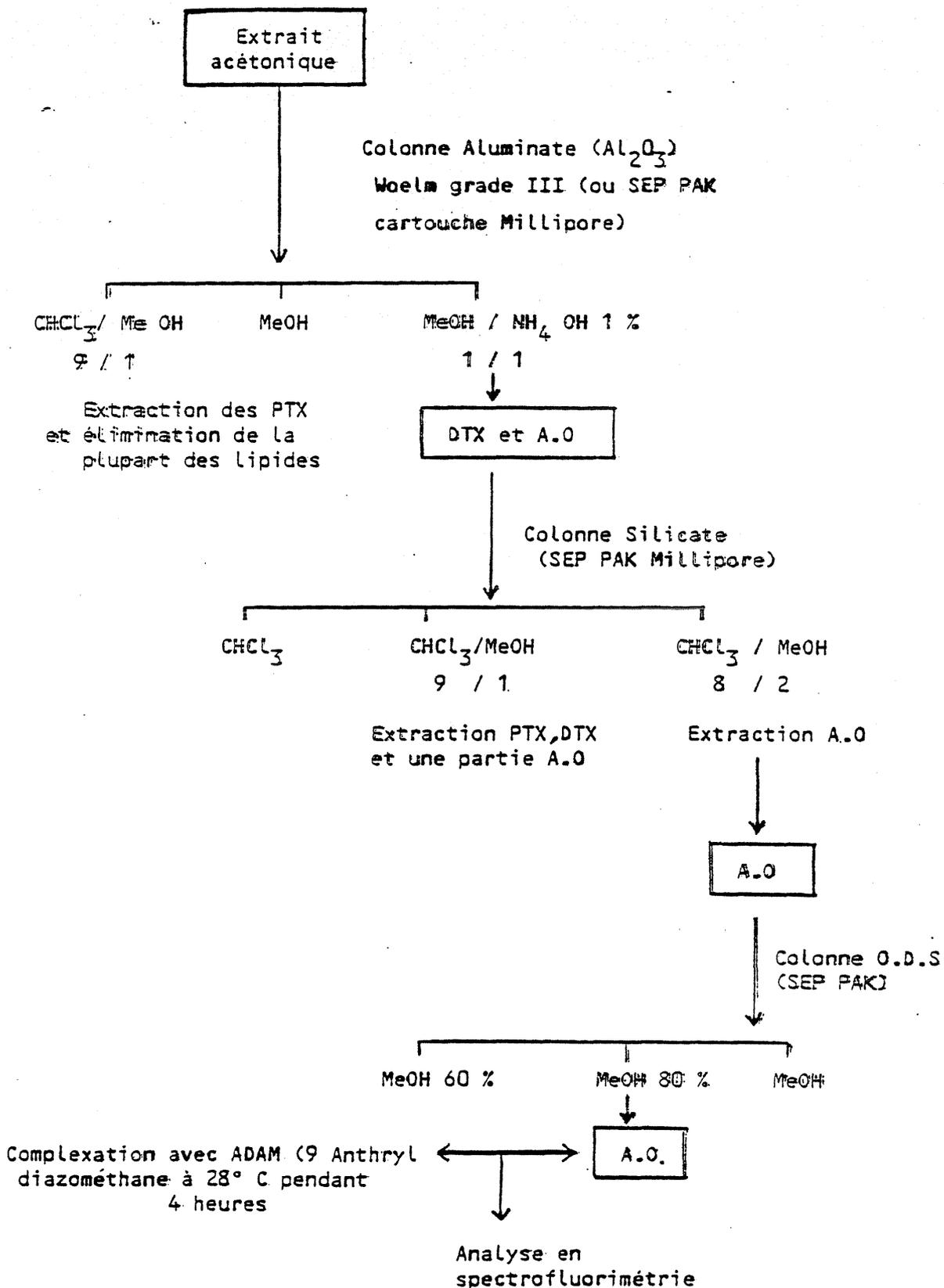


Fig. 8 - Procédé de purification des extraits acétoniques de moules contaminées par des *Dinophytosis*.

- suivre la cinétique de contamination et décontamination dans le cas (optimiste) où la culture serait maîtrisée.

Enfin les injections d'extraits réalisés à partir de *Dinophysis acuminata* lyophilisé (prélevé dans les Bassins du Port du Havre) se sont révélés non toxiques sur les souris. Cette espèce serait donc moins toxique que *D. fortii* à partir duquel Yasumoto a isolé l'A.O.

Test PSP sur cultures de *Protogonyaulax tamarensis*, par M. BARDOUIL.

Suite aux intoxications par le PSP rencontrées ces trois dernières années en baie de Vilaine et sur les côtes normandes, un programme de mise en culture de *D. acuminata* devait permettre entre autres de pouvoir effectuer des essais de contamination et de décontamination expérimentales sur les bivalves. Le but était de donner des informations aux conchyliculteurs sur les possibilités de "reparcage" de coquillages contaminés.

Cette expérience a été réalisée "in situ" sur *Dinophysis fortii* au Japon en 1983 (figure 9). Les différents lots expérimentés ont été calibrés de façon à obtenir un taux de filtration comparable. Comme nous pouvons le constater, les moules et les palourdes ont le taux de contamination le plus élevé.

N'ayant pas obtenu de culture de *D. acuminata*, nous avons donc décidé d'utiliser le dinoflagellé toxique *Protogonyaulax tamarensis* provenant d'une souche japonaise et rapporté en décembre 1984 au laboratoire EBN.

Le numéro de clone : MOG835 se réfère à une composition toxique connue (tableau 7) englobant la STX et plusieurs gonyautoxines. De plus nous avons rencontré récemment, en baie de Vilaine, de fortes concentrations de *Protogonyaulax* sp. (figure 10) qui n'ont pas encore été identifiés mais qui nous obligent à considérer l'éventualité de contaminations type PSP dans cette zone.

Tout d'abord nous avons vérifié la toxicité de la culture que nous utilisons. L'extraction a été faite sur différents volumes de culture filtrés et la toxicité mesurée avec le test souris (méthode AOAC) s'est révélée proportionnelle au log de la concentration cellulaire (tableau 8).

Ensuite, en décembre 1985, nous avons nourri quotidiennement deux lots de moules de taille différente avec 2 l de culture de MOG835 et un lot témoin avec du *Tetraselmis*, ceci pendant 6 jours. Suite à cette contamination, des tests PSP ont été effectués.

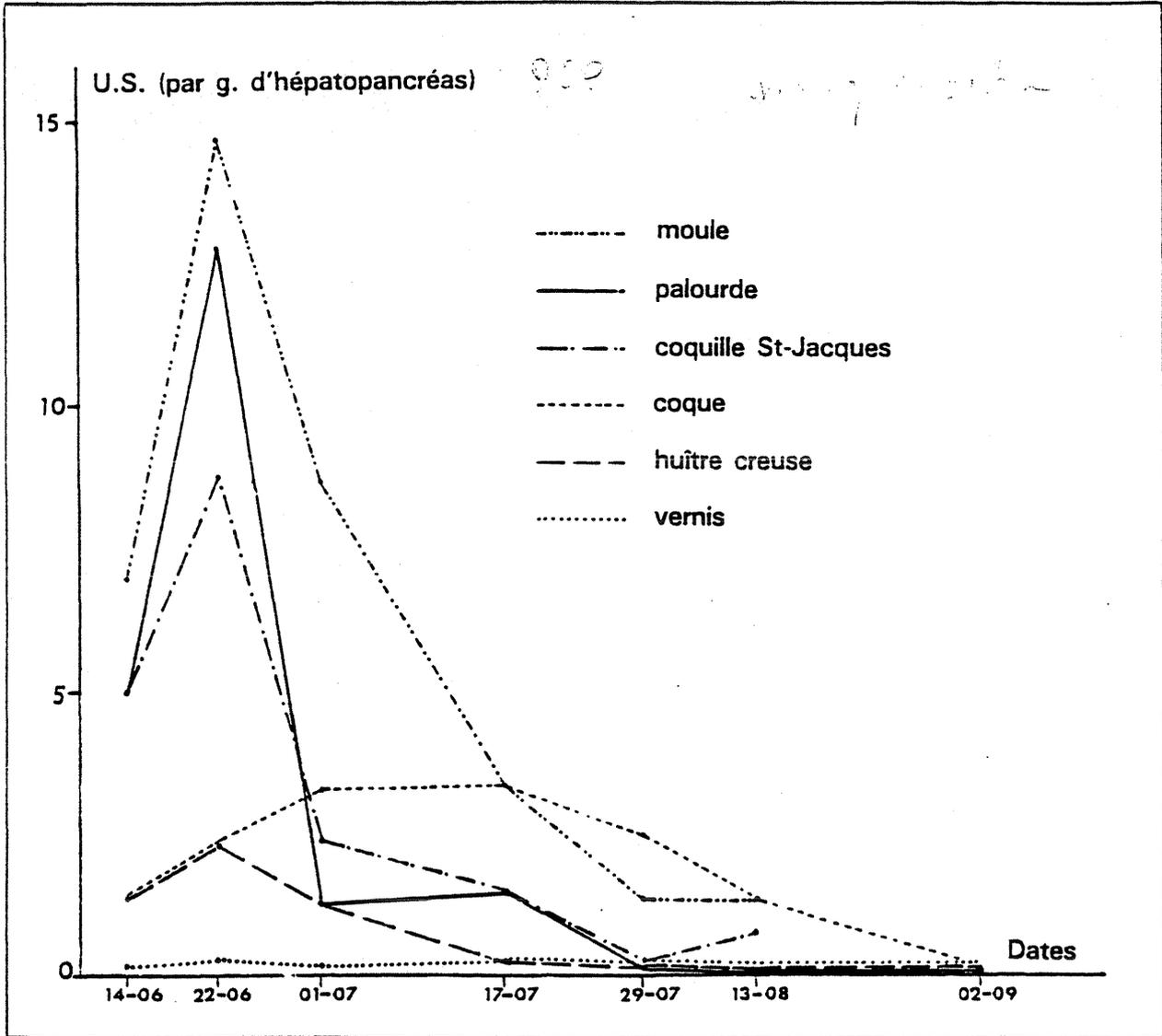
Le test s'est révélé positif avec les plus petites moules (3 à 4 cm de long) en 12 mn, soit US. Le témoin et l'autre essai ont été négatifs. Au mois de janvier, nous avons donc renouvelé l'expérience en injectant en continu un litre par heure de culture. Nous avons dû arrêter l'expérience, les moules ayant émis leurs produits génitaux. Un test PSP a cependant été effectué, il a été négatif.

Comme nous disposions de cultures de MOG835, nous avons refait une expérience avec des coques mais l'eau s'est contaminée, ceci sans doute à cause du vieillissement de la culture.

Ces essais préliminaires nous ont permis d'arriver aux conclusions suivantes :

- nécessité d'utiliser des moules ayant préalablement émis leurs produits génitaux (stimulé thermique ou autre)
- utilisation de moules de 3 à 4 cm accumulant plus facilement la toxine
- utilisation de cultures en phase de plateau
- essais d'alimentation en continu et en discontinu.

Fig. 3 — Contamination et décontamination expérimentales de divers bivalves par *D. Fortii* (Rapport du laboratoire préfectoral de Kesenuma 1983 - Préfecture de Miyagi)



TOXINS	<i>P. tamarensis</i>		<i>P. catenella</i>		Bloom organisms from Kitaura Bay
	OF-796	MOG-835	OF-799	MK-823	
GTX _{1,4} (Gonyautoxine)	18.6	2.5	-	4.7	14.9
sGTX _{1,4} (dérivé de la GTX 1,4')	1.5	0.7	-	25.8	4.9
GTX ₂	1.3	2.5	0.2	-	-
epiGTX ₈ (Epimère 11 α de la GTX ₈)	19.8	20.5	28.1	13.0	11.3
GTX ₃	3.3	5.2	5.0	3.0	2.2
GTX ₈	51.7	50.0	59.7	23.1	23.0
STX (Saxitoxine)	-	-	-	-	-
GTX ₅	-	-	1.6	26.9	38.4
neoSTX (Neosaxitoxine)	-	14.8	-	-	-
GTX ₆	3.9	3.7	5.4	3.4	5.3
Total of carbamoyl N-sulfo toxins	76.9	75.4	94.8	92.2	82.9

Tableau 7.- Composition toxinique de plusieurs *Protogonyaulax* en %
(OSHIMA et al., 1985).

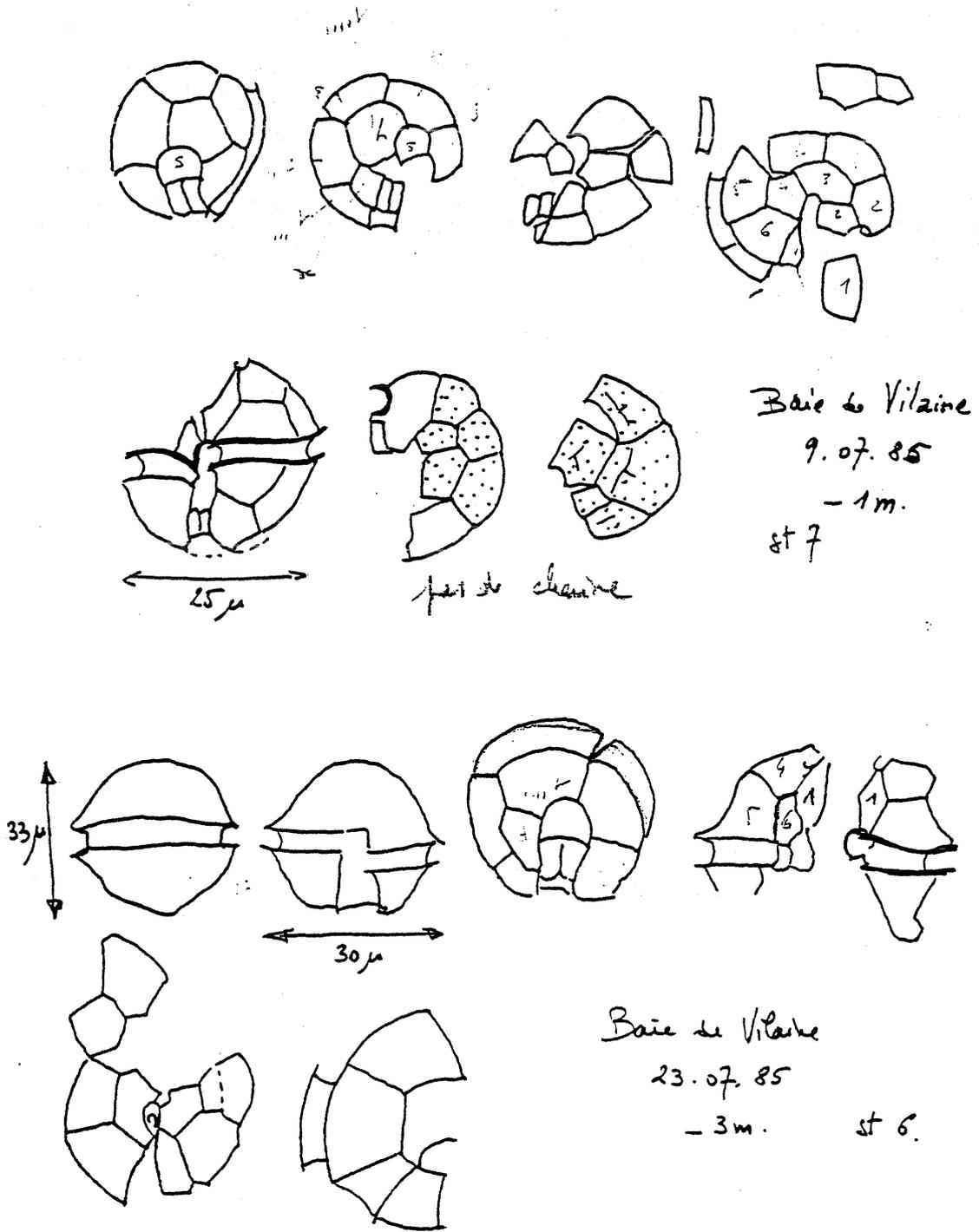


Figure 10.

Tableau 8.

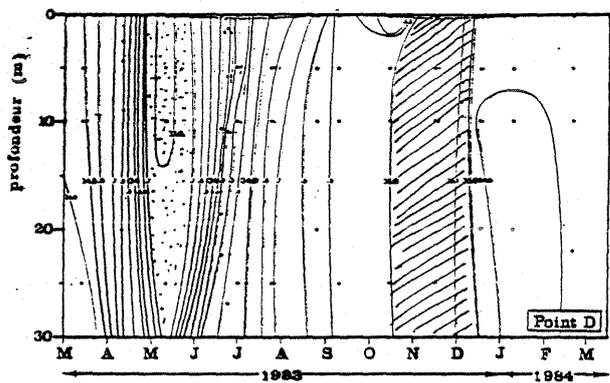
Volume de culture filtrée (ml)	Nombre de cellules correspondant	Nb de cellules correspondant au ml d'extrait injecté	Temps de survie (en mn)	Temp moyen de survie (en mn)	Dilution	Nombre de cellules correspondant	Temps de survie (en mn)	Temp moyen de survie (en mn)
0,05	467 000	11675	>60	>60				
0,1	934 000	23350	15 19 19	17'40				
0,25	2335 000	58375	5 5 5	5	$\frac{1}{4}$	583 750	>60	>60
0,5	4 670 000	116 750	3 3 3	3	$\frac{1}{4}$	1 167 500	15 23 26	21'20
1	9 340 000	2 335 000	1 1'30 1'30	1'20	$\frac{1}{2}$	4 670 000	5'50 5'10 5'5	5'20
					$\frac{1}{3}$	3 113 500	4 4 4'30	4'10

RESULTATS CONCERNANT GYRODINIUM AUREOLUM EN BAIE DE DOUARNENEZ (ETE 83).
CONTRAT D'INCITATION AVEC L'UBO (P. LE CORRE ET J.L. BIRRIEN), PRESENTE
PAR M. RYCKAERT.

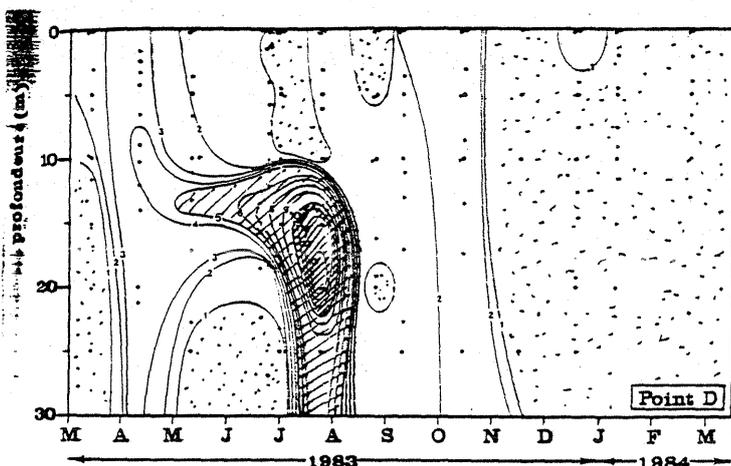
Les résultats sont présentés sous forme d'un rapport daté de juillet 1985, et peuvent se résumer ainsi :

- G. aureolum se trouve à l'état endémique en Iroise.
- G. aureolum a été introduit dans la baie de Douarnenez en 83 lors d'une advection d'eau dessalée provenant apparemment du Sud-Bretagne.
- Les nitrates jouent un rôle prépondérant, la fin des eaux colorées coïncide avec l'épuisement total des nitrates.
- Ces nitrates ne proviennent pas d'une pollution mais d'un recyclage. En effet, lors du maximum d'abondance de G. aureolum, les faibles teneurs en oxygène dissous (70 % de saturation) observées au niveau du fond, correspondraient à la reminéralisation de la matière organique. Par conséquent, il devrait y avoir des teneurs élevées en nitrates comme elles le sont pour les silicates. Ce n'est pas le cas, vraisemblablement en raison de la consommation immédiate par les Gyrodinium.
- 3 mois s'écoulent entre l'apparition de G. aureolum et sa prolifération en eaux colorées ce qui montre la nécessité d'un maintien de conditions favorables sur une longue période comme en 1983.
- Le déficit en oxygène dissous paraît insuffisant pour expliquer la mortalité des organismes benthiques. Il s'agirait plutôt de l'action d'une toxine. En effet, les observations faites sur les bacs d'élevage envahis par Gyrodinium montrent une mortalité élevée des jeunes coquilles St-Jacques, malgré une sur-saturation en oxygène.

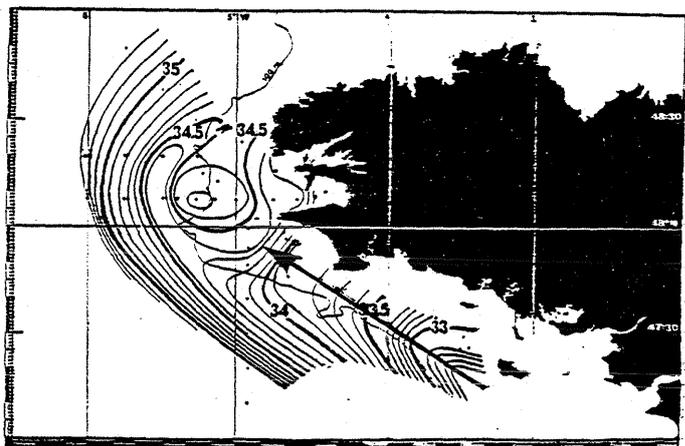
Figure 11.



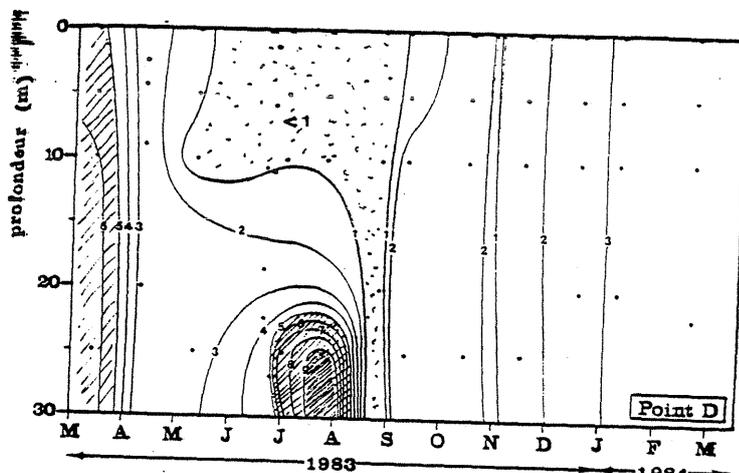
- Variation de la salinité à la station D, dans la baie de Douarnenez en 1983. On notera l'existence de fortes dessalures au mois de mai à la fin du printemps.



- Variations des teneurs en chlorophylle ($\mu\text{g/l}$) dans la baie de Douarnenez en 1983 (station D). On remarquera "l'enfoncement" progressif du maximum de chlorophylle. Au mois de juillet il est constitué à 95% par *Cryptodinium aureolum*.



- Distribution superficielle des salinités en juin 1983 (SANTER 838). On notera les fortes dessalures (exceptionnelles pour la saison) dans le Sud-Ouest. On remarquera aussi l'orientation des isohalines vers le Nord.



- Evolution des silicates ($\mu\text{atg/l}$) dans la baie de Douarnenez (point D) en 1983.

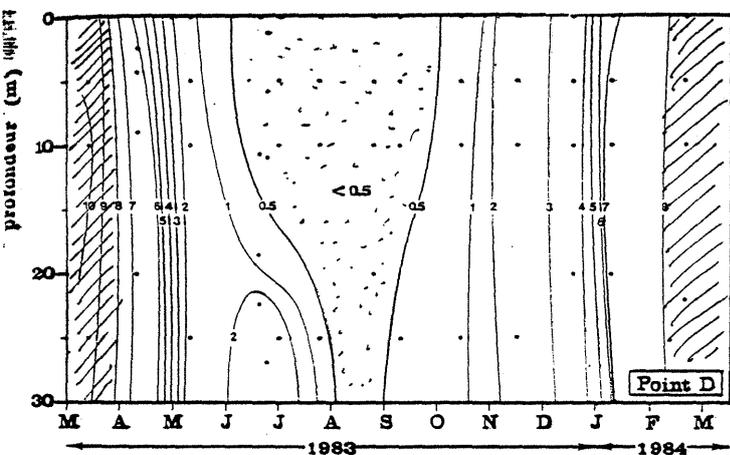
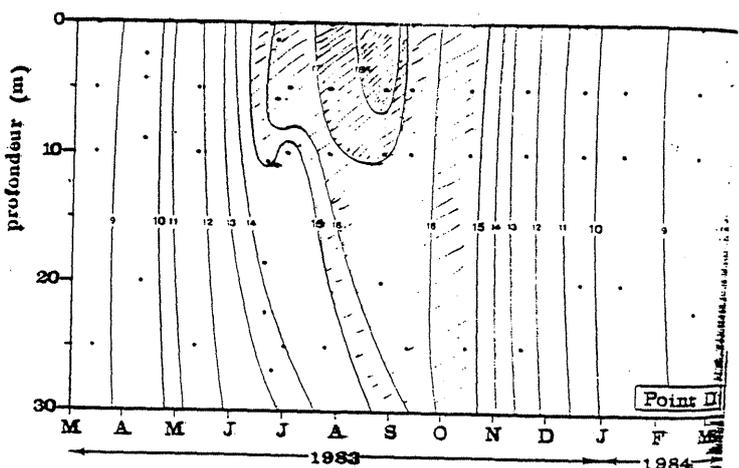


Figure - Evolution des nitrates ($\mu\text{atg/l}$) dans la baie de Douarnenez (point D) en 1983. La fin des eaux colorées correspond à l'épuisement total des nitrates dans les masses d'eau de la baie.



- Variation de la température à la station D dans la baie de Douarnenez en 1983. On notera la faible épaisseur de la couche réchauffée de surface en été.

RESULTATS DE LA SURVEILLANCE PHYTOPLANCTONIQUE DANS UN BASSIN PORTUAIRE DU HAVRE, PAR M. RYCKAERT.

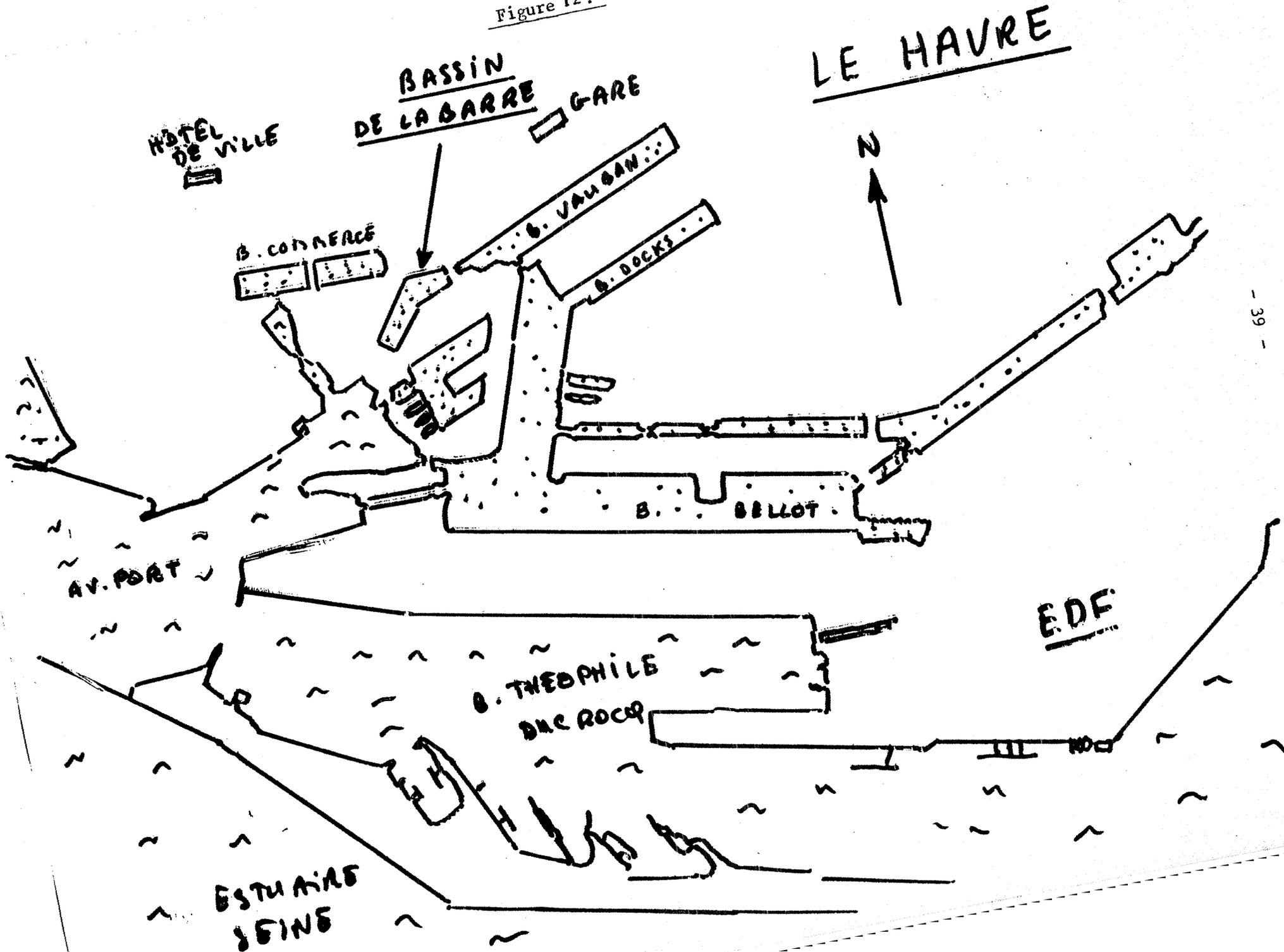
Présentation du bassin de la Barre (fig. 12) :

L'année dernière, il était prévu 3 prélèvements par semaine. Devant la charge de travail que cela a entraîné, le nombre prévu cette année était moins important. Mais au vu des constatations selon lesquelles le beau temps favorise les poussées phytoplanctoniques, la fréquence des prélèvements a été portée à 1/jour à partir de fin juin.

L'étude journalière des Dinophysis fait l'objet d'un rapport de maîtrise. Toutes les analyses chimiques ont été faites par le Laboratoire Municipal du Havre. Seul le phytoplancton a été dépouillé à Brest.

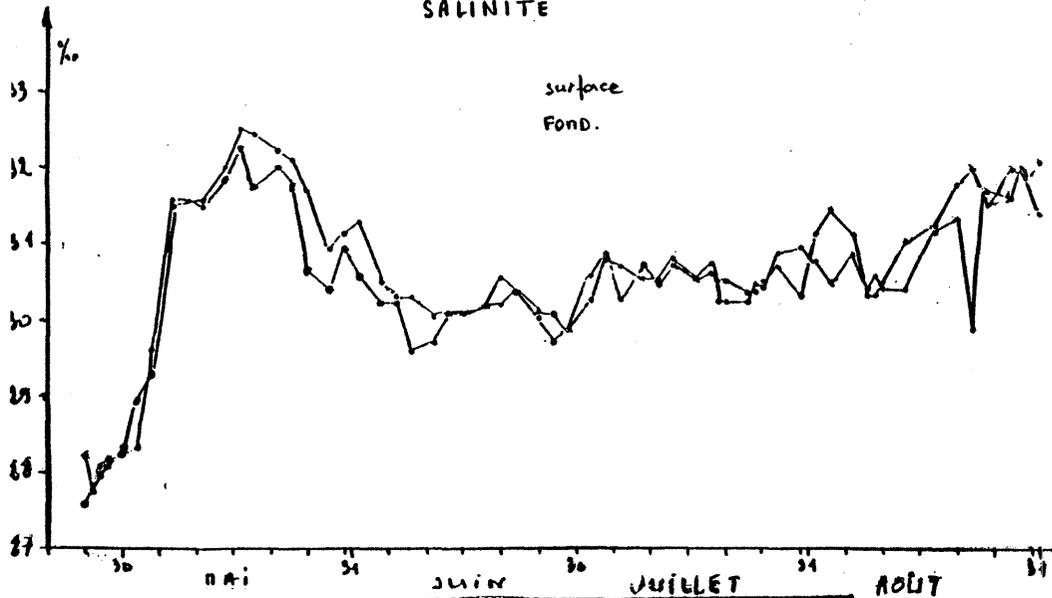
Nous avons comparé les résultats des années 84 et 85. En 85, la température est beaucoup plus basse qu'en 84. Les fortes pluies ont entraîné une dessalure importante (figures 13, 14, 15).

Figure 12.



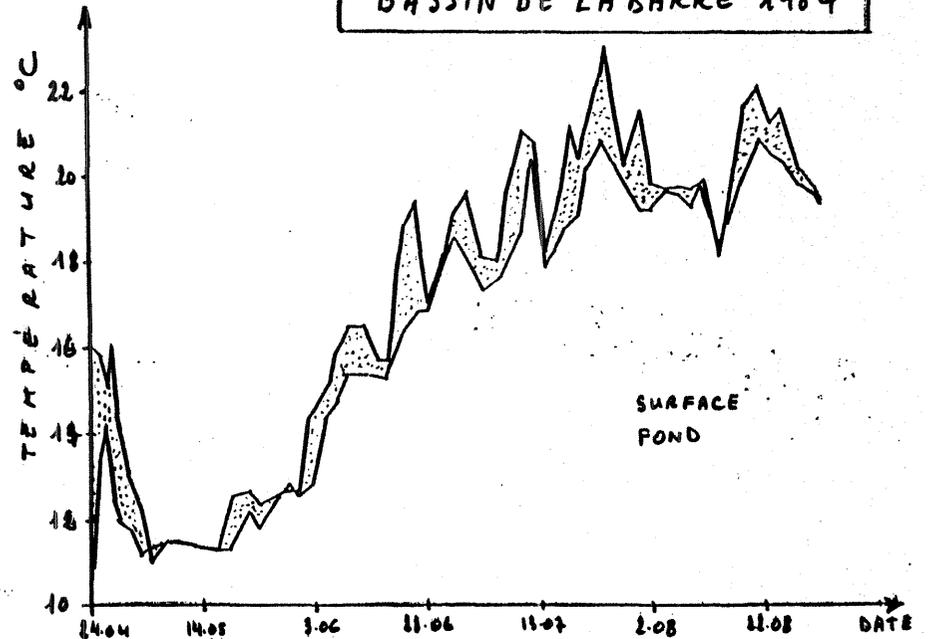
BASSIN DE LA BARRE 1984

SALINITÉ



BASSIN DE LA BARRE 1984

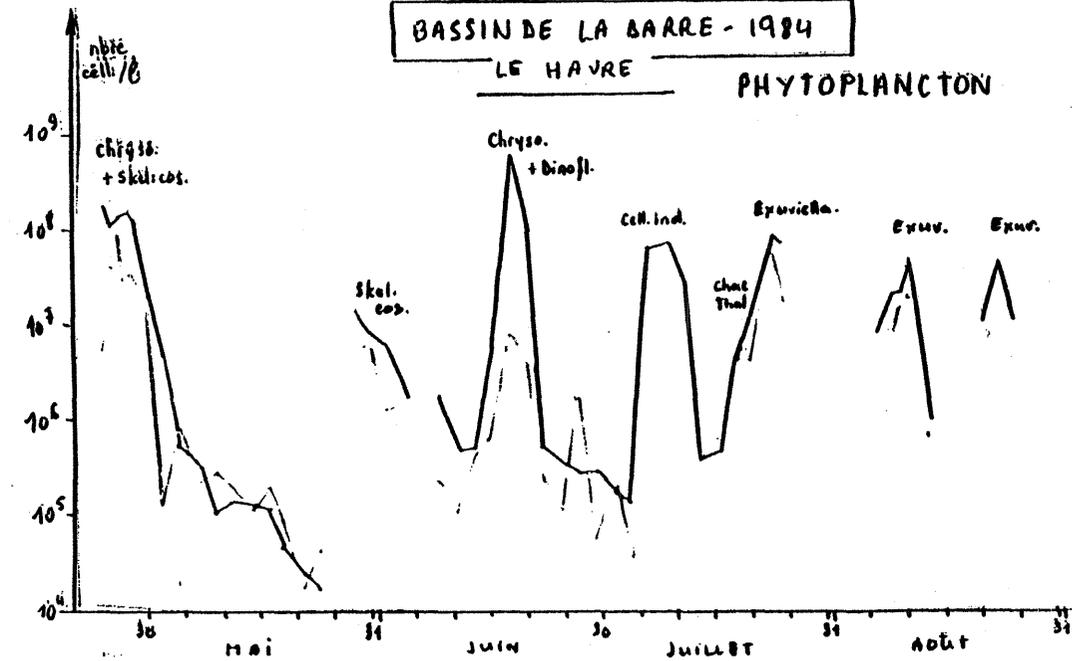
TEMPÉRATURE °C



BASSIN DE LA BARRE - 1984

LE HAVRE

PHYTOPLANCTON



BASSIN DE LA BARRE 1984

CHLOROPHYLLE (µg/l)

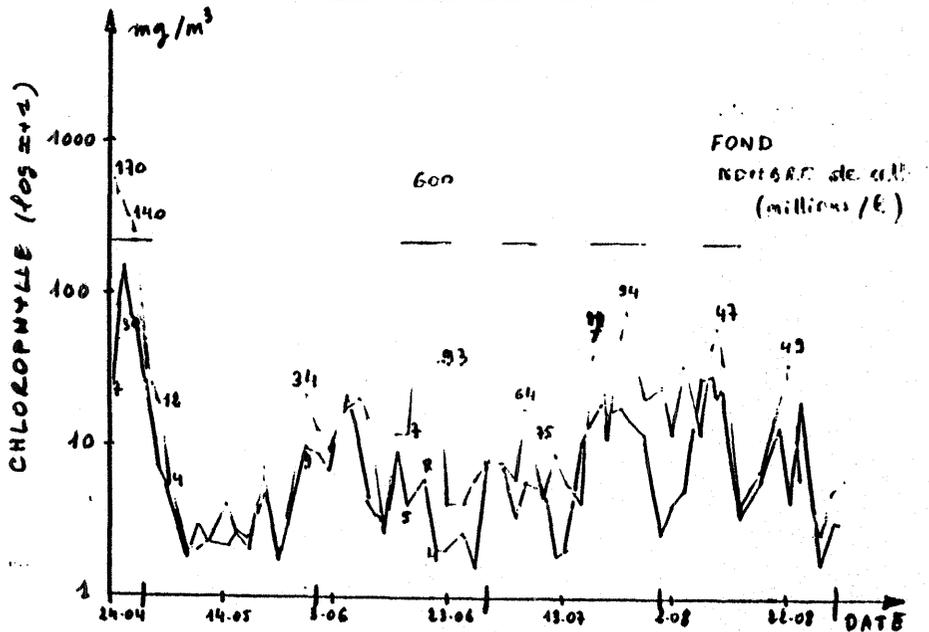
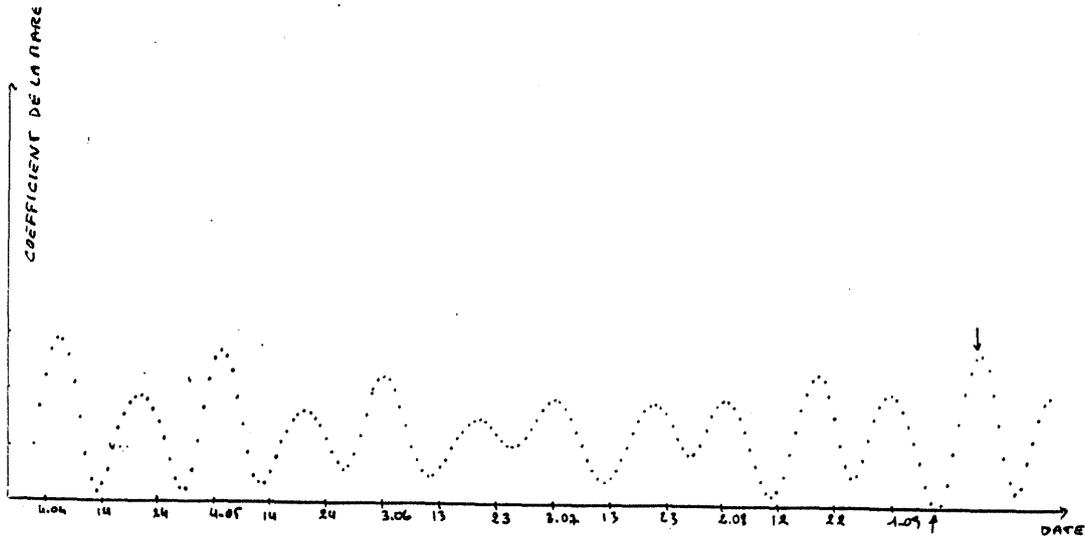
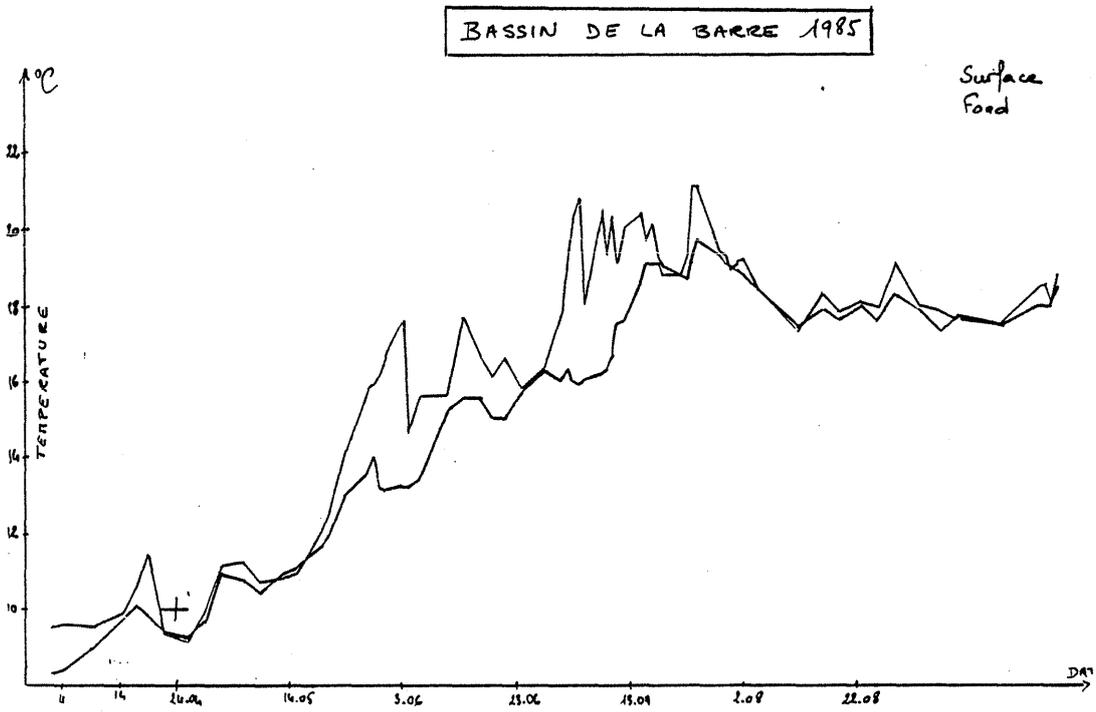
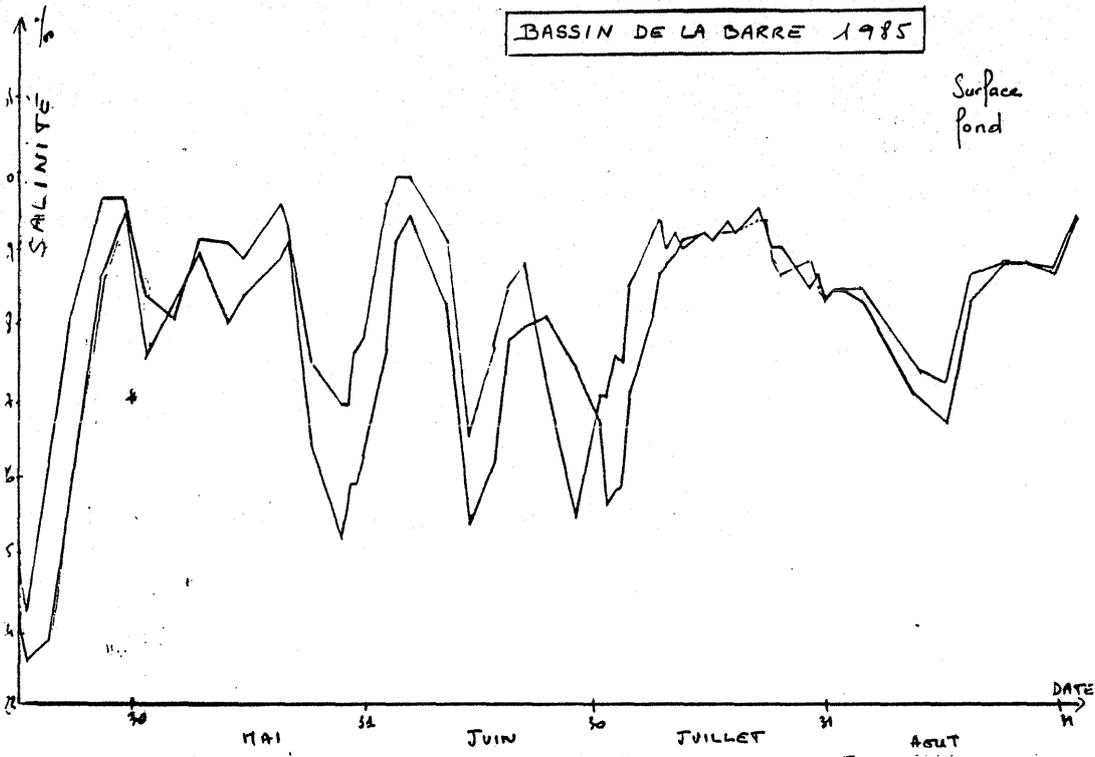


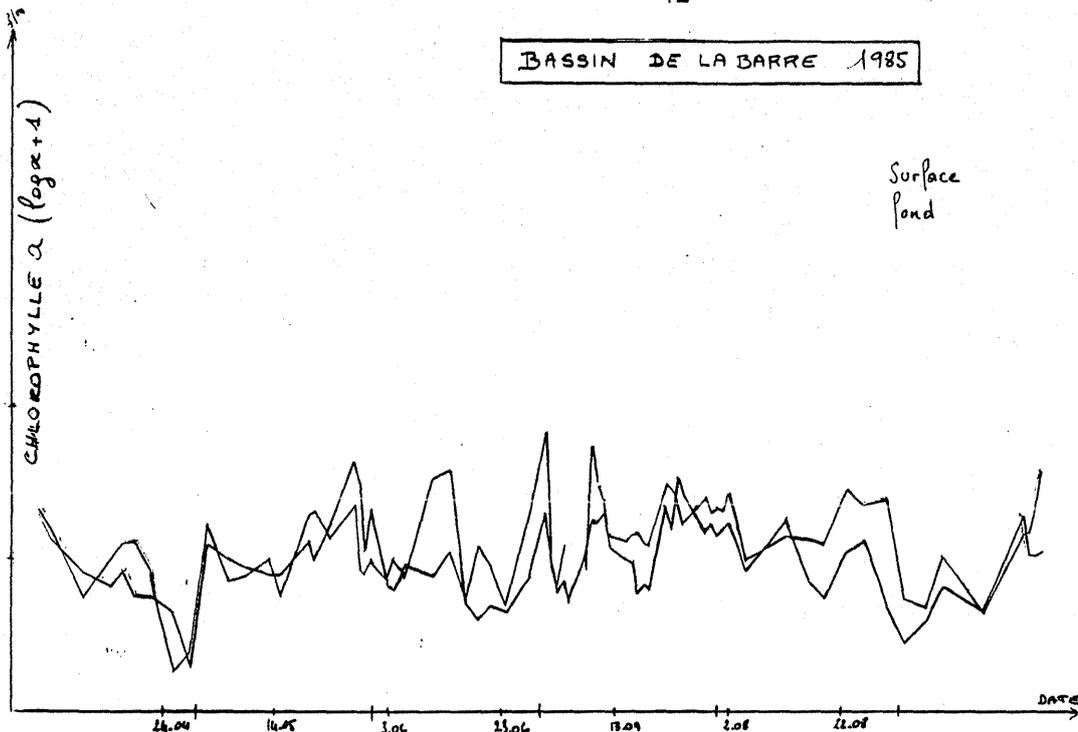
Figure 13.

Figure 14.



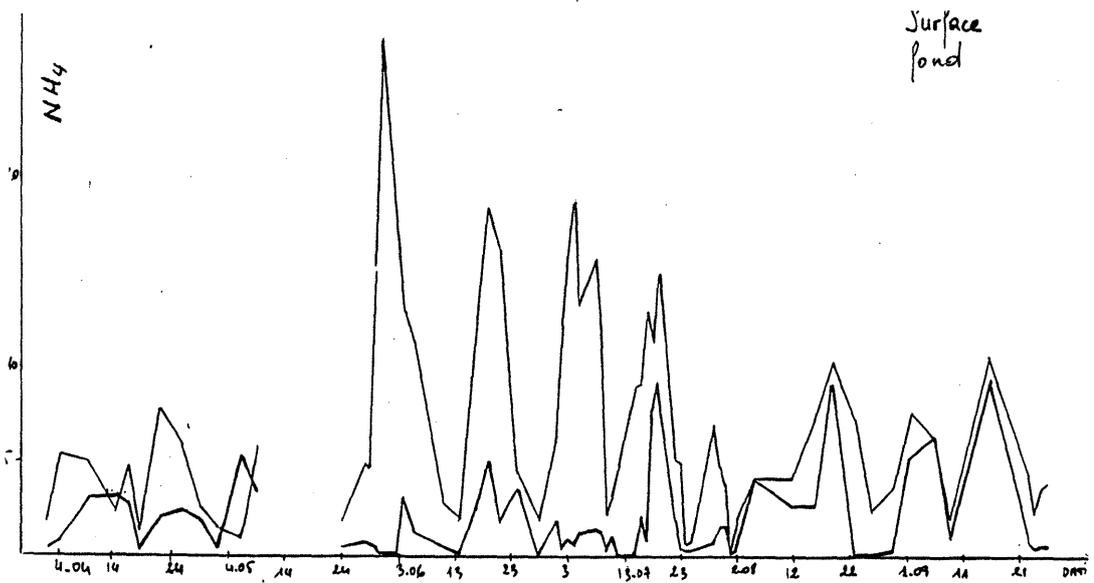
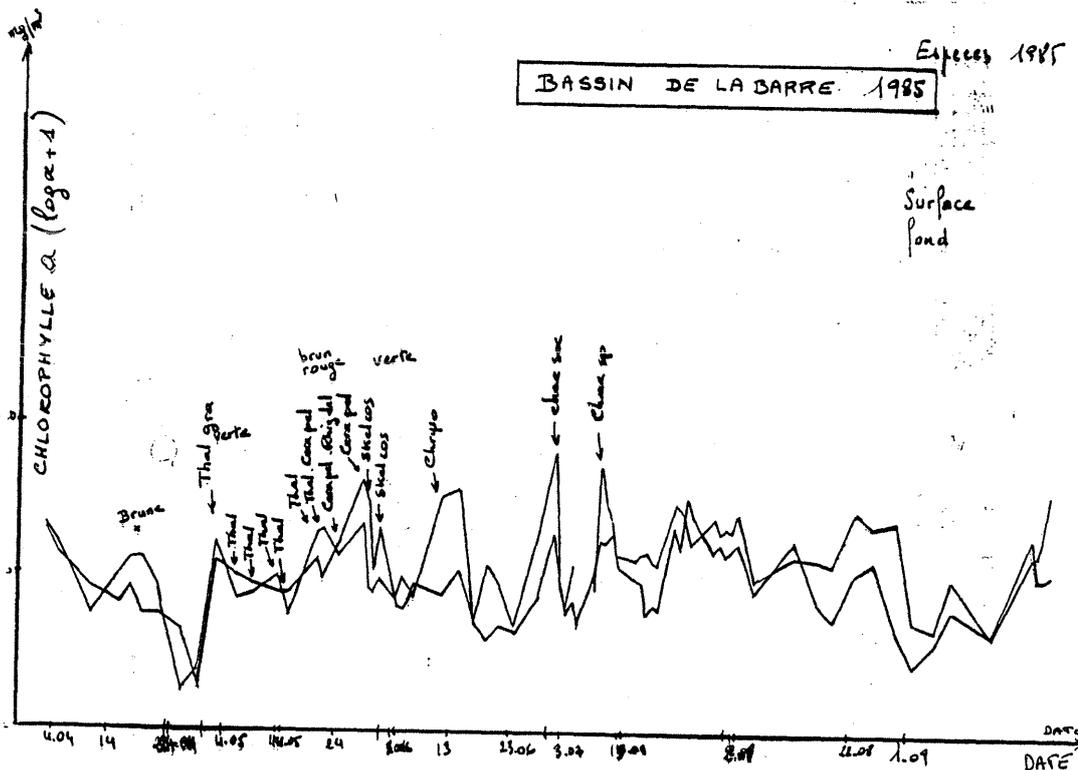
BASSIN DE LA BARRE 1985

Figure 15.



BASSIN DE LA BARRE 1985

Especies 1985



L'ammoniaque montre de grandes variations, au niveau du fond elles ont un aspect cyclique, identique à celui des coefficients de marée. Le bassin de la Barre est assez intérieur, étant éloigné de la mer ouverte il est étonnant d'observer cette coïncidence. Si on compare les variations d'ammoniaque et de chlorophylle, celle-ci est faible quand NH_4 est élevé, mais il ne s'agit pas nécessairement d'un effet d'inhibition de la part de celui-ci.

Les variations observées sur 26 heures, bien qu'importantes, ne suivent que peu les variations de la hauteur d'eau. En morte-eau, les variations de la chlorophylle sont plus amplifiées qu'en vive-eau mais il est difficile de les relier à la marée plutôt qu'à la physiologie du phytoplancton (accroissement d'activité avec l'intensité lumineuse au cours de la journée). Les variations paraissent commencer au fond, avant de se répercuter en surface. S'il y a des kystes, ils sont relargués par le fond. La stabilité de la structure dans l'eau du bassin est également due au fait qu'il y a très peu de mouvements.

Les prélèvements sont faits tous les jours à 13 h au même point du bassin de la Barre. Cet horaire correspond aux pleines mers de vive-eau (et à l'ouverture des portes des bassins) et aux basses mers de morte-eau.

En 1984, l'influence de la durée de l'insolation (à partir d'une certaine température de l'eau) sur l'apparition des blooms était différente selon les espèces. Apparemment, les Chrysophycées sp. répondent vite à un ou deux jours d'ensoleillement important, alors que les Exuviella sp. (Prorocentrum sp.) par exemple semblent avoir besoin de plusieurs jours d'ensoleillement pour favoriser leur prolifération.

En 1985, les comptages de phytoplancton ont été effectués jusqu'au début juin, et n'ont mis en évidence jusqu'à cette date que des poussées de Diatomées. Dinophysis est présent dans les bassins du Havre, principalement en juillet et août (observations du Laboratoire Municipal du Havre ; jusqu'à 9000 cell./l).

La pose de pièges à particules prévue en 1985 se fera en 1986, précédée par des essais en mai-juin.

	\bar{x}	V%	n
0 m	593	117	36
1 m	605	110	109
3 m	1239	157	90
5 m	1063	117	88
10 m	435	179	87
20 m	229	105	24
30 m	104	302.	15
40 m			

Dinophysis cf acuminata

Concentrations moyennes pour toutes
les stations par niveaux entre le 2.05
et le 9.07.85

	BLOOMS A DIATOMEES	CONC. MAX DINOPHYTIS	STRATIFICATION	INTOXICATIONS TYPE DSP.
1983	Bloom du 7 au 10 Juin Nitzschia + Rhizosol. 6.5×10^6 Cell/l.	> 15000 /l le 17.06. en Surf. pour $T^\circ = 15^\circ C$ $S\text{‰} = 31\text{‰}$.	Thermique et haline début Juin	3300 cas DSP * 84 Ets 70 Pêcheurs à pied. (6 semaines)
1984	Bloom du 15 Juin au 1 ^{er} Juillet Chaetoceros + Rhizosol. 1.2×10^8 Cell/l. > 10 mg/m ³ et < 50	≈ 10000 /l le 1.07 en surface. pour $T^\circ = 19.6$ $S\text{‰} = 32\text{‰}$	Thermique et haline ($8^\circ C$ et 4‰ le 20.06)	70 cas DSP * 84 Ets 70 Pêcheurs à pied (1 semaine)
1985	Bloom > 10 mg/m ³ le 21 mai et < 50	≈ 2000 /l le 21 -05 et le 9.07 en surface.	Str. haline de 10‰ le 21.05 et de 3‰ le 9.07. Pas de Str. Thermique	Rien (* : fermetures). 4000 t moules / an 900 t coques

DISTRIBUTION DE DINOPHYSIS EN BAIE DE VILAINE PENDANT L'ETE 85, PAR P. LASSUS.

Les concentrations maximales de Dinophysis se trouvent au voisinage d'estuaires et d'arrivées d'eau douce. Mais on manque de données (fig. 16 et suivantes). En 84, on a eu des résultats de chlorophylle a.

On a une succession classique de Diatomées et de Dinoflagellés, avec les Dinoflagellés plus abondants à la fin. En 83-84, on a eu des concentrations de Dinophysis très importantes en surface, proches de 20000 cellules/l. Ce phénomène est à relier à l'apparition juste auparavant d'eaux colorées à Diatomées dans les eaux de Vilaine, accompagnant une dessalure et des eaux plus froides.

Les cellules en division sont abondantes en début de bloom, en 83 et 84. En 85, on retrouve également ces résultats, avec un étalement au niveau des températures et des salinités.

En 85, on a fait une radiale mettant en évidence la différence entre l'estuaire de la Loire et la baie de Vilaine.

Le 25 juin il y a eu un changement de météo, avec diminution des concentrations d'un grand nombre d'espèces phytoplanctoniques. Dans l'estuaire externe, les concentrations restent souvent plus importantes qu'en baie de Vilaine.

En juillet, il y a de nouvelles conditions météorologiques, et à nouveau stratification (moindre qu'en mai). S % = 24 % en surface, et 33 % au fond. Il n'y a pas de stratification thermique, d'où nouvelles concentrations de Dinophysis, surtout en surface. A -10 m il n'y a plus rien.

Profils de l'estuaire (il faut voir les résultats à 10^3 près) : en mai, il y a accumulation de Dinophysis au fond, et en juin, déplacement des populations vers la sortie de l'estuaire. Il y a de grandes fluctuations journalières, d'où la difficulté du calcul de la variance.

En juillet nous avons fait un suivi des migrations journalières verticales mais à ce moment il n'y avait pas de stratification marquée et les résultats ne sont pas très nets.

Tous les ans les Dinoflagellés diminuent, et les intoxications également. A partir de 200 cellules/l, Dinophysis fortii est très toxique. Ce seuil n'est pas applicable aux autres Dinophysis. Le phénomène d'accumulation de Dinophysis est vraisemblablement un cas d'accumulation physique (courants, stratification). L'estuaire de la Loire est aussi influent.

Les concentrations sont moins élevées en surface. Dans la baie, les concentrations les plus importantes sont à - 3 m. La densité est déterminée par la stratification.

Profils 1985

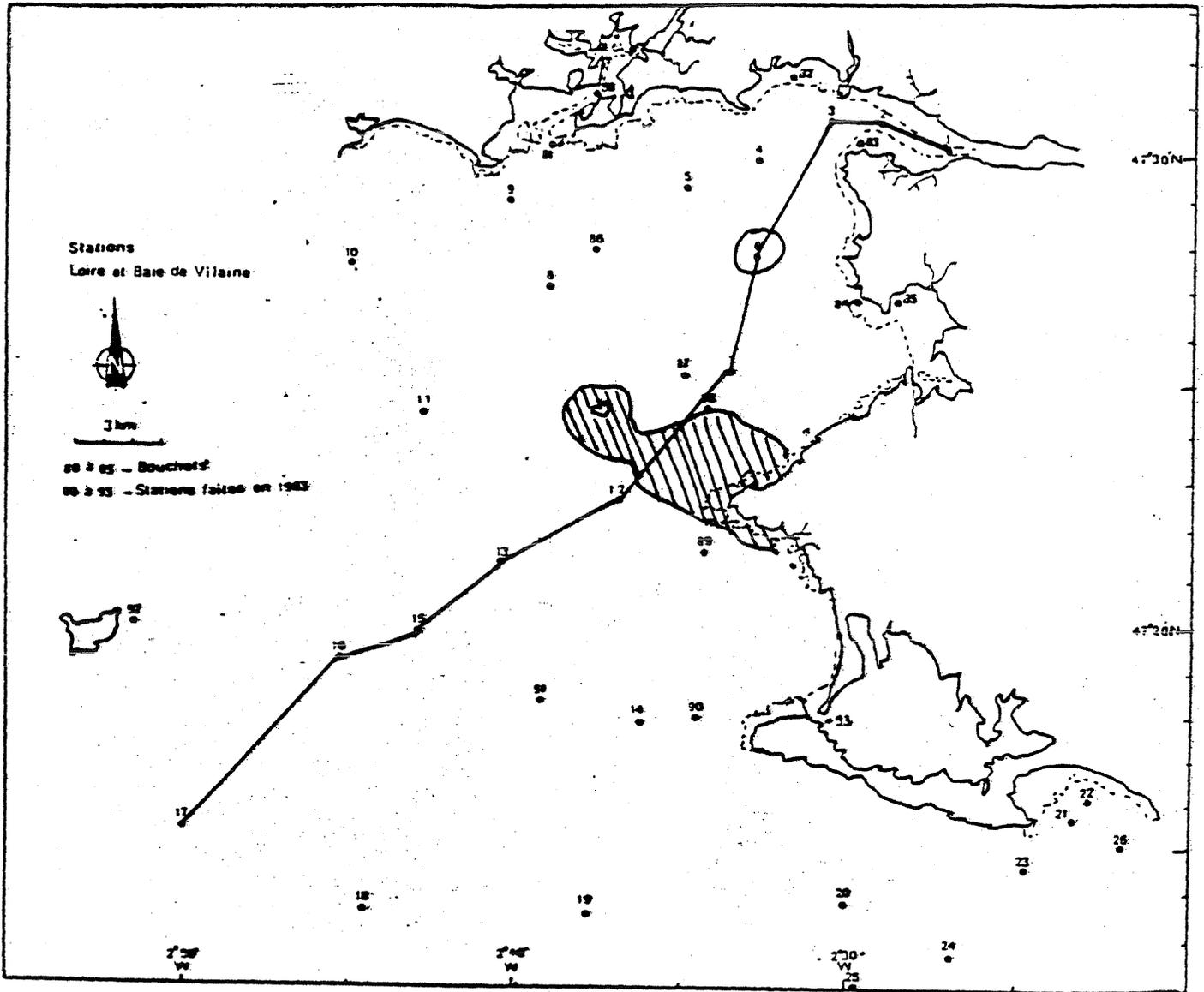
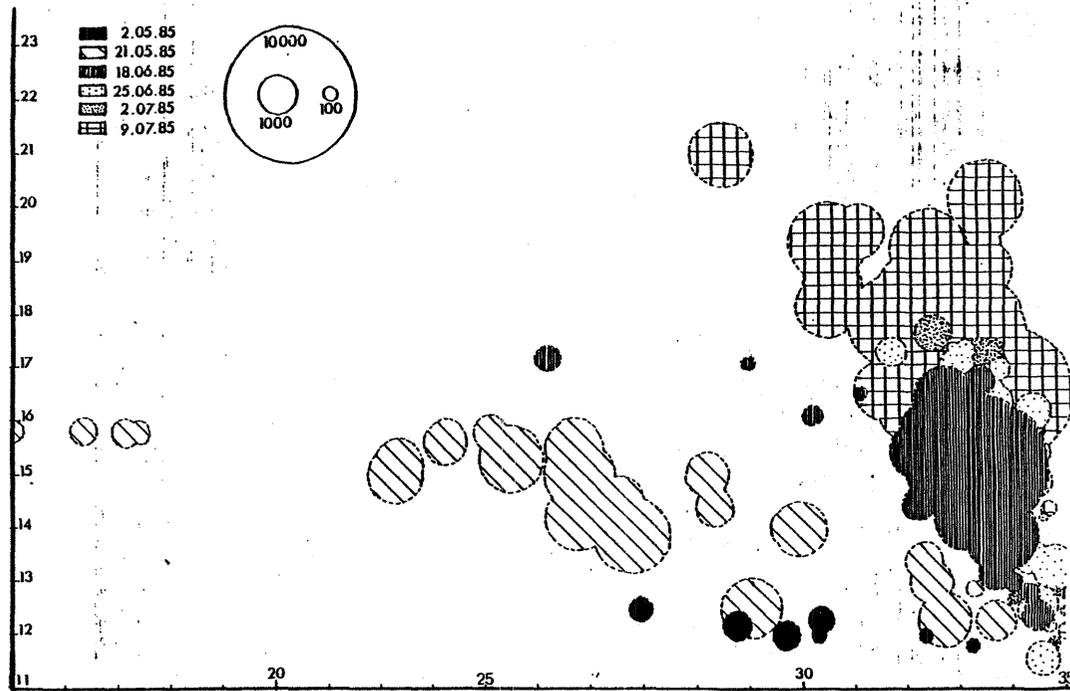
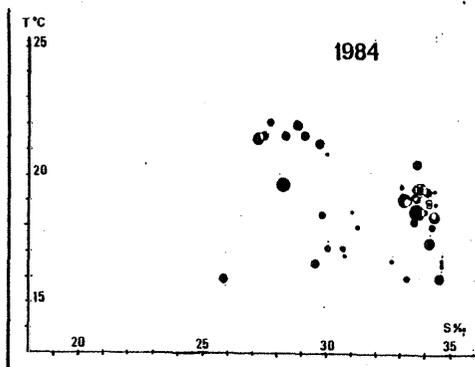
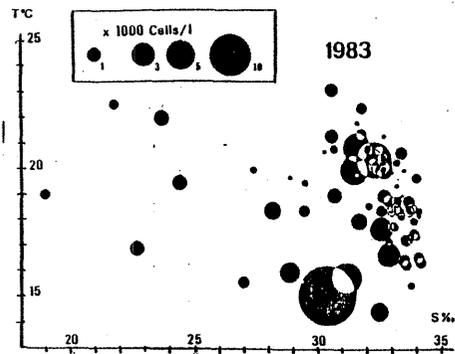


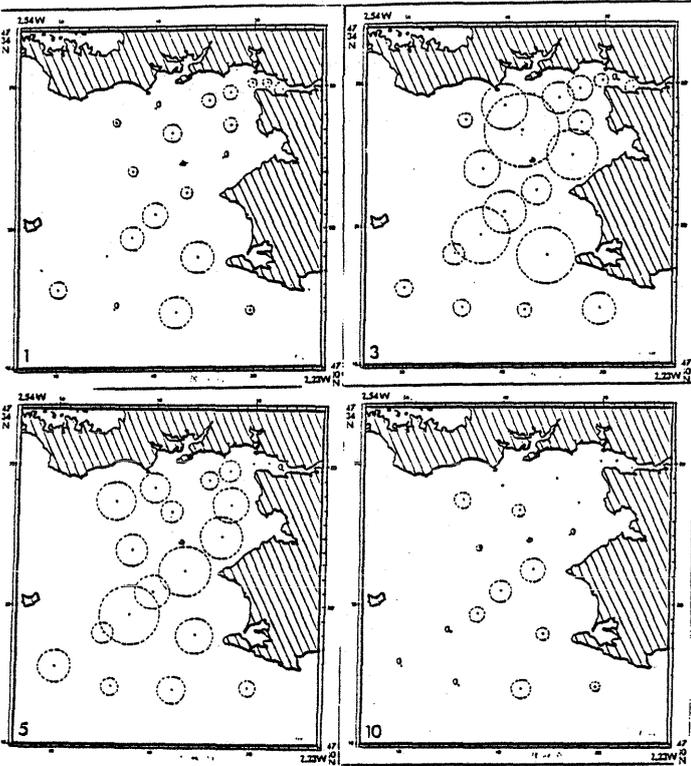
Figure 16: Carte des stations échantillonnées en 1983-1984 en baie de Vilaine.

 Haut-fond rocheux

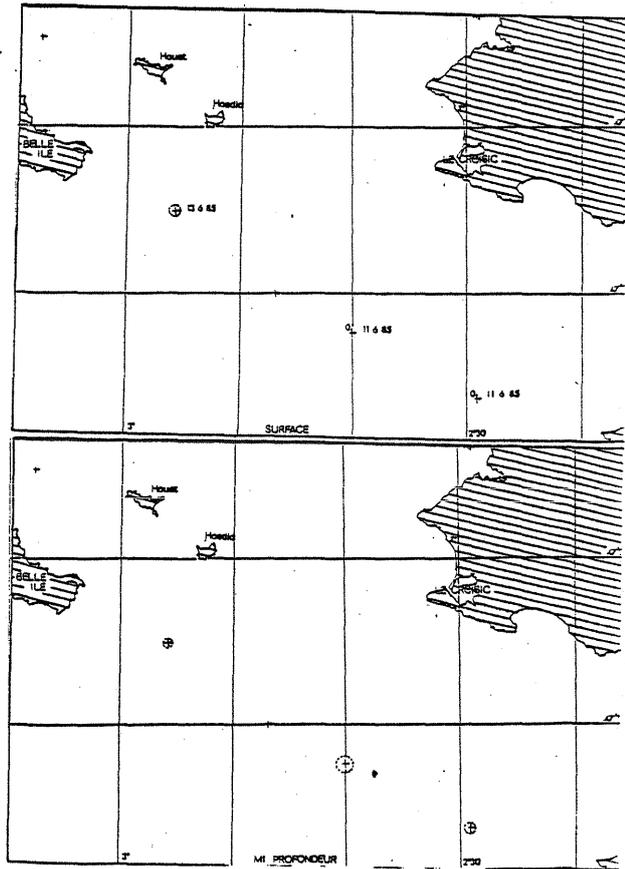


Variation des degrés de turbidité en fonction de la température et de la salinité

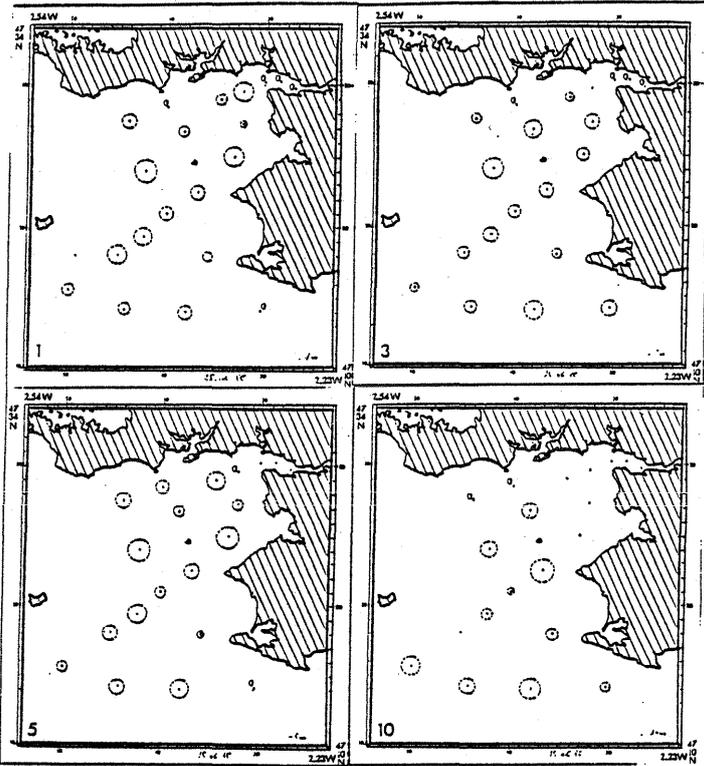




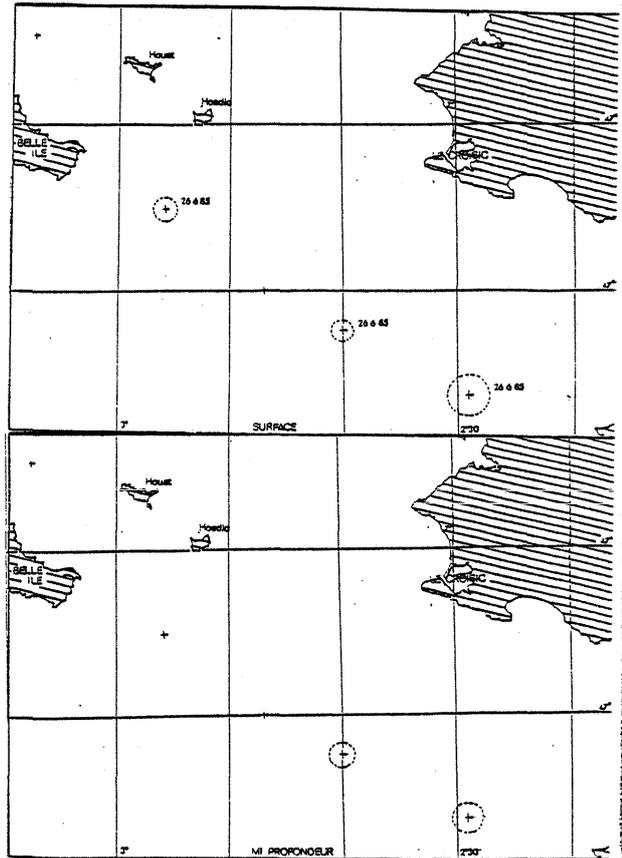
18 m 85



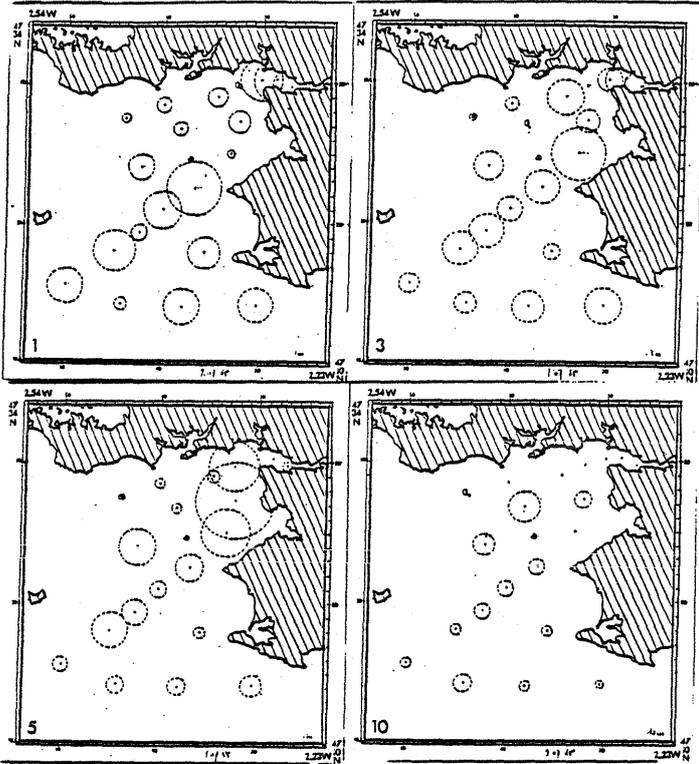
13, 5 85



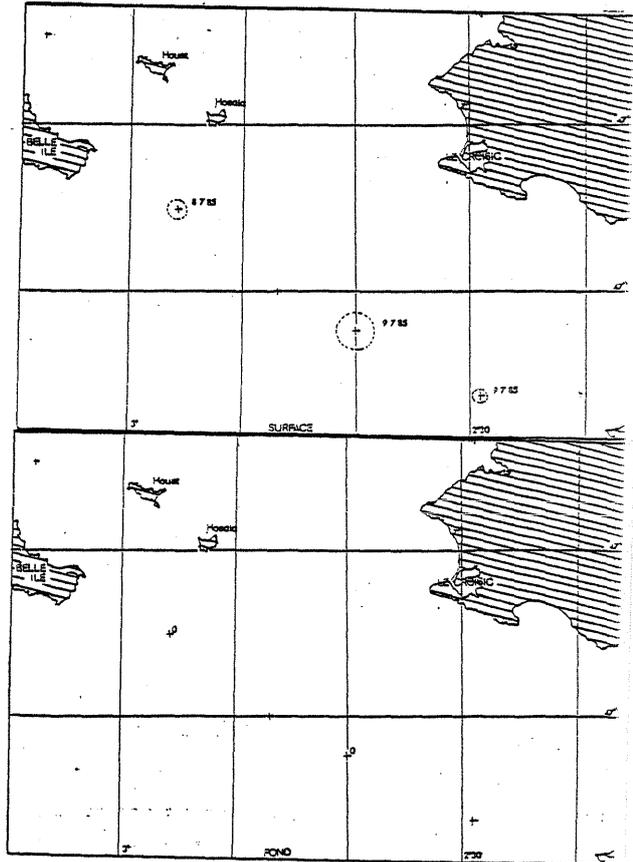
25.06.95

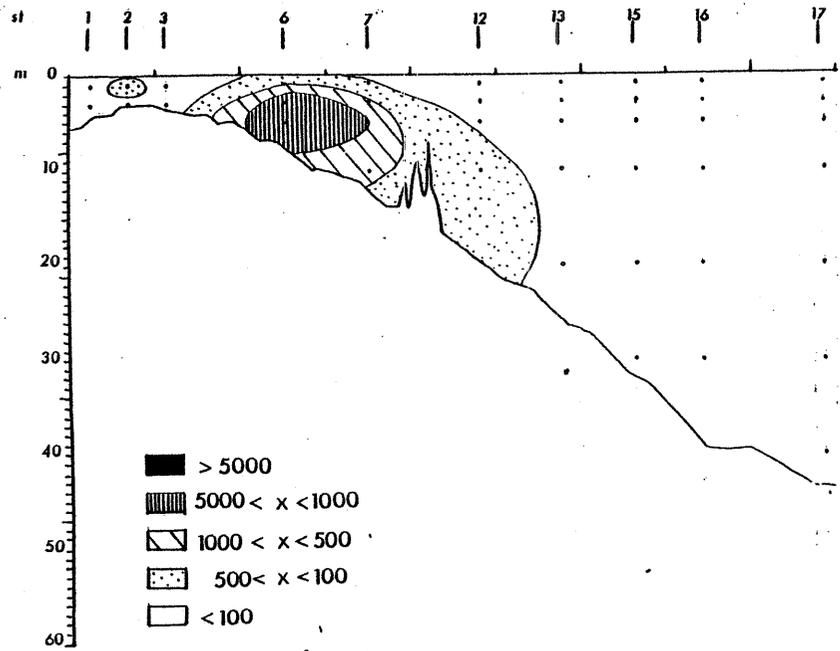


26.06.95

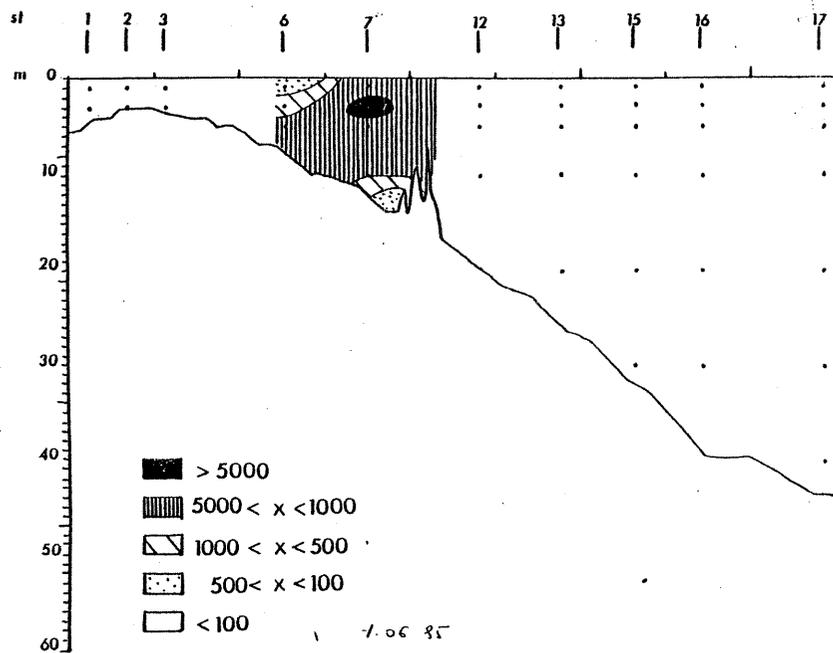
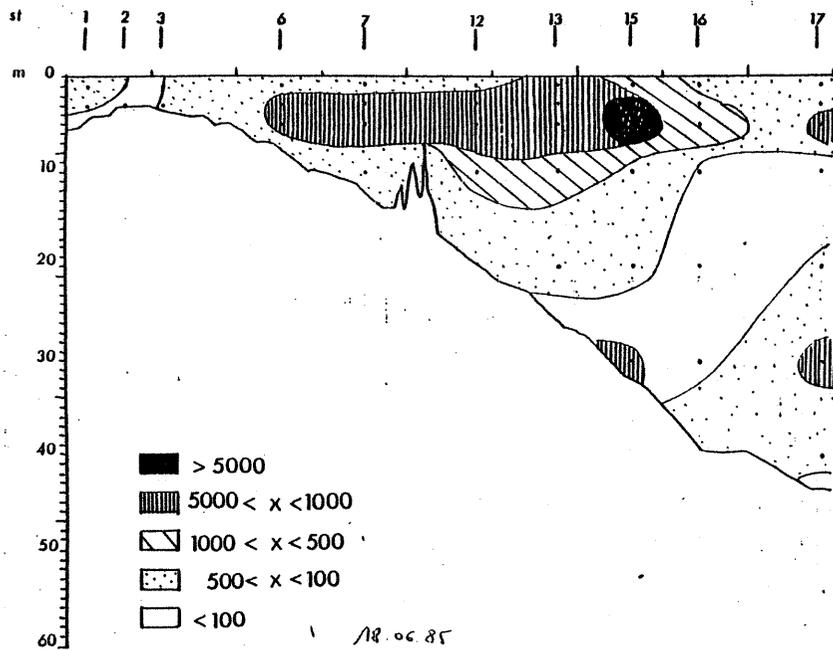


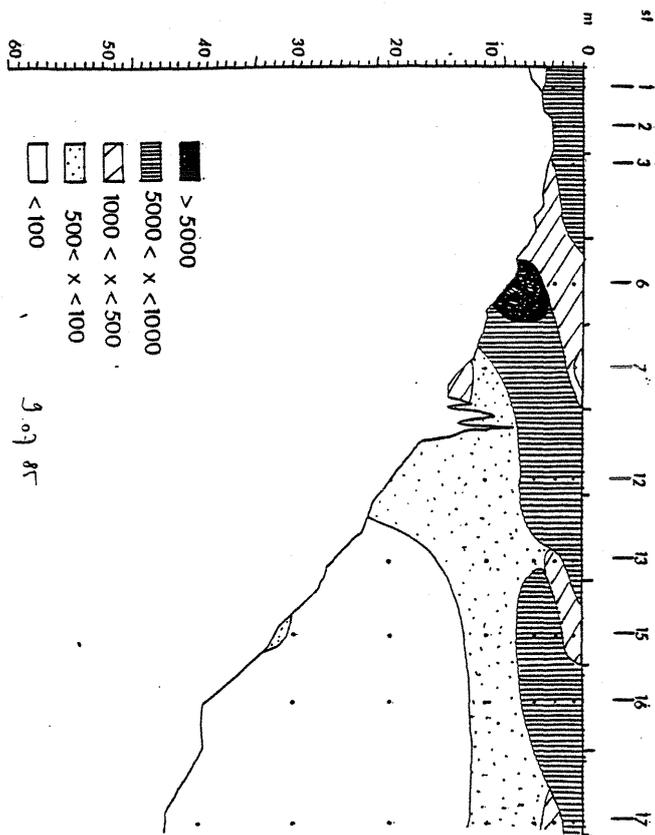
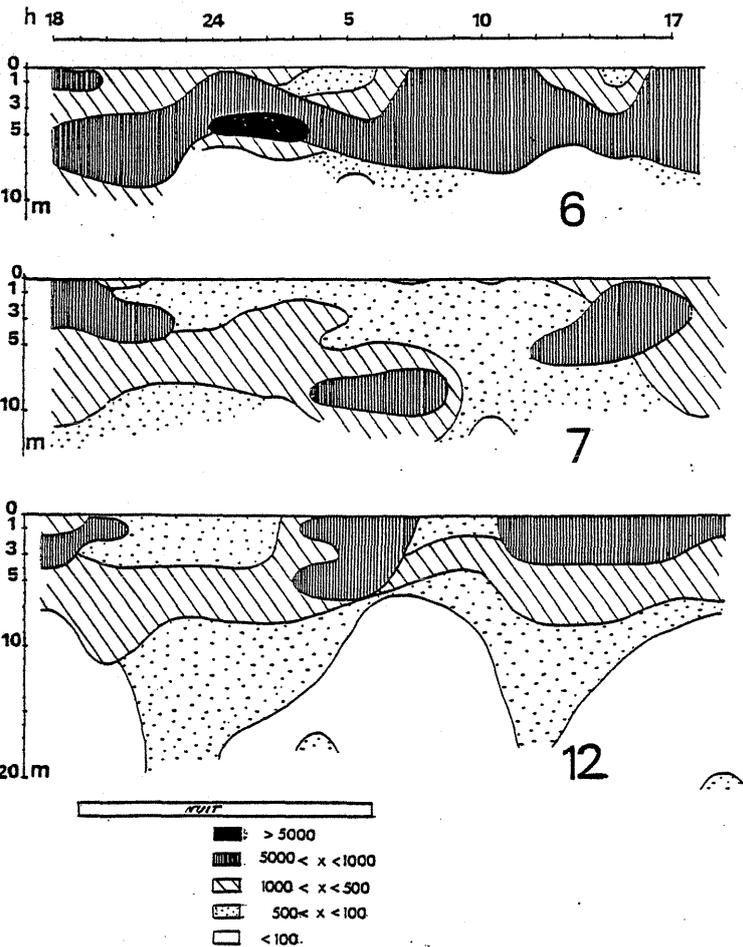
9. 4. 35

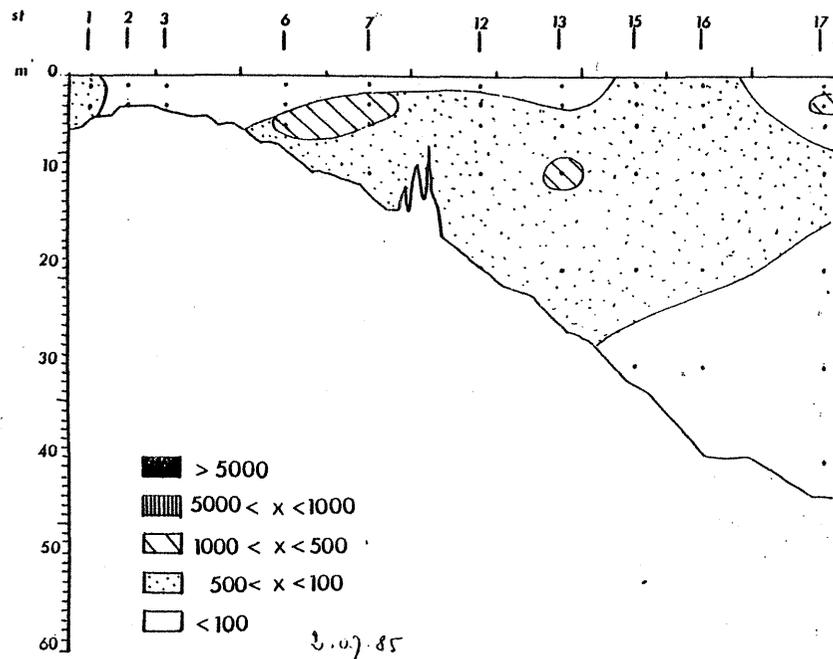
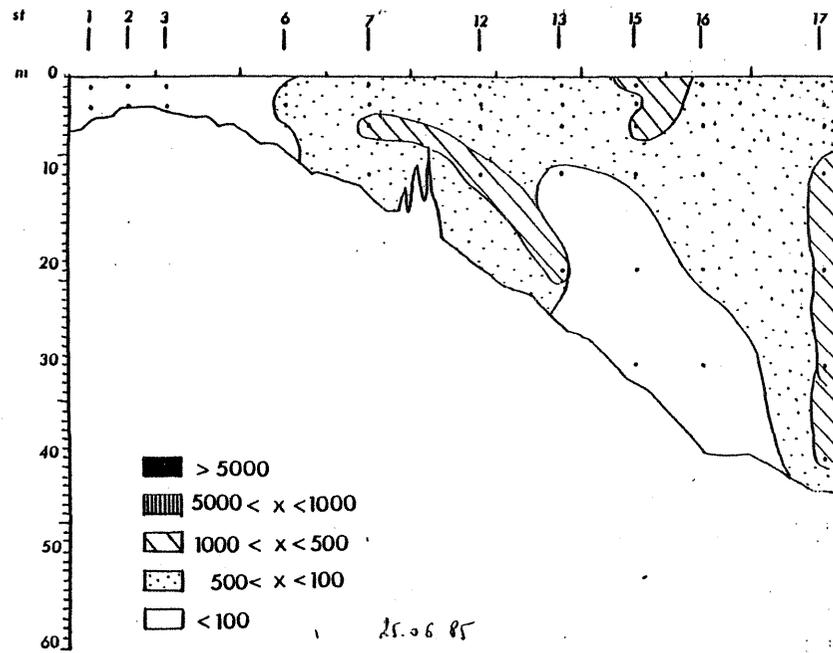




2.05.85







ROLE DES SEDIMENTS DANS LA MATURATION DES KYSTES DE DINOFLAGELLES, PAR G. ARZUL.

Comme le phénomène d'eaux colorées apparaît de façon plus ou moins régulière en certaines zones côtières, il a paru logique de voir si à l'origine de ces apparitions il n'y a pas un facteur inconnu, présent au niveau, ou à proximité des zones concernées. Or, par rapport à l'eau qui se renouvelle en permanence sous l'effet des courants, c'est le sédiment qui représenterait le mieux les caractères d'un site, car il intègre l'histoire de la masse d'eau.

La méthodologie a donc été la suivante :

- choisir des sites ayant été + régulièrement touchés par le phénomène d'eaux colorées, et quelques points apparemment épargnés jusqu'à présent (fig. 17).
- les étudier en avril, c'est-à-dire juste avant les blooms de Dinoflagellés, et en juillet quand les pics d'abondance de phyto sont passés, afin de voir s'il existe une différence permanente entre les deux types de sites choisis.
- effectuer sur un site donné, de 1 à 4 prélèvements suivant la diversité des sortes de sédiments et de situations susceptibles d'être rencontrées. Ces prélèvements ont été faits à BM à la main, ou par plongée, ou à bord d'un bateau.
- analyser dans l'eau interstitielle les sels nutritifs susceptibles d'y être relargués : NH_4 , NO_2 , NO_3 , PO_4 . Doser dans le sédiment les carbonates, le carbone et l'azote organiques, le fer et le cuivre. Déterminer la quantité d'oxygène consommable en 5 jours par le sédiment, par la respiration des organismes (DBO) et l'oxydation chimique des matières détritiques (DCO).

Les méthodes d'analyses utilisées ont été appliquées après avoir été testées quant à leur reproductibilité et leur exactitude. Il faut tenir compte de l'hétérogénéité du sédiment dans lequel la diffusion ne se fait pas facilement comme dans l'eau, à cause des phénomènes d'adsorption - désorption, et la distribution des substances a tendance à se faire suivant des taches.

Résultats :

Nous ne présentons que les résultats concernant la zone des 3 cm superficiels, car en deçà les concentrations chutent très rapidement sauf cas particuliers (fig. 18 et 19).

En avril on observe des concentrations particulièrement élevées en sels, matières organiques et métaux, dans les zones portuaires. D'une façon générale le carbone organique et l'ammoniaque ont augmenté en juillet.

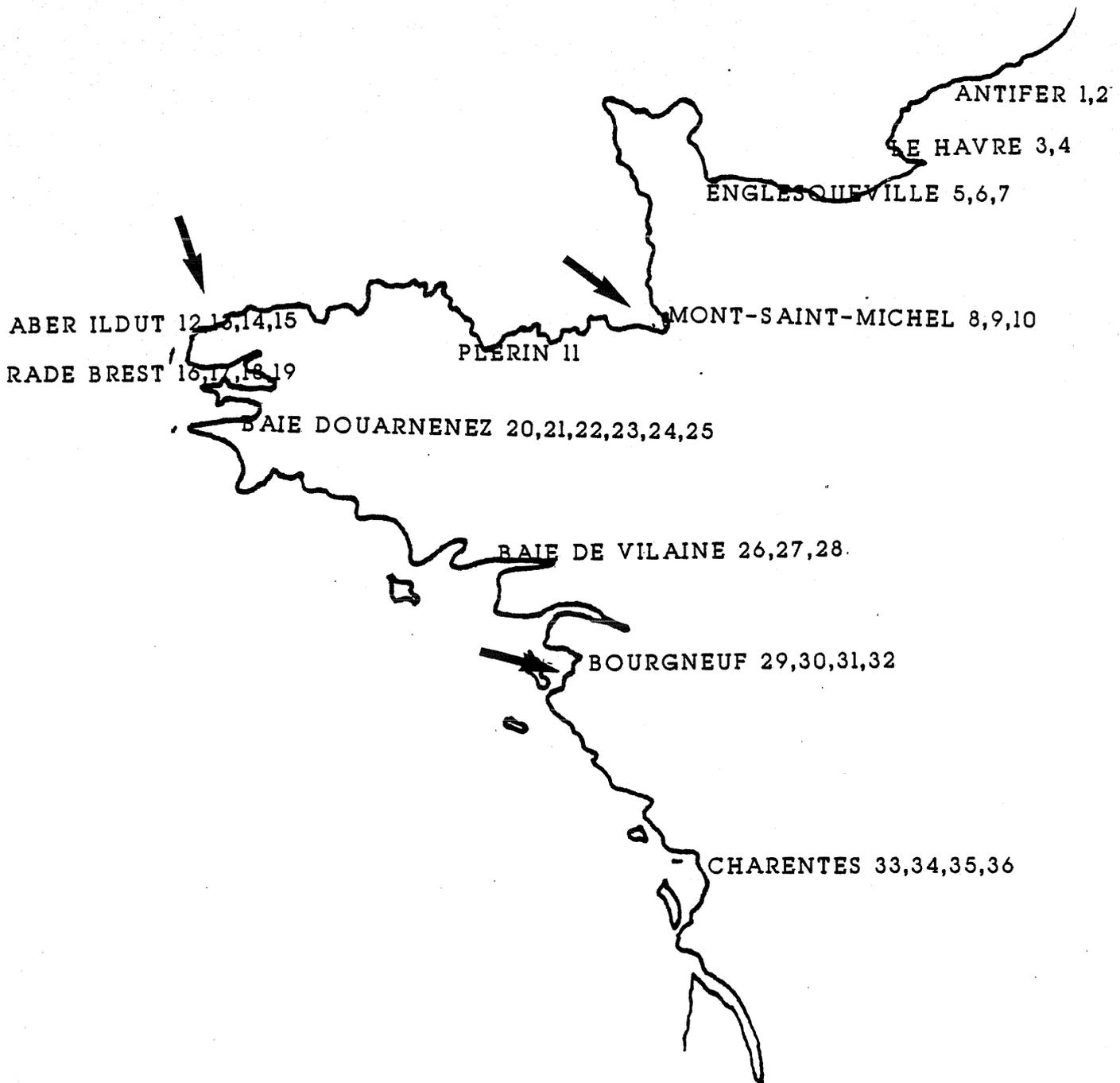
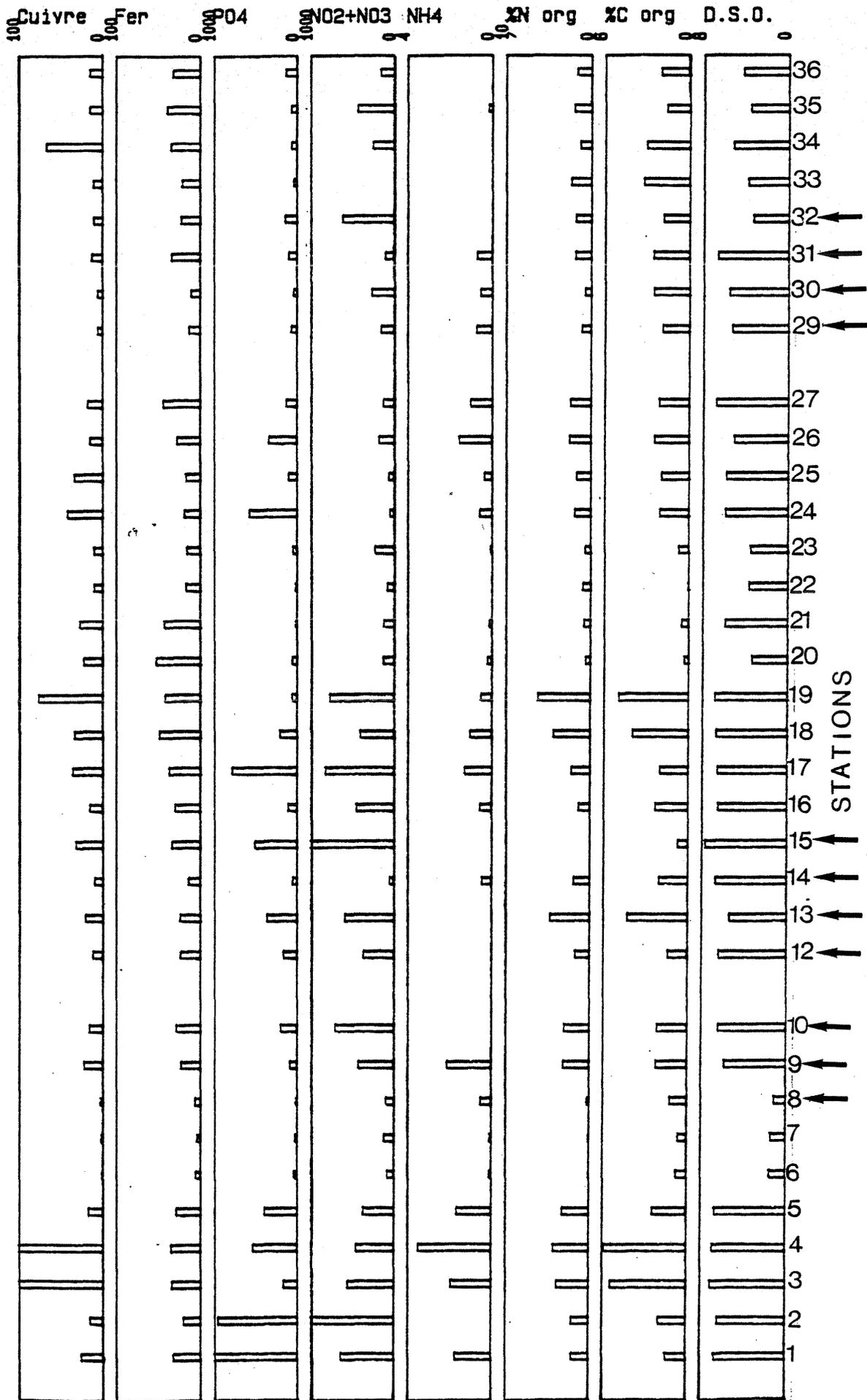


Figure 17 : Zones de prélèvements et numéros de stations.
La flèche indique les zones épargnées jusqu'à présent
par le phénomène d'eaux colorées.

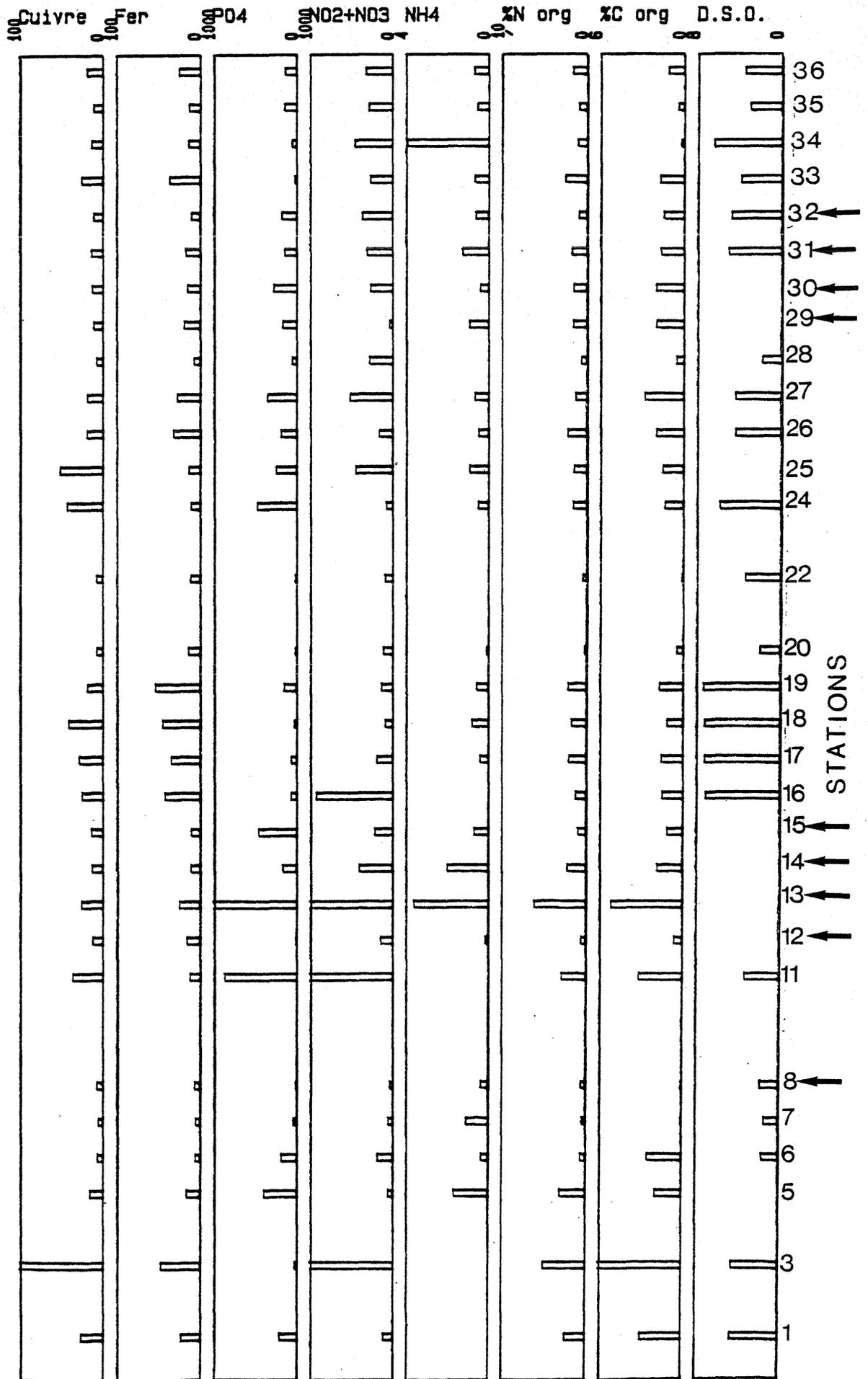
AVRIL 85

Figure 18.



JUILLET 85

Figure 19.



La moyenne du fer a diminué, celle du cuivre s'est à peu près maintenue, étant donné que la 2e station du Havre, qui présentait de très fortes valeurs a été délaissée cette fois. La chute du fer pourrait s'expliquer par sa solubilisation : quand le milieu s'appauvrit en oxygène par l'oxydation de la matière organique, le fer-ferrique, qui est précipité sous diverses formes (Fe PO_4 par exemple), se réduit en fer-ferreux, et le précipité se dissout (libérant Fe^{2+} et PO_4 par ex.).

D'après la littérature, les métaux combinés aux substances organiques, en particulier les acides humiques présents dans les matières détritiques, agissent comme des catalyseurs de respiration cellulaire, et seraient donc susceptibles d'être un facteur stimulant la croissance. Ceci a déjà été démontré pour le fer - en ce qui concerne le cuivre, on a surtout montré la levée de l'inhibition due au métal libre par sa complexation.

Nous avons essayé de voir si la composition chimique du sédiment permet de différencier les sites touchés par le phénomène d'eaux colorées.

Le cuivre apparaît comme le paramètre le plus sélectif : les sites épargnés se trouvent dans la quasi-totalité des cas, avec des concentrations en cuivre inférieures à $15 \mu\text{atg/g}$ de sédiment (fig. 20 à 23).

Dans l'ensemble, les sels nutritifs relargables ne sont pas susceptibles de provoquer une dystrophie du milieu.

Dans les cas étudiés, le cuivre et la matière organique associés pourraient être à l'origine de la maturation des kystes de Dinoflagellés contenus dans le sédiment, ou le facteur sélectif favorisant le développement de ces derniers.

AVRIL 85

$$Y = -.437 X + 2.052$$

$$R = .62$$

$$N = 33$$

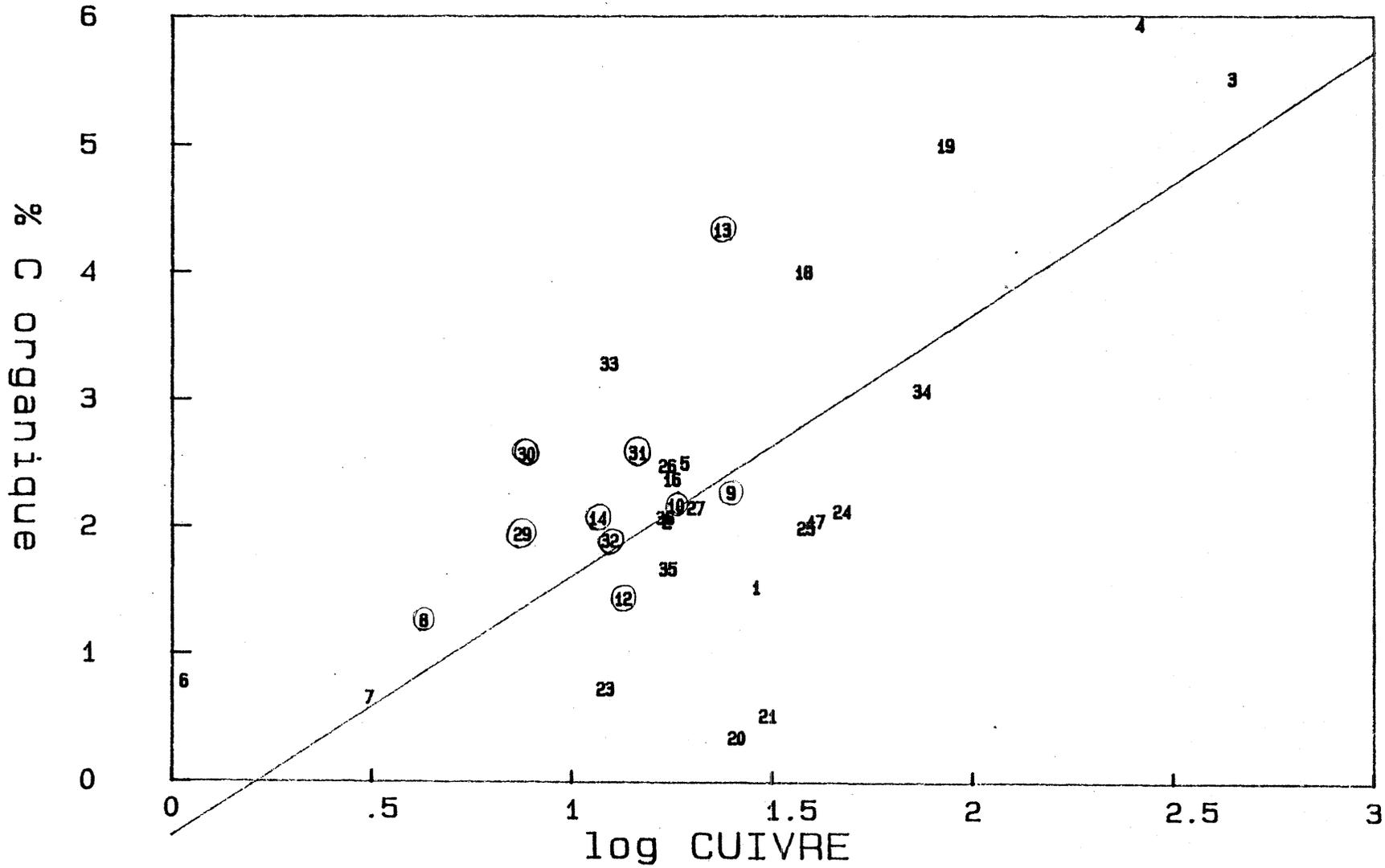


Figure 20 : 0 = stations épargnées.

JUILLET 85

$$Y = -1.767 X + 2.739$$

$$R = .67$$

$$N = 29$$

3

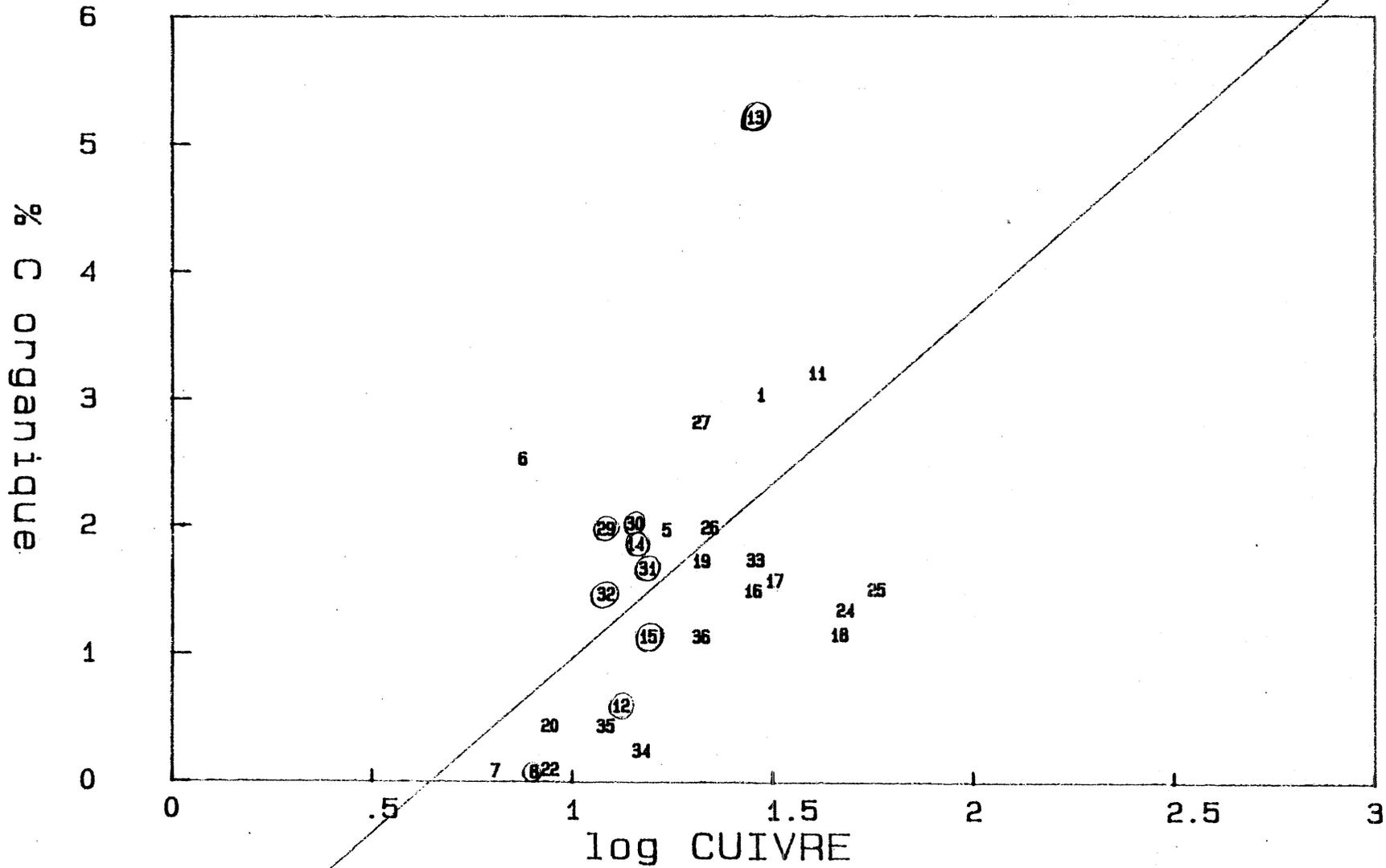


Figure 21 : O = stations épargnées.

AVRIL 85

$$Y = -.034 X + .191$$

$$R = .63$$

$$N = 33$$

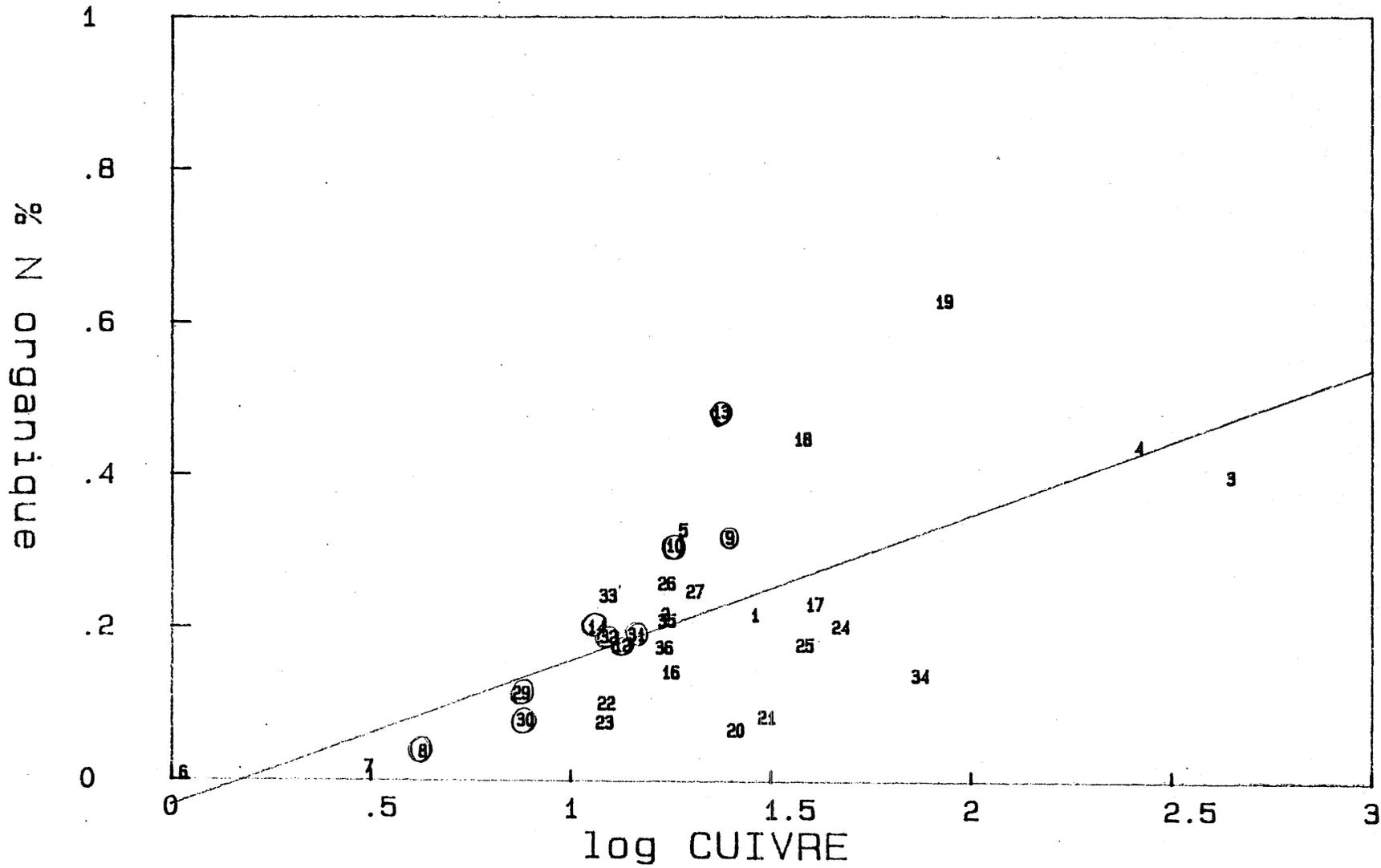


Figure 22 : 0 = stations épargnées.

JUILLET 85

$$Y = -.13 X + .237$$

$$R = .64$$

$$N = 29$$

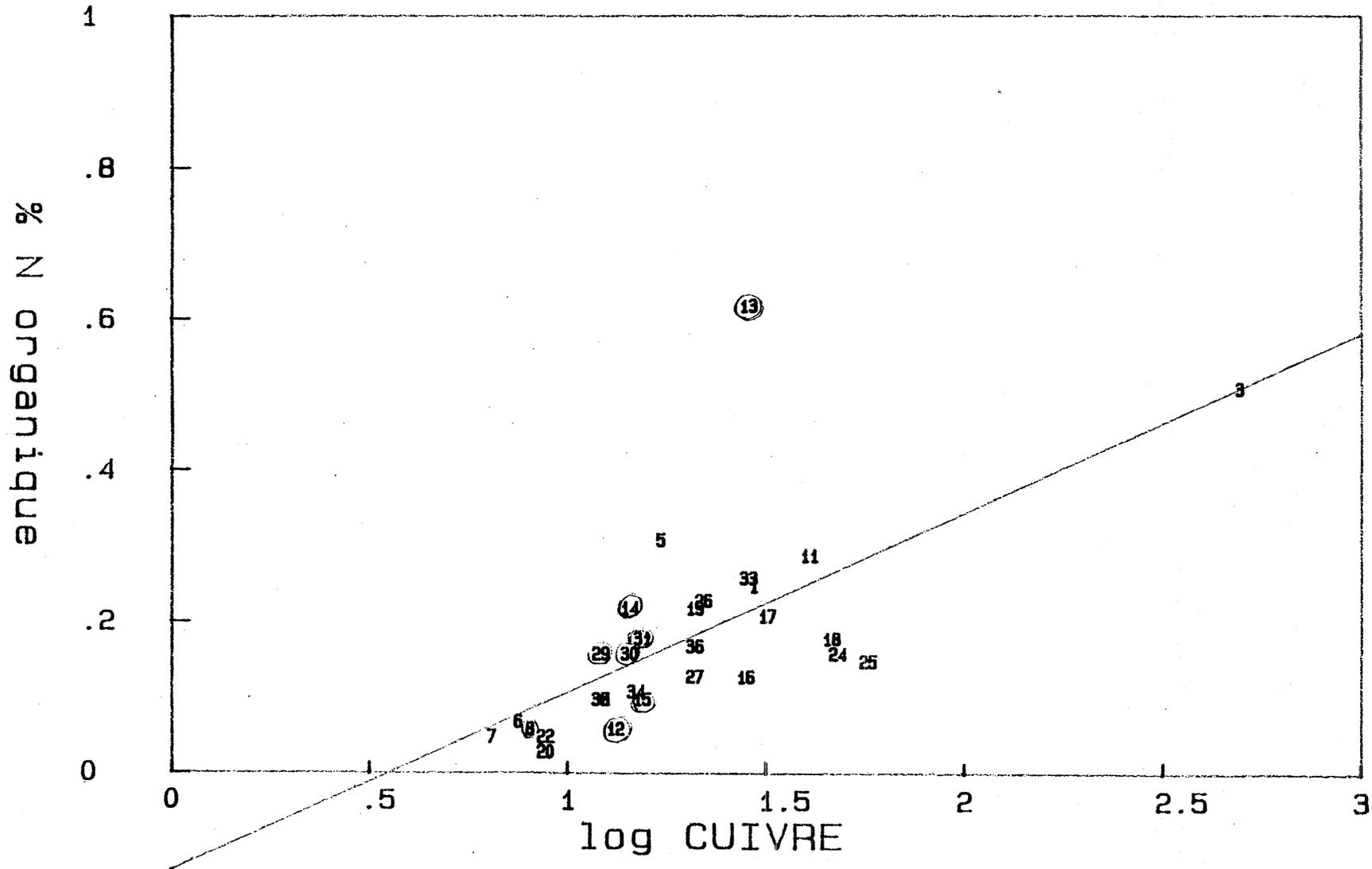


Figure 23 : 0 = stations épargnées.