

**ETUDE SUCCINCTE D'ECHANTILLONS DE BIVALVES
ET DE PHYTOPLANCTON**

P. LASSUS, C. LE BAUT, F. MONDEGUER, M . BOHEC

Nantes, novembre 1993



ETUDE SUCCINCTE D'ECHANTILLONS DE BIVALVES ET DE PHYTOPLANCTON

P. LASSUS, C. LE BAUT, F. MONDEGUER, M. BOHEC

INTRODUCTION

A la suite du stage réalisé par Geneviève Arzul dans différents laboratoires chiliens travaillant sur les microalgues toxiques, des échantillons provenant de Cochamo (estuaire de Relonarvi) ont été étudiés par le Laboratoire DEL/PN de Nantes. Il s'agissait de prélèvements phytoplanctoniques riches en *Dinophysis* et fixés au formol, ainsi que de glandes digestives d'*Aulacomya ater* conservées dans 100 ml d'acétone.

OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES

Les échantillons phytoplanctoniques ont été observés au microscope inversé, grossissement : X 400, et les cellules posées latéralement ont été dessinées directement sur l'écran du moniteur vidéo relié au microscope. Des microphotographies en microscopie électronique à balayage ont également été réalisées au grossissement : X 1 800. Ces observations sont regroupées dans deux planches hors textes. Dans la première, quelques exemplaires représentatifs des *Dinophysis* de Cochamo sont comparés avec *D. acuminata* provenant de Corée du sud et avec *D. acuminata* ? des côtes françaises, au même grossissement.

Selon Larsen et Moestrup (ICES Identification Leaflets) *D. acuminata* est une cellule plus ou moins ovale, **ronde à plutôt allongée**, 38 à 58 μm de long contre 30 à 38 μm de large, **contour régulièrement ovale**. Jorgensen (1924) trouve cette espèce "rare" en Méditerranée mais largement distribuée dans les eaux nordiques (Europe du Nord) et Balech (1976) comme Larsen et Moestrup confirment la forte variabilité infraspécifique du contour. Selon Balech, *D. acuminata* = *D. borealis* = *D. lachmanni*.

L'espèce dominante dans l'échantillon de Cochamo correspond aux dimensions données dans la littérature pour *D. acuminata*. Le contour, la longueur de l'ailette sulcale gauche et la position des épines sulcales correspondent aux descriptions de Abé (1967) mais aussi de Balech (1976) bien que ce dernier représente une épine R3 toujours arquée et dirigée vers le bas. Nous n'avons pas procédé à la dissection de la sulcale postérieure, mais d'après les travaux récents (non publiés) de nos collègues italiens de l'Université de Naples, ce caractère n'aide pas beaucoup à la diagnose du "groupe *acuminata*" ou du "groupe *sacculus - pavillardii*". Ce qui est certain c'est que le spécimen chilien ne peut être considéré comme *D. pavillardii* ou *D. sacculus* car la suture dorsale n'est jamais concave ou droite. Il est relativement proche - par la taille - du *D. acuminata* (supposé) des côtes françaises (hors texte 1) bien que plus arrondi, mais il est nettement plus large que *D. acuminata* des côtes coréennes.

Cependant, la différence de taille et de contour des *D. acuminata* européens et asiatiques (Japon/Corée) est quasi constante.

L'examen des planches photographiques (hors texte 2) montre une thèque à fine porosité, ce qui est également le cas des spécimens français, que ce soit pour *D. acuminata* ou pour *D. cf. acuminata* des côtes normandes. La taille de l'ailette sulcale droite correspond aux dessins de Abé.

En résumé, il semble bien que l'on soit en présence d'une espèce très proche, sinon identique à *D. acuminata*. Des examens par d'autres phytoplanktonologistes sont néanmoins nécessaires pour le confirmer, compte tenu de la variabilité morphologique inhérente à l'espèce. On pourrait en attendant l'appeler *D. cf. acuminata*.

ANALYSES DES GLANDES DIGESTIVES

L'acide okadaïque et la DTX1 ont été recherchés dans les quatre échantillons fournis, par la méthode de Lee *et al.* (1987).

Extraction : Après broyage des tissus dans l'acétone et évaporation du solvant, le résidu est repris dans une solution de méthanol à 80 %. L'élimination des composés peu ou non polaires est obtenue par deux lavages de cette phase avec un volume égal d'hexane. Puis par une extraction liquide/liquide, les toxines sont récupérées dans du dichlorométhane. Les volumes utilisés respectent les proportions données par la méthode de Lee *et al.* Un volume de dichlorométhane correspondant à 1 g de glande digestive est utilisé pour la dérivatisation et la purification par Sep-pack.

Dérivatisation : Après évaporation du solvant, on ajoute 100 µl d'une solution méthanolique d'ADAM à 0,1 % puis on laisse à température ambiante à l'obscurité toute la nuit. Enfin, on procède à l'élimination des impuretés du réactif par trois éluions successives sur une petite colonne de silice déjà préparée (Sep-pack Silice - Waters - ref. 51900) avec les trois mélanges de solvant suivant : Hexane / chloroforme (50/50), chloroforme pur, chloroforme / méthanol (95/5) dont seul le dernier contient les composés recherchés. On met à sec cette troisième phase, on la dissout dans 100µl de méthanol pur et on injecte un aliquot de cette solution dans l'HPLC.

Conditions chromatographiques :

Phase mobile Acétonitrile / Eau (80/20)

Colonne : phase inverse C18 (250/4) (100 RP 18)

Température four : 35° C

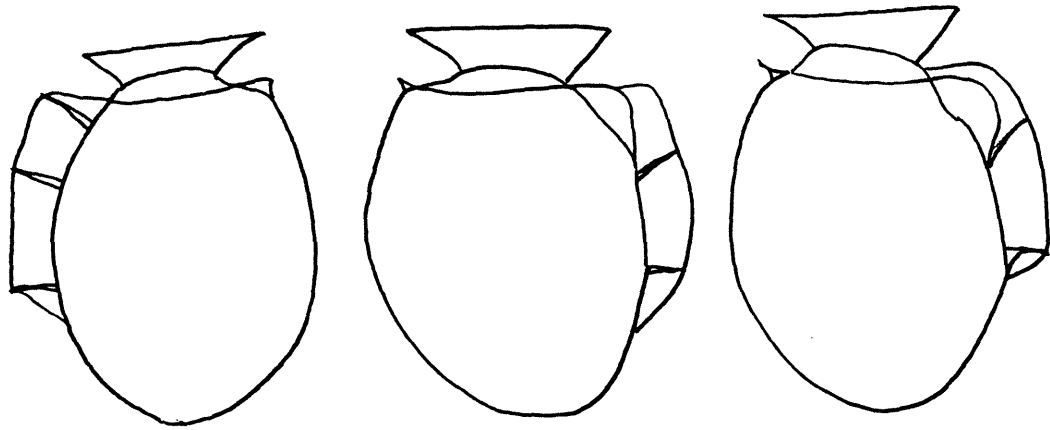
Vitesse : 1,10 ml/mn

Pression : 105 - 110 bars

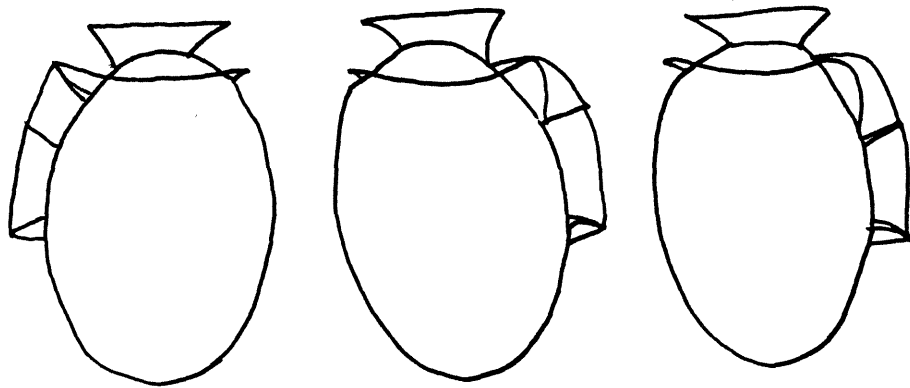
Résultats récapitulés (analyses du 28 juillet 1993)

Etalonnage (réduit)			Echantillons		
Quantité injectée (ng)	Aire Pie Unité arbitraire		N°	Aire Pie	Concentration
				Acide okadaïque	Acide okadaïque
AO	1	43 680	P 27	0	0
	2	96 909	A 27	0	0
	5	243 901	A 17	0	0
	10	455 352	G	0	0
	20	1 064 425			
	40	2 136 275			
				DTX1	DTX1
DTX1	5	398 248	P27	0	0
	10	774 913	A 27	0	0
	15	1 252 517	A 17	0	0
	20	1 783 105	G	0	0

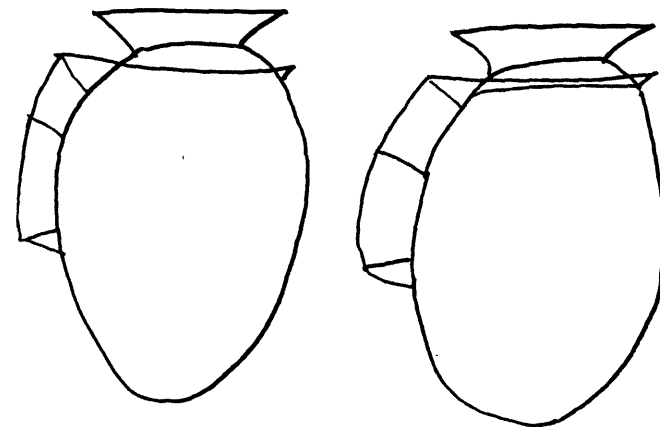
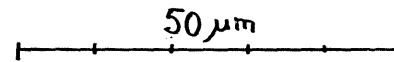
Les échantillons ne contiennent ni acide okadaïque, ni dinophysistoxine 1.



Cochamo - Relonarvi Estuary 27.04.93 CHILE

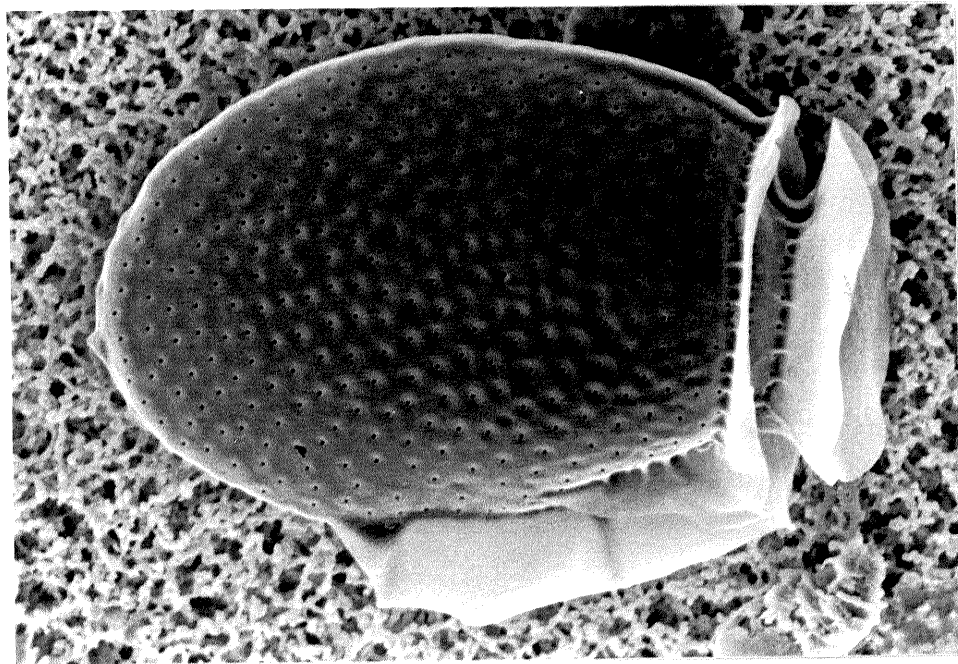


Chinhae Bay SOUTH KOREA. 1989



Atlantic coasts FRANCE 1985-1989.

PHOTO M. BARDOUIL IFRÈNER Nantes.



10 μ m

