

DYNAPSE

DYNAmiques des efflorescences et de
la toxicité des espèces phytoplanctoniques
nuisibles du genre PSEudo-nitzschia
en région Loire-Bretagne



DYNAmiques des efflorescences et de la toxicité
des espèces phytoplanctoniques nuisibles
du genre PSEudo-nitzschia en région
Loire-Bretagne

Fiche documentaire

Numéro d'identification du rapport : Diffusion : libre : <input checked="" type="checkbox"/> restreinte : <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/> Validé par : Annie Chapelle Adresse électronique : Annie.Chapelle@ifremer.fr	date de publication : 2013 nombre de pages : 57 bibliographie : oui illustration(s) : graphes et tableaux langue du rapport : Fr
Titre de l'article DYNAMIQUES des efflorescences et de la toxicité des espèces phytoplanctoniques nuisibles du genre <i>PSEUDO-nitzschia</i> en région Loire-Bretagne	
Contrat n° Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/> Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/>	
Auteur(s) principal(aux) : Catherine Belin Annie Chapelle Daniel Delmas Elisabeth Nézan Raffaele Siano	Organisme / Direction / Service, laboratoire IFREMER ODE Dyneco Pelagos
Cadre de la recherche : Convention AELB – Ifremer pour une étude sur l'importance des blooms de <i>Pseudo-nitzschia</i> et des toxicités associées en zone Loire – Bretagne – n° de dossier 120169801	
Destinataire : AELB 1 rue Eugène Varlin CS 40521 44105 Nantes Cedex 4	
Résumé <p>Les efflorescences de la diatomée <i>Pseudo-nitzschia</i> sont largement répandues sur les côtes Manche-Atlantique depuis une trentaine d'années (source RePHY). Depuis les années 2000 elles y sont parfois associées des événements toxiques du type ASP (Amnesic Shellfish Poisoning) qui perturbent grandement les pêcheries de coquillages et notamment celles de coquilles Saint Jacques. Les efflorescences et toxicités liées aux <i>Pseudo-nitzschia</i> sont des phénomènes en augmentation sur les côtes françaises mais aussi mondialement. Le genre <i>Pseudo-nitzschia</i> comprend plusieurs espèces très difficiles à identifier en routine or certaines sont toxiques et d'autres pas. Les facteurs environnementaux abiotiques et biotiques contrôlent à la fois la croissance des microalgues mais également leur toxicité. A cette complexité s'ajoute un temps de décontamination très long des coquilles Saint Jacques qui met en péril les flottilles de pêche côtière et a, pour certaines zones, entraîné une création d'une filière de décorticage.</p> <p>Il est urgent aujourd'hui, aussi bien pour les scientifiques que pour les gestionnaires et professionnels et du milieu marin, d'arriver à comprendre comment se produisent les toxicités liées à <i>Pseudo-nitzschia</i>, quelles sont les espèces qui en sont responsables et quels facteurs les favorisent.</p>	
Mots-clés Algues toxiques – <i>Pseudo-nitzschia</i> – Toxicité des coquillages – Pêcheries – Facteurs environnementaux	

Table des matières

Introduction.....	3
1. État de l’art des connaissances sur <i>Pseudo-nitzschia</i> et sa toxicité	4
Analyse bibliographique.....	4
1.1 Historique des contaminations associées à <i>Pseudo-nitzschia</i>	4
1.2 Qui est <i>Pseudo-nitzschia</i> ?.....	5
1.3 Distribution et écologie des <i>Pseudo-nitzschia</i>	8
1.4 Toxicité et facteurs environnementaux	10
2. Historique des blooms et de leur toxicité sur la région Loire Bretagne. Évaluation de leur impact sur les activités de pêche et de conchyliculture	12
2.1 Le Réseau REPHY et ses objectifs	12
2.2 Historique des blooms par analyse des données REPHY en région Loire-Bretagne.	13
2.2.1 Diversité des <i>Pseudo-nitzschia</i> en zone Loire-Bretagne.....	13
2.2.2 Concentrations cellulaires : maxima annuels et mensuels, seuils d’alerte	14
2.3 Historique des épisodes de toxicité par analyse des données REPHY et conséquences sur les fermetures en région Loire-Bretagne.....	16
2.3.1 <i>Pseudo-nitzschia</i> et ASP	16
2.3.2 Toxines ASP : répartition et coquillages touchés	17
2.4 Impact des événements toxiques à <i>Pseudo-nitzschia</i> sur les activités professionnelles.....	19
2.4.2 Quelques éléments de la presse	22
3. Les nouveaux enjeux scientifiques liés à la problématique <i>Pseudo-nitzschia</i>	24
3.1 <i>Pseudo-nitzschia</i> dans le contexte national (organisation d’une réunion avec les laboratoires de recherche impliqués sur <i>Pseudo-nitzschia</i>).....	24
3.2 <i>Pseudo-nitzschia</i> dans le contexte international (participation à un congrès international sur les algues toxiques).....	26
3.3 Proposition d’un projet de recherche sur l’écologie et la prédiction des blooms toxiques de <i>Pseudo-nitzschia</i>	31

DYNAPSE

DYNAmiques des efflorescences et de la toxicité des espèces phytoplanctoniques nuisibles du genre *PSEUDO-nitzschia* en région Loire-Bretagne

Introduction

Depuis une trentaine d'années le littoral français est touché par des intoxications dues à la consommation de coquillages contaminés par des microalgues toxiques. Ces micro-algues sont capables de synthétiser des métabolites secondaires toxiques qui sont libérés puis accumulés par les consommateurs primaires (les organismes marins) dont elles constituent une part importante de leur nourriture. Ce stockage les rend alors impropres à la consommation. Ainsi des mollusques bivalves marins, des poissons phytophages et des crustacés peuvent se révéler toxiques en cas de consommation par l'homme. Ces blooms de micro-algues toxiques sont présents partout dans le monde et en nette augmentation ces dernières décennies.

En France, sont apparues dans les années 80 des intoxications de type diarrhéique causées par les dinoflagellés du genre *Dinophysis*. Puis ce fut, à la fin des années 80, des blooms d'*Alexandrium* (dinoflagellés) entraînant des intoxications de type paralysant, pouvant être mortelles. Enfin, depuis 2000, la présence des toxines de type amnésiant produites par des diatomées du genre *Pseudo-nitzschia* sont retrouvées également dans les coquillages.

Le genre *Pseudo nitzschia* est connu pour proliférer à des concentrations importantes, formant des blooms qui sont observés tous les ans au printemps sur l'ensemble du littoral français. Ce genre comporte de nombreuses espèces, dont quelques-unes produisent des phycotoxines appartenant à la famille des toxines amnésiantes dont l'acide domoïque. L'acide domoïque est une neurotoxine responsable chez les êtres humains du syndrome ASP (Amnesic Shellfish Poisoning), caractérisé par des troubles gastro-intestinaux (vomissements, diarrhée, crampes abdominales) suivis de symptômes neurologiques dont certains peuvent être permanents (amnésie) et conduire au coma, voire au décès. L'acide domoïque s'accumule aussi le long de la chaîne trophique et peut causer des troubles et des mortalités chez les prédateurs supérieurs (phoques, baleines, oiseaux de mer,...). Les premiers épisodes français de contamination ASP des coquillages clairement attribuables à *Pseudo nitzschia* ont été observés en 2000 en Bretagne ouest, et se renouvellent régulièrement depuis cette date dans certaines zones de l'ouest et du sud-Bretagne, contaminant en particulier durablement les coquilles Saint Jacques. Ces toxines ASP sont également susceptibles d'être néfastes pour les animaux marins eux mêmes, mais à des concentrations très importantes qui n'ont jamais été rencontrées en France à l'heure actuelle. L'étude de *Pseudo nitzschia*, de sa distribution spatio-temporelle, de la répartition des différentes espèces (toxiques et non toxiques), et des conditions de prolifération, est donc un enjeu majeur à la fois pour la santé publique, la gestion des pêcheries de coquilles, voire pour l'écosystème dans son ensemble si les concentrations en toxines venaient à augmenter de façon importante.

Les objectifs de cette étude sont de dresser un bilan des connaissances scientifiques sur *Pseudo-nitzschia* et sa toxicité (chapitre 1), d'évaluer l'impact des occurrences de *Pseudo-nitzschia* et des événements toxiques sur le littoral Loire-Bretagne (chapitre 2), puis de faire émerger les nouveaux enjeux de recherche associés à la problématique *Pseudo-nitzschia* (chapitre 3).

1. État de l'art des connaissances sur *Pseudo-nitzschia* et sa toxicité

Analyse bibliographique

1.1 Historique des contaminations associées à *Pseudo-nitzschia*

Les premiers cas dans le monde de toxicité associée au genre *Pseudo-nitzschia* ont été identifiés en 1987, suite à de sévères intoxications liées à la consommation de moules récoltées près de l'Île-du-Prince-Édouard, à l'Est du Canada (Bates et al., 1998). Le syndrome ASP est lié à la production d'une neurotoxine, l'acide domoïque produite par des espèces du genre *Pseudo-nitzschia* (Wright et al., 1989). Depuis ce premier incident, différentes aires géographiques ont été touchées par des efflorescences toxiques d'espèces du genre *Pseudo-nitzschia*. La majorité d'entre elles ont été observées en Amérique du Nord (Californie, Washington, Baie de Fundy, Colombie Britannique) (Hallegraeff, 2003) alors que d'autres ont été décelées en Europe, notamment en Espagne (Miguez et al., 1996), Écosse (Campbell et al., 2001 ; Gallacher et al., 2001 ; Fehling et al., 2004) et Irlande (Cusack et al., 2002).

Pseudo-nitzschia aurait inspiré A. Hitchcock pour son film «Les oiseaux», (Bargu S. et al, 2012, Nature)

The image shows a newspaper article snippet. At the top left, there is a green bar with the word 'correspondence' in white. Below it, the title 'Mystery behind Hitchcock's birds' is displayed in a large, bold font. The main text of the article is in a smaller font and is arranged in three columns. The first column starts with 'To the Editor—On 18 August 1961, a Californian newspaper reported that thousands of "crazed seabirds pelted the shores of North Monterey Bay, California" regarding anchovies. Soon after reading the report (Supplementary Fig. S1), local visitor Alfred Hitchcock was inspired to produce his famous thriller *The Birds*. Three decades later, in 1991, another mass poisoning occurred in the same area — this time, of fish-eating, disoriented and dying brown pelicans. But on this occasion the culprit was identified: the pelicans had ingested domoic acid, a neurotoxin that is produced by the diatom *Pseudo-nitzschia*. Large quantities of this diatom, and the associated toxin, were found in the stomachs of fish in the region. It has been suggested that diatom-generated domoic acid was also responsible for the 1961 event, but direct evidence has been lacking. Here we show that plankton samples from the 1961 poisoning contained toxin-producing *Pseudo-nitzschia*, supporting the contention that these toxic diatoms were responsible for the bird frenzy that motivated Hitchcock's thriller. Algal toxins such as domoic acid are increasingly recognized as the cause of marine poisoning events. Domoic acid is a chemical analogue of glutamate and, as such, binds with high affinity to glutamate receptors in the brain. When domoic acid passes through the blood-brain barrier and binds to these receptors in birds and mammals, it causes symptoms such as confusion, disorientation, scratching, seizures, coma and even death. Over the past decade, Monterey Bay, a productive coastal environment in the California Current upwelling system, has been affected by recurrent blooms of *Pseudo-nitzschia* species that produce domoic acid. These blooms have led to the death or stranding of brown pelicans, Brandt's cormorants and sea-lions¹. Although *Pseudo-nitzschia* has resided in the waters off California for millennia, domoic acid was only detected in diatoms in the region in 1991². Prior to this, episodes of seabird mortality off the shores of California were attributed to other factors such as fog, infectious diseases, oil spills and fishing practices³. One such event was that involving the influx of disoriented sealions into Monterey Bay in the summer of 1961, which entered into cinematic history. Sooty shearwaters, *Puffinus griseus*, are common visitors to Monterey Bay. These birds travel from their breeding grounds in the south-west Pacific to the productive waters of the north-west Pacific, including the California Current, during the summer and early autumn to feed⁴. In Monterey Bay,

Le 18 août 1961 un journal Californien rapporte que des milliers d'oiseaux de mer comme fous ont envahi le rivage de la baie de Monterey. Cet incident aurait inspiré A. Hitchcock 30 ans plus tard : un bloom toxique à *Pseudo-nitzschia* avait entraîné des contaminations de Pélicans, causant à la fois un comportement anormal et des mortalités... Des échantillons conservés de 1961 ont montré la présence d'acide domoïque, produit par les *Pseudo-nitzschia*.

En France, c'est en 1999, pour la première fois, puis en 2000 que *P. multiseriata* et *P. pseudodelicatissima* furent identifiées comme étant associées à la présence d'acide domoïque dans les coquillages en provenance de Bretagne, de Charente maritime et de Méditerranée (Amzil et al., 2001). La concentration maximale en acide domoïque relevée en 1999 était de 3,2 µg/g contre 53 µg/g de chair en 2000, soit pour cette dernière une teneur supérieure au seuil de sécurité sanitaire (20 µg/g de chair de coquillage) fixé par la Directive 97/61/CE du 20 octobre 1997. *P. calliantha* a été identifiée comme étant responsable des contaminations de tellines en 2006 en Méditerranée. Cette espèce était déjà connue pour être présente dans cette région depuis 2001 au moins mais était désignée sous le nom de *P. pseudodelicatissima* jusqu'à ce que Lundholm et al (2003) les distinguent. En automne 2004, des concentrations en acide domoïque également supérieures au seuil ont été notées dans des coquilles Saint-Jacques (*Pecten maximus*) en Baie de Seine (Manche), conduisant à la prise d'arrêtés préfectoraux interdisant toute activité de pêche, de ramassage ou de vente de produits conchylicoles. Il en a été de même en rade de Brest en hiver 2004, 2005, 2007, 2008 et 2009. *Pseudo-nitzschia multiseriata* et *P. australis* ont été suspectées d'être les principales sources de ces contaminations (Nézan et al, 2006). En mars 2010, un bloom de *P. australis* au niveau des « Pertuis Charentais », en Bretagne Sud, a été associé à des teneurs en acide domoïque plus de 10 fois supérieures au seuil de sécurité sanitaire (Nézan et al, 2010). En France, la Baie de Seine et la région Loire-Bretagne sont particulièrement touchées par ces événements toxiques, un historique des proliférations de *Pseudo-nitzschia* et de contamination ASP est présentée pour la région Loire-Bretagne au chapitre 2.

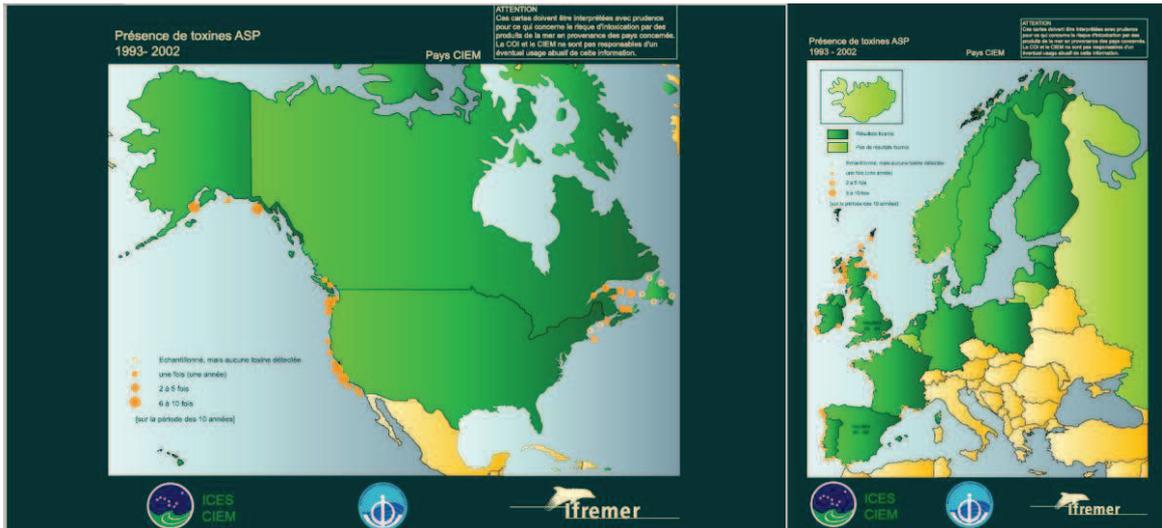


Figure 1 : Répartition des toxines ASP en Europe et Amérique du Nord de 1993 à 2002
(source <http://envlit.ifremer.fr/>)

1.2 Qui est *Pseudo-nitzschia* ?

Le genre *Pseudo-nitzschia* appartient à la classe des Bacillariophyceae (ou diatomées). Il est représenté par des cellules de formes allongées, associées les unes aux autres par leurs extrémités pour former des chaînes. Les observations réalisées au microscope optique ne permettent pas toujours d'identifier les espèces. Par convention, on a divisé le genre en deux grands groupes sur la base de la morphologie observée dans les analyses de routine en microscopie optique : le complexe *P. delicatissima* avec les espèces dont la largeur valvaire est inférieure à 3 μm (ou groupe des fines), et le complexe *P. seriata* comprenant celles ayant une largeur valvaire supérieure à 3 μm (ou groupe des larges) (Hasle 1965). Les espèces *P. australis*, *P. pungens*, *P. multiseriata* appartiennent au complexe *P. seriata* (figure 2).

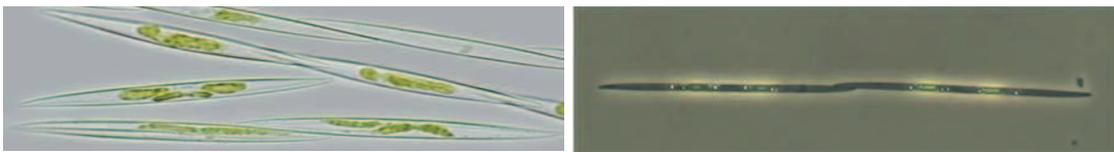


Figure 2 : Micrographies au microscope optique d'une espèce du groupe *seriata* groupe des larges (gauche) et du groupe *delicatissima*, groupe des fines (droite)

En tant que diatomées, les *Pseudo-nitzschia* sont constituées de deux valves de silice qui forment une paroi externe, appelée le frustule. Il est orné de côtes ou interstries et de stries de pores en nombre plus ou moins important, il présente un raphé et parfois un nodule central (figure 3). La forme et l'ultrastructure (nombre d'interstries et de pores, ...) sont utilisées pour distinguer les différentes espèces au sein des complexes. Ces observations demandent un temps d'analyse important et des compétences en taxinomie du phytoplancton.

Des approches alternatives d'identification plus rapides, notamment avec des méthodes de biologie moléculaire, sont aujourd'hui utilisées pour la recherche et envisageables dans le futur pour rendre la surveillance plus efficace. La diversité du genre *Pseudo-nitzschia* d'un point de vue génétique reste néanmoins complexe. Par exemple le degré de variation génétique observé entre les espèces du complexe *P. seriata* est plus important que celui retrouvé entre les espèces appartenant au complexe *P. delicatissima* (Lundholm et al, 2006).

Effectivement, les espèces du complexe *P. delicatissima* sont phylogénétiquement très proches, ce qui pose un problème pour discriminer ces différentes espèces par des techniques de biologie moléculaire.

D'autant plus qu'il peut exister une importante variabilité génétique entre des souches d'une même espèce. C'est le cas pour l'espèce *P. delicatissima* (Lundholm et al, 2006, (figure 4).

<i>Pseudo-nitzschia</i> species name:	<i>Seriata</i> complex					<i>Delicatissima</i> complex		
	<i>australis</i> *	<i>pungens</i> *	<i>multiseries</i> *	<i>fraudulenta</i> **	<i>heimii</i> **	<i>P. sp. (sigmoid)</i>	<i>turgidula/ delicatissima</i> *	<i>pseudo-delicatissima</i> *
Typical whole cell outline								
Range (µm): length width	70 - 84 (75-144) 4.6-7.2 (6.5-8.0)	75 - 106 (74-142) 1.5 - 3.8 (2.9-4.5)	55 - 70 (68-140) 3.5 - 4.5 (3.4-5.0)	60 - 72 (64-111) 4.5 - 7.2 (4.5-6.5)	37 - 95 (67-120) 2.5 - 3.6 (4.0-6.0)	59 - 63 2.5 - 3.0	29 - 80 (40-76) 1.0 - 2.0 (1.0-2.0)	55 - 76 (59-140) 1.8 - 2.0 (1.3-2.5)
EM of central section of frustule								
EM of frustule tip								
Lectin binding:								
PHA	-	-	-	+	-	-	-	-
PEA	+	+	-	-	+	+	-	-
SBA	+	-	+	-	-	-	-	-
WGA	(+)	-	+	+	+	+	-	-

Figure 3: Différences de frustule des espèces de *Pseudo-nitzschia* observées au microscope électronique à balayage (d'après Rhodes, 1998)

A ce jour, le genre *Pseudo-nitzschia* ne comprend pas moins d'une trentaine d'espèces, avec une distribution cosmopolite (Figure 5). Les espèces considérées comme toxiques de par leur capacité à produire de l'acide domoïque sont : *P. australis*, *P. calliantha*, *P. cuspidata*, *P. delicatissima*, *P. fraudulenta*, *P. galaxiae*, *P. multiseries*, *P. multistriata*, *P. pseudodelicatissima*, *P. pungens*, *P. seriata* et *P. turgidula* (IOC-UNESCO).

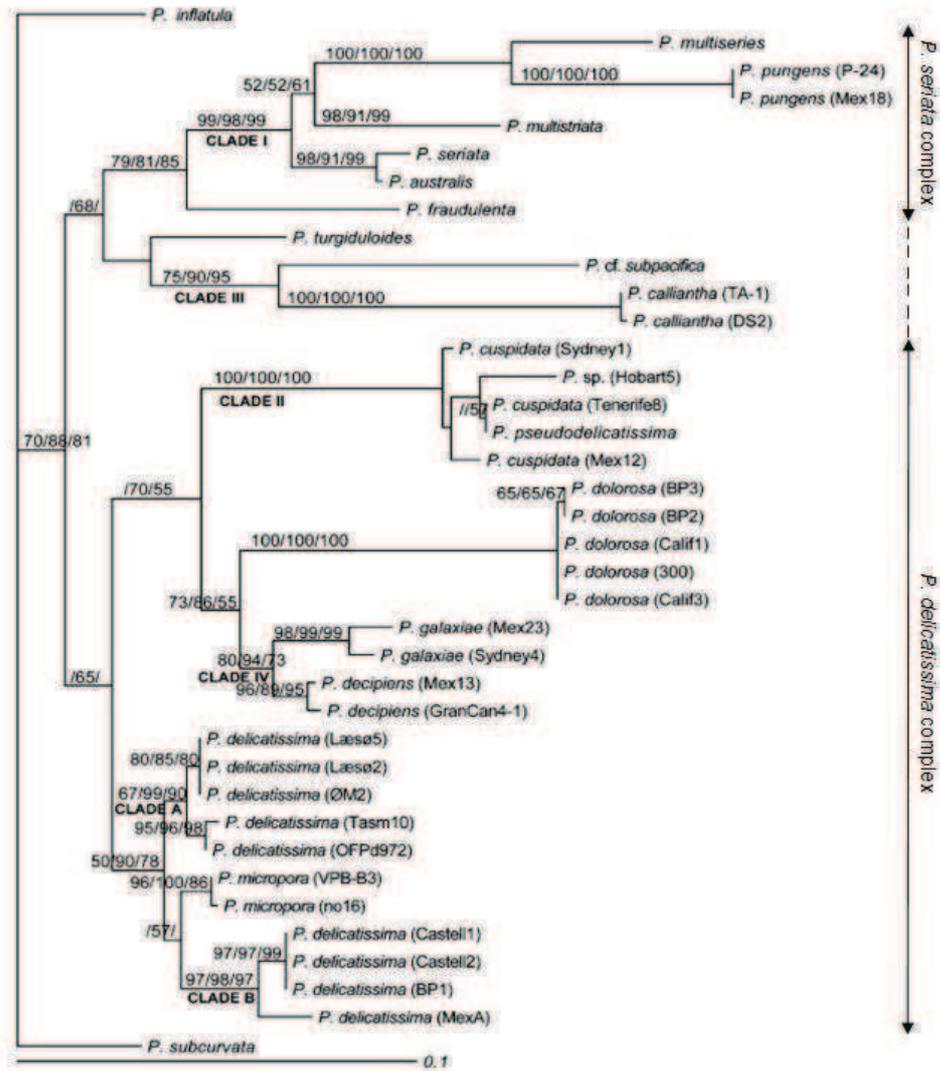


Figure 4. Arbre phylogénétique du genre *Pseudo-nitzschia* établi à partir des séquences ITS1-5,8S-ITS2. (D'après Lundholm et al., 2006)

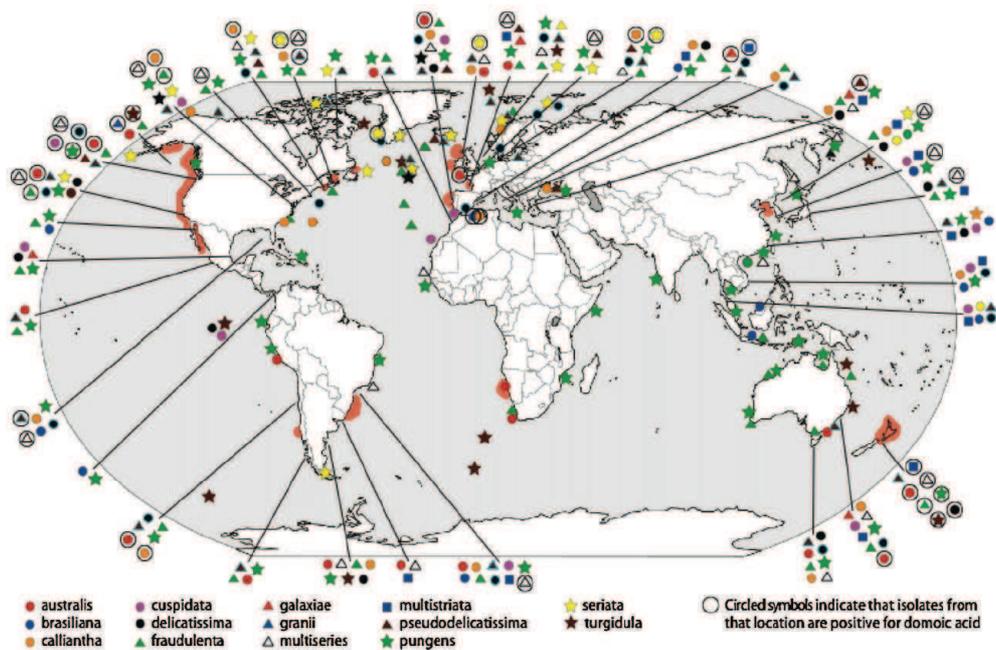


Figure 5 : Répartition mondiale des espèces toxiques de *Pseudo-nitzschia*. Les zones orange le long des côtes sont les lieux où la pêche des coquillages et crustacés a été fermée (concentration en acide domoïque > 20mg par g de chair et/ou des mortalités animales sont survenues) (d'après Trainer et al., 2012)

1.3 Distribution et écologie des *Pseudo-nitzschia*

La plupart des espèces de *Pseudo-nitzschia* ont une distribution cosmopolite (Hasle, 2002) et coexistent fréquemment dans l'environnement (Cho et al., 2002 ; Trainer et al., 2002 ; 2012). Le genre est connu pour proliférer à des concentrations importantes, formant des efflorescences (blooms). Il existe une variabilité interannuelle et saisonnière de leur abondance, parfois espèce-spécifique et typique de certaines régions géographiques. La croissance et la distribution de *Pseudo-nitzschia*, comme pour toutes les microalgues, est en effet soumise à différents facteurs physico-chimiques tels que la salinité (Thessen et al., 2005), la température (Lundholm et al., 1997 ; Caroppo et al., 2005, Quiroga, 2006), le pH (Lundholm et al., 2004), la photopériode (Fehling et al., 2006), les concentrations en nutriments comme les nitrates, phosphates et silicates (Bates et al., 1993 ; Spatharis et al., 2007), la stratification de la colonne d'eau, vent, courants, etc., mais aussi à des facteurs biologiques comme les prédateurs, parasites, espèces compétitrices.

A partir de données d'enquête à long terme fixe, Shipe et al (2008) ont montré que les efflorescences de *Pseudo-nitzschia spp.* sont associées à des niveaux élevés de nitrates, silicates et phosphates dans les zones euphotiques. L'augmentation des nutriments apportés dans les milieux aquatiques par les activités humaines est en effet connue pour favoriser la prolifération d'algues toxiques (Hallegraeff, 2010). Néanmoins, les diatomées du genre *Pseudo-nitzschia* présentes dans la zone côtière peuvent être également observées dans le domaine océanique nettement moins riche en nutriments. Cependant, jusqu'à ce jour, ces facteurs abiotiques seuls ne permettent pas de prédire l'intensité et la résiliation (souvent brutale) des efflorescences à *Pseudo-nitzschia spp.*, suggérant une influence concomitante des facteurs biotiques. La reproduction sexuée pourrait jouer également un rôle majeur dans la dynamique de ces algues (D'Alelio et al., 2010, Holtermann et al. 2010, Trainer et al., 2012).

Les caractéristiques physiologiques qui déterminent la croissance optimale sont différentes pour chaque espèce, ceci implique que les espèces de *Pseudo-nitzschia* ont des préférences physiques (température, turbulence,...) et chimiques (azote, phosphore, silice,...) très différents en fonction des espèces. Comme les paramètres physico-chimiques de l'eau de mer peuvent changer très rapidement, les blooms d'espèces peuvent être eux aussi variables en intensité (concentration de cellules) et biodiversité (espèce/s responsable/s de l'efflorescence). Une étude, réalisée par Fehling et al. (2006) sur la saisonnalité des *Pseudo-nitzschia spp.* dans les eaux écossaises a montré une dynamique saisonnière différente des deux complexes *P. delicatissima* et *P. seriata*. Les espèces du complexe *P. delicatissima* dominaient au printemps tandis que les espèces appartenant au complexe *P. seriata* étaient essentiellement présentes durant les mois d'été. En France, Nézan et Chomérat (2009) ont examiné la diversité et la variabilité interannuelle et saisonnière du genre *Pseudo-nitzschia* sur les côtes du Finistère sur une période de plus de 4 ans (Janvier 2005 – Juin 2009). Ils ont montré que les abondances maximales mensuelles et trimestrielles du genre *Pseudo-nitzschia* présentaient une variabilité interannuelle plus faible que saisonnière. Il a été observé que certaines espèces du complexe *P. seriata* pouvaient être absentes à certaines périodes (*P. subpacificica* en hiver, *P. multistriata* au printemps) voire toute une année (*P. australis* en 2005) et que des blooms précoces de certaines espèces pouvaient contrarier le développement d'autres espèces. En effet, des blooms estivaux d'espèces du complexe *P. delicatissima* semblaient contrarier le développement de *P. fraudulenta* dans la même saison (Nézan et Chomérat, 2009). Klein et al. (2010) ont étudié entre 2007 et 2008, la dynamique des populations de *Pseudo-nitzschia* en Baie des Veys (Baie de Seine) et ont décrit l'apparition de six espèces (*P. americana*, *P. australis*, *P. delicatissima*, *P. fraudulenta*, *P. multistriata* et *P. pungens*) en les reliant aux facteurs biologiques, chimiques et physiques de l'eau. Ces auteurs ont constaté l'apparition et la formation très rapide d'un bloom de *P. pungens*. Le 3 septembre, aucune cellule de *P. pungens* n'était détectée et le 7 septembre, l'espèce était présente à hauteur d'environ $30.10^3 \text{ cell.L}^{-1}$, puis 5 jours plus tard (le 12 septembre), la concentration cellulaire avait diminué de moitié (figure 6).

Cet exemple illustre la rapidité de développement et de disparition des espèces phytoplanctoniques. Il est donc indispensable si l'on veut déterminer avec précision le cycle des espèces, de réaliser des prélèvements fréquents et réguliers. D'autres études sont en cours en Baie de Seine (projet AESN Tapas) pour étudier la phénologie¹ des espèces de *Pseudo-nitzschia*.

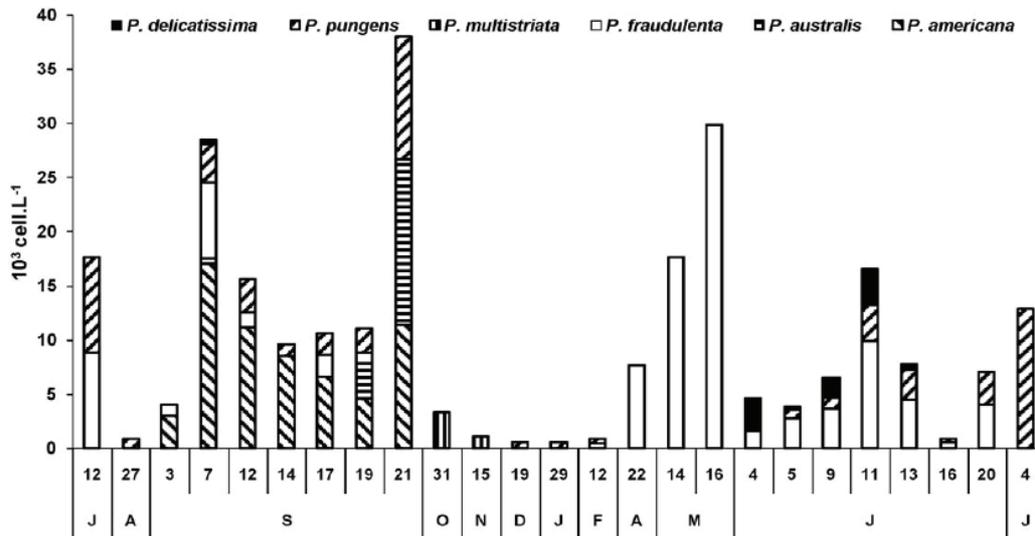


Figure 6: Détermination et quantification mensuelle des espèces de *Pseudo-nitzschia* en Baie des Veys de Juillet 2007 à Juillet 2008 (d'après Klein *et al.*, 2010)

Plus récemment, à l'occasion d'une campagne océanographique en 2011 dans les eaux de la Mer d'Iroise et du Sud Bretagne (Figure 7) plusieurs espèces du genre *Pseudo-nitzschia* ont pu être identifiées avec des méthodes de génétique (Fluorescent in situ Hybridization : FISH). Une répartition spatiale des différentes espèces de *Pseudo-nitzschia* a été mise en évidence. *Pseudo-nitzschia multiseries* apparaît majoritairement plus importante au sein de la communauté des *Pseudo-nitzschia* dans la région Nord de la Bretagne. *Pseudo-nitzschia pungens* est généralement présente sur toute la zone sans qu'il n'apparaisse de différence d'abondance relative marquée entre les régions Nord et Sud. *Pseudo-nitzschia australis* a été détectée uniquement dans la Baie de Concarneau avec une importance relative de 42 %, soit près de la moitié de la totalité des espèces de *Pseudo-nitzschia* présentes dans la communauté. La présence de cette espèce connue pour sa toxicité en Baie de Concarneau est en accord avec les concentrations en acide domoïque dissous quantifiées dans cette zone (Siano *et al.*, 2012)

En 2012, une étude sur la répartition spatiale des espèces de *Pseudo-nitzschia* a été menée en Baie de Concarneau durant les mois d'avril à juillet, la période plus favorable à l'efflorescence des espèces. La Baie de Concarneau a été choisie comme zone atelier d'étude pour les efflorescences de *Pseudo-nitzschia* étant donnée la diversité des espèces de *Pseudo-nitzschia* dans la baie (y compris des espèces toxiques) et les informations déjà disponibles sur la taxinomie et l'écologie acquises dans cet écosystème. Grâce à des méthodes génétiques (PCR spécifiques) cette étude a permis de montrer que les différentes espèces de *Pseudo-nitzschia*, y compris les toxiques, présentent des périodes temporelles spécifiques d'efflorescence d'apparition. Ces deux dernières études confirment bien que les espèces de *Pseudo-nitzschia* ne peuvent pas être traitées comme un seul groupe homogène. Il faut donc tenir compte des caractéristiques écologiques et biologiques de chaque espèce (Siano *et al.*, 2012, voir poster).

¹ Phénologie : Etude du cycle de vie d'une espèce liée aux paramètres environnementaux

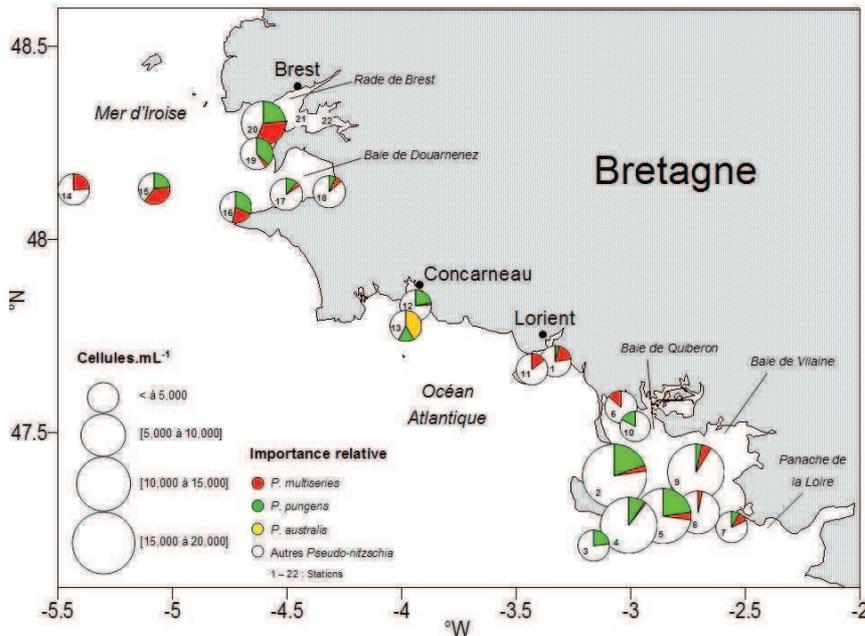


Figure 7 : Distribution spatiale et abondance relative des espèces de *Pseudo-nitzschia* détectées par méthode FISH (Fluorescence In Situ Hybridation) dans les eaux de la Mer d'Iroise et du Sud Bretagne en juin 2011 (Siano et al., 2012)

1.4 Toxicité et facteurs environnementaux

L'acide domoïque (AD) est une neurotoxine (Wright *et al.*, 1989) de la famille des toxines amnésiantes responsable chez les êtres humains du syndrome ASP (*Amnesic Shellfish Poisoning*), caractérisé par des troubles gastro-intestinaux (vomissements, diarrhée, crampes abdominales) suivis de symptômes neurologiques permanents (amnésie, coma...) (Caron et al., 2010). L'acide domoïque est thermostable et soluble dans les solutions aqueuses. La production d'acide domoïque est directement liée aux variables chimiques de l'écosystème. L'azote (N), et en particulier l'ammonium NH_4^+ , est nécessaire pour la production de l'acide domoïque, à la différence de la Silice (Si) et du Phosphore (P) (Bates et al., 1998). Cela a été démontré à la fois par des expériences en laboratoire avec des souches microalgales cultivées et par des études *in situ* (Howard et al., 2007). Cependant, le niveau de toxicité d'une cellule peut différer suivant les conditions de vie dans lesquelles elle se trouve. C'est notamment pourquoi une même espèce de *Pseudo-nitzschia* peut être toxique dans une région et non toxique dans une autre (Bates et al., 1998 ; Bates et Trainer, 2006). Des études physiologiques montrent aussi que pendant la phase exponentielle de croissance d'une espèce la production d'acide domoïque est inversement proportionnelle au taux de croissance de l'espèce (Dortch, 1990). La production d'acide domoïque est liée à l'apparition de stress (nutritif), elle augmente quand la croissance baisse ou cesse suite à des limitations nutritives (limitations en N, P, Si, Fe, Cu) (Pan et al 1996 ; Bates, 1998 ; Maldonado et al., 2002 ; Fehling et al, 2004). Le niveau de toxicité des cellules de *Pseudo-nitzschia* est également influencé par la présence de bactéries (Bates et al. 1995 ; Stewart et al., 1997 ; Bates et al., 2004 ; Stewart 2008) (Figure 8).

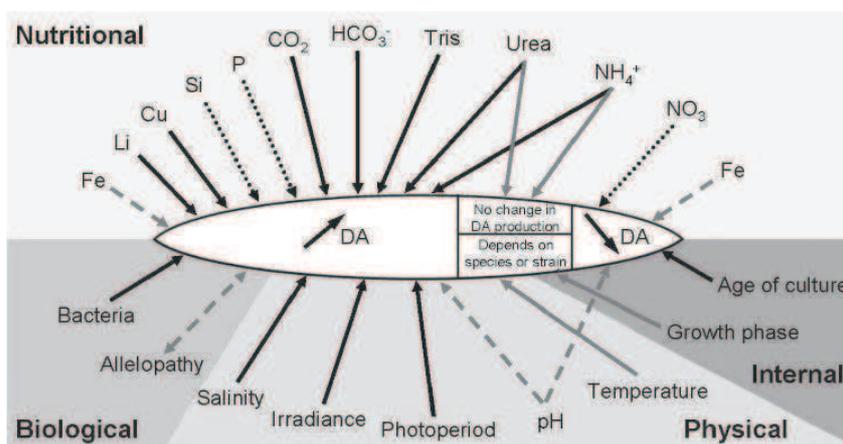


Figure 8 : Synthèse de tous les facteurs (nutritionnels, internes, physiques ou biologiques) connus pour impacter la production d'acide domoïque. Flèches noires : effet de l'augmentation du paramètre ; flèche en pointillé noir : effet de la diminution du paramètre ; flèche en pointillés gris : résultats observés contradictoires, flèche grise : le résultat dépend de l'espèce ou de la souche (Lelong et al., 2012)

La toxicité des coquillages est elle aussi variable en fonction des espèces de coquillages. La directive européenne 2002/226/CE précise les valeurs « seuils » de tolérance à l'égard des ASP pour la consommation des coquillages (<20mg éq. Acide domoïque/kg tissus). Dès que ces seuils sont dépassés, des interdictions de pêche des coquillages sont mises en œuvre. Si les épisodes ASP en France touchent essentiellement les coquillages (moules, palourdes, donaces, coquilles Saint Jacques...), l'espèce la plus problématique est la coquille Saint Jacques, *Pecten maximus* (Amzil *et al.*, 2009) en raison des temps très longs de décontamination (plusieurs mois à plusieurs années). Ce phénomène est aussi décrit en Irlande et en Espagne (James *et al.*, 2005 ; Bogan *et al.*, 2006 et 2007). L'acide domoïque se concentre majoritairement dans la glande digestive puis dans les gonades, dans le muscle adducteur. Il y a une différence notable de comportement de contamination/décontamination entre les coquilles Saint Jacques et les autres espèces de mollusques bivalves marins y compris les pétoncles, autres pectinidés.

Conclusion du chapitre 1

Le genre *Pseudo-nitzschia* est très répandu dans les océans et les mers côtières. Les événements toxiques liés à la production d'acide domoïque par certaines espèces de *Pseudo-nitzschia* sont reconnus depuis les années 90 et en augmentation sur l'ensemble des côtes européennes et américaines. La diversité des *Pseudo-nitzschia* est grande mais difficile à apprécier par la microscopie optique, cependant les méthodes génétiques d'identification ouvrent des nouvelles possibilités d'analyse. Le contrôle des efflorescences est lié aux facteurs environnementaux (sels nutritifs, température, lumière, etc.) mais il s'exprime de manière variable selon les espèces. Le risque toxique lui est lié à la fois à l'espèce et aux facteurs environnementaux. L'espèce la plus touchée est la Coquille Saint Jacques car elle présente des périodes très longues de contamination.

2. Historique des blooms et de leur toxicité sur la région Loire Bretagne. Évaluation de leur impact sur les activités de pêche et de conchyliculture

2.1 Le Réseau REPHY et ses objectifs

Le Réseau d'Observation et de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines (REPHY), géré par l'Ifremer depuis 1984, forme avec le Réseau de contrôle microbiologique (REMI), le Réseau d'Observation de la Contamination Chimique (ROCCH) et le Réseau des organismes benthiques (REBENT) les quatre réseaux nationaux d'observation et de surveillance du littoral de France Métropolitaine. Couvrant les trois façades maritimes du territoire français (Manche, Atlantique, Méditerranée), le REPHY a deux objectifs complémentaires. Le premier est la connaissance de la biomasse, de l'abondance et de la composition du phytoplancton marin, qui recouvre notamment la distribution spatio-temporelle des différentes espèces phytoplanctoniques, le recensement des efflorescences exceptionnelles telles que les eaux colorées ou les développements d'espèces toxiques ou nuisibles susceptibles d'affecter l'écosystème, ainsi que du contexte hydrologique afférent. Le second est d'ordre sanitaire avec la détection et le suivi des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines susceptibles de s'accumuler dans les produits marins de consommation ou de contribuer à d'autres formes d'exposition dangereuse pour la santé humaine, et la recherche de ces toxines dans les mollusques bivalves présents dans les zones de production ou dans les gisements naturels. (Belin et Neaud-Masson, 2012).

L'identification et le dénombrement des espèces phytoplanctoniques dans les échantillons naturels vivants ou fixés au lugol (solution d'iodure de potassium) reposent sur des critères morphologiques et se font par des observations au microscope optique. Cependant, bien que cette méthode se soit avérée être utile dans ce contexte, son utilisation demeure aujourd'hui problématique pour discriminer les espèces toxiques et non toxiques du genre *Pseudo-nitzschia*. Dans le cadre du REPHY les deux complexes d'espèces (qui comprennent chacun plusieurs espèces) classiquement identifiables en microscopie optique (larges ou complexe *P. seriata* (largeur valvaire > 3 µm), fines ou complexe *P. delicatissima* (largeur valvaire < 3 µm)) sont identifiés. D'autres complexes d'espèces (complexe *americana* et complexe des sigmoïdes) qui comprennent aussi plusieurs espèces sont parfois séparés des complexes *seriata* et *delicatissima* (voir tableau 1). Pour chaque complexe un seuil d'alerte est fixé, $3 \cdot 10^5$ cellules. L⁻¹ pour le complexe *delicatissima* et 10^5 cellules. L⁻¹ pour les autres. Cette concentration dépassée, un dépistage des coquillages en toxines amnésiantes est systématiquement réalisé. Les données historiques du REPHY montrent que le genre *Pseudo-nitzschia* est observé tous les ans sur l'ensemble du littoral français, avec des concentrations maximales annuelles importantes, très souvent supérieures à 10^5 cellules.L⁻¹ et assez fréquemment de l'ordre de 10^6 cellules.L⁻¹.

Complexe seriata ou groupe des larges			Complexe delicatissima ou groupe des fines	Complexe americana	Groupe des sigmoïdes
10^5 cell l^{-1}			$3 \cdot 10^5 \text{ cell l}^{-1}$	10^5 cell l^{-1}	10^5 cell l^{-1}
Asymétriques	Symétriques	Effilées			
<i>P. australis</i> **	<i>P. fraudulenta</i> *	<i>P. multiseriata</i> **	<i>P. delicatissima</i> *	<i>P. americana</i> -	<i>P. multistriata</i> *
<i>P. seriata</i> **		<i>P. pungens</i> *	<i>P. calliantha</i> *	<i>P. brasiliana</i> *	
<i>P. subpacifica</i> -			<i>P. pseudodelicatissima</i> *		
			<i>P. subcurvata</i> -		

Tableau 1 : « Nomenclature » du genre *Pseudo-nitzschia* et seuils d'alerte, - non toxique, * toxique, ** très toxique

L'échantillonnage, assuré depuis plus de 25 ans dans le cadre du REPHY sur de nombreux sites tout au long de l'année, a permis d'acquérir les données qui sont commentées ci-dessous. Toutes ces données sont stockées dans Quadrigé², base de données nationale de surveillance du littoral.

2.2 Historique des blooms par analyse des données REPHY en région Loire-Bretagne.

Plus de 28 000 résultats sont disponibles sur la période 1990-2012 pour le littoral Loire Bretagne, concernant environ 150 sites de prélèvement regroupés en 59 zones. Ces zones ont été regroupées en quatre secteurs géographiques (figure 9) afin de permettre une comparaison des blooms à l'échelle régionale.



Figure 9 : les secteurs d'échantillonnage du REPHY

2.2.1 Diversité des *Pseudo-nitzschia* en zone Loire-Bretagne

Pseudo-nitzschia fait partie des taxons qui sont systématiquement dénombrés dans toutes les flores examinées dans le cadre du REPHY, puisqu'il comporte des espèces potentiellement toxiques (tableau 1). Du fait de la difficulté d'identification, de nombreux résultats ne se réfèrent qu'au genre sans plus de détails, d'autres résultats agrègent par "groupes d'espèces" ou "complexes" d'après leur forme : larges, fines, effilées, etc. Dans un certain nombre de cas, l'identification jusqu'à l'espèce a été possible par d'autres moyens. Les résultats détaillés en annexe 1 reflètent cette diversité :

*la majorité des résultats (plus de 15 000) se réfère au genre *Pseudo-nitzschia*, sans autre précision

* le groupe des larges (dans le complexe *seriata*), comprenant d'une part les larges asymétriques (espèces *P. australis*, *P. seriata*, *P. subpacific*), d'autre part les larges symétriques (espèce *P. fraudulent*) est le plus observé avec plus de 6000 résultats (plus de 20% du total)

* le groupe des fines (complexe *delicatissima*), comprenant les espèces *P. calliantha*, *P. delicatissima*, *P. pseudodelicatissima* et *P. subcurvata*) suit de près avec environ 5000 résultats (18% du total)

* les autres groupes sont beaucoup plus rarement observés : le groupe des effilées dans le complexe *seriata* (espèces *P. multiseri*, *P. pungens*) compte pour 5% du total, le groupe des sigmoïdes (espèce *P. multistriata*) et le complexe *americana* (espèces *P. americana* et *P. brasili*) ne comptent que pour respectivement 1% et 0.5%.

2.2.2 Concentrations cellulaires : maxima annuels et mensuels, seuils d'alerte

Pseudo-nitzschia est observé tous les ans sur l'ensemble du littoral, avec au moins un pic important en concentrations cellulaires par zone et par année, souvent supérieur à 100 000 cellules par litre et assez fréquemment supérieur à un million de cellules (figure 10). La configuration est similaire d'une année à l'autre depuis les années 2004.

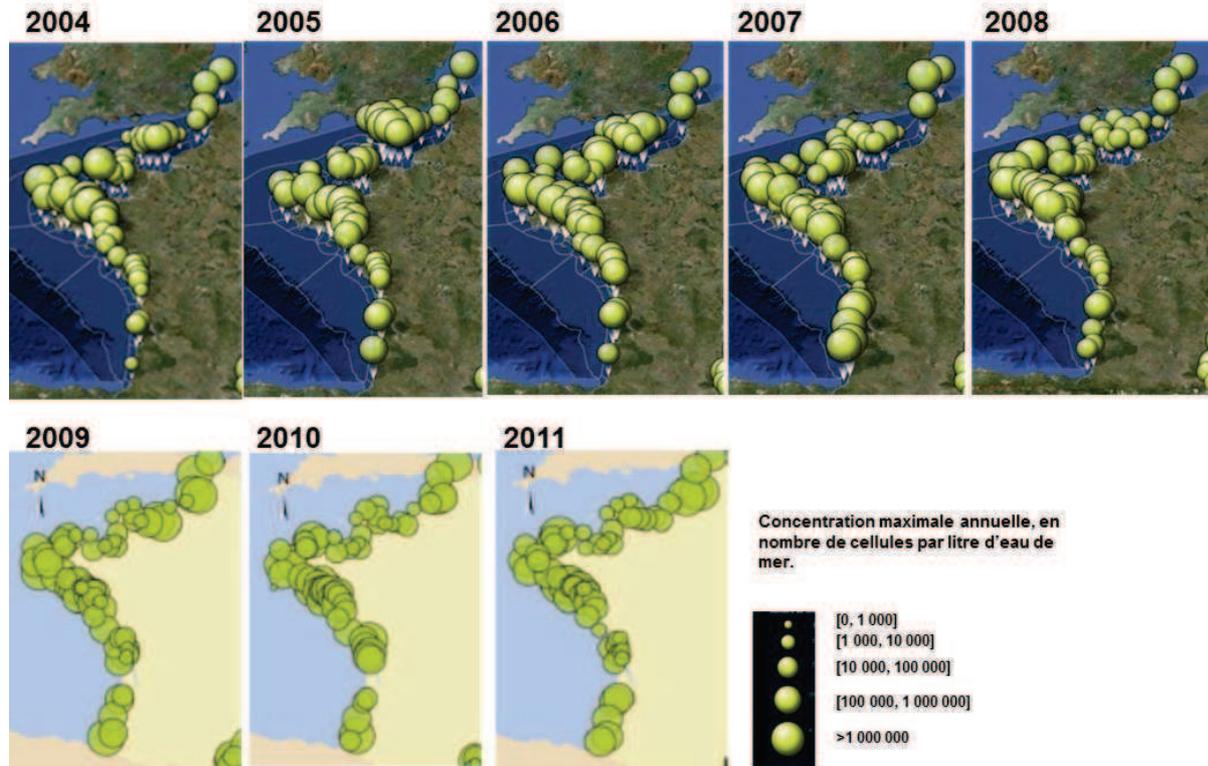


Figure 10 : Concentrations cellulaires maximales de *Pseudo-nitzschia*, toutes espèces confondues, par zone et par année

Toutefois, sur l'ensemble de la zone Loire-Bretagne, on observe depuis les années 90 une tendance à l'augmentation du nombre de zones touchées par des efflorescences à *Pseudo-nitzschia* > à 10^5 cellules/l puis une stabilisation pendant la dernière décennie (~50% des zones touchées). Si les zones Bretagne-Nord et dans une moindre mesure Loire-Gironde sont proportionnellement peu affectés par les efflorescences à *Pseudo-nitzschia* (figure 11), les autres zones bretonnes sont régulièrement touchées depuis les années 2000 (plus de 50% des zones touchées chaque année). Il faut cependant nuancer cette constatation par le fait que l'effort d'échantillonnage était plus faible au début des années 1990.

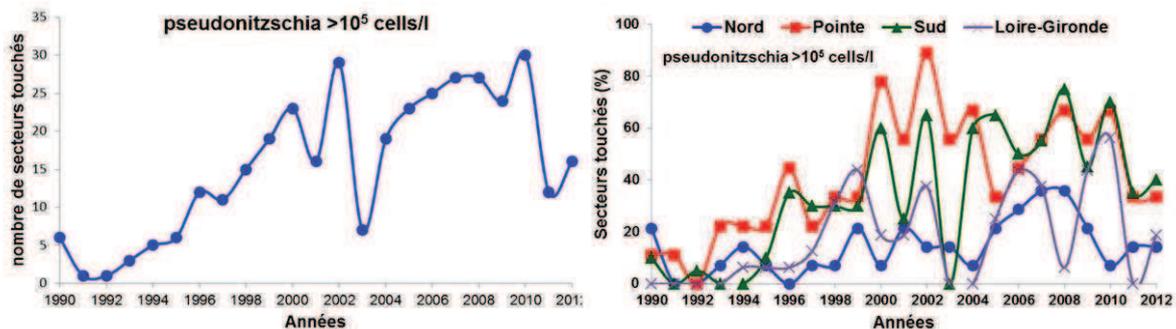


Figure 11. Evolution temporelle (valeur absolue) et géographique (valeur relative) du nombre de zones touchées par des efflorescences à *Pseudo-nitzschia*

Le tableau en Annexe 2 détaille ces concentrations maximales par zone et par an sur le littoral Loire Bretagne. Deux seuils ont été choisis pour mettre en évidence dans ce tableau les zones / années pour lesquelles des proliférations importantes ont été observées : (i) le seuil de 100 000 cellules par litre, dit "seuil d'alerte". Il correspond au seuil minimal de déclenchement des analyses de toxines ASP dans les coquillages², (ii) **le seuil de un million de cellules par litre est arbitrairement défini comme un "seuil bloom"** au-delà duquel des conséquences nuisibles sur l'écosystème peuvent être observées.

Le tableau montre que le seuil d'alerte est dépassé régulièrement dans de nombreuses zones, et que **dans 20% de ces cas, les maxima annuels dépassent même le seuil de bloom d'un million de cellules**. Certaines années sont plus affectées que d'autres, en particulier l'année 2002 (29 zones touchées sur 59 au total), puis la période 2006 à 2010 (entre 24 et 30 zones touchées). En 2008, le nombre de maxima supérieurs à un million de cellules est particulièrement important : c'est d'ailleurs en 2008 qu'est enregistrée la plus forte concentration sur la période, en baie de Concarneau avec plus 14 millions de cellules par litre. Par ailleurs, douze zones sont affectées au moins un an sur deux par des proliférations supérieures au seuil d'alerte (elles sont notées en rouge dans le tableau).

Pour avoir des informations sur la répartition de ces proliférations sur l'année, le tableau en annexe 3 reprend les mêmes données, en les présentant par mois, toutes années confondues. En premier lieu, il apparaît que **les périodes de prolifération sont majoritairement entre avril et juin dans toutes les régions (Figure 12)**. Ceci est cohérent avec le fait que *Pseudo-nitzschia* appartient à la classe des Bacillariophyceae (diatomées), organismes non mobiles dans la colonne d'eau. **Les cellules de *Pseudo-nitzschia* comme en général les diatomées sont très dépendantes des apports en nutriments, et les conditions favorables aux proliférations sont réunies au printemps, lorsque l'enrichissement des eaux littorales en nutriments par les apports des rivières est à son maximum et que l'allongement de la durée du jour favorise la photosynthèse.** Dans certaines zones de Bretagne ouest et en baie de Concarneau, des blooms peuvent se prolonger jusqu'en septembre-octobre. Aucun bloom n'est par contre observé entre novembre et février, dans aucune des zones du littoral Loire Bretagne.

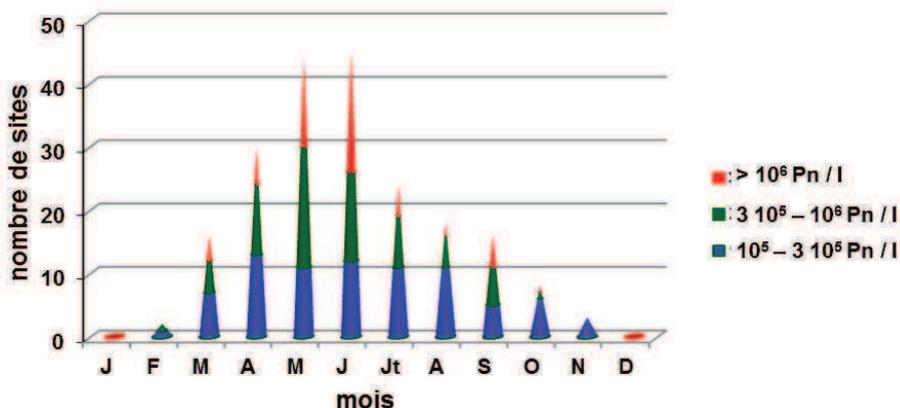


Figure 12 : Evolution mensuelle du nombre de zones touchées par des efflorescences à *Pseudo-nitzschia*

² plus précisément, les seuils d'alerte sont : 300 000 cellules par litre pour le groupe des fines, 100 000 cellules par litre pour les autres groupes, qui sont susceptibles de comporter des espèces plus toxiques au regard de la concentration cellulaire.

2.2.3 Taxons responsables des proliférations les plus importantes

Sur les 1000 efflorescences supérieures à 100 000 *Pseudo-nitzschia* (28 000 résultats au total) environ **250 résultats concernent le complexe *delicatissima***. **Près de 200 résultats sont attribuables au complexe *seriata*, pouvant correspondre aux espèces *P. australis* ou *P. fraudulenta* ou *P. subpacific*** ; par contre l'espèce *P. seriata* appartenant à ce même groupe n'a jamais été identifiée dans les eaux françaises à ce jour (Billard *et al.*, 2001 ; Nezan, *comm. pers.*). Les résultats concernant le complexe *seriata* susceptible de comporter des espèces à toxicité importante, sont détaillés par zone, année, mois, dans le tableau en Annexe 4.

La grande majorité des résultats supérieurs à un million de cellules par litre (environ une centaine) sont attribuables soit au genre *Pseudo-nitzschia* spp., soit au complexe *delicatissima*. Seuls six résultats concernent le groupe des larges ils apparaissent en rouge dans le tableau de l'annexe 4.

Il faut toutefois prendre ces résultats avec précaution car bien souvent la reconnaissance n'est pas allée au-delà du genre *Pseudo-nitzschia*.

2.3 Historique des épisodes de toxicité par analyse des données REPHY et conséquences sur les fermetures en région Loire-Bretagne

Aucune intoxication ASP associée à des coquillages provenant de zones françaises n'a été rapportée à ce jour. La famille des toxines ASP est réglementée au niveau européen, avec un seuil de sécurité sanitaire à ne pas dépasser pour que les coquillages soient considérés comme consommables : 20 mg d'équivalent acide domoïque par kg de chair de coquillage. La méthode réglementaire européenne pour la détection de ces toxines est une analyse chimique en Chromatographie Liquide / Détection UV – CL/UV. Plus de 2700 résultats de toxines ASP dans les coquillages³ sont disponibles sur la période 1990-2012 pour le littoral Loire Bretagne, concernant 137 sites de prélèvement regroupés en 50 zones.

2.3.1 *Pseudo-nitzschia* et ASP

Les premiers épisodes de contamination ASP des coquillages clairement attribuables à *Pseudo-nitzschia* ont été observés en France en 2000 en mer d'Iroise et en baie de Douarnenez (Bretagne ouest). Mais les données historiques du REPHY montrent que des proliférations importantes de *Pseudo-nitzschia* avaient été observées dans de nombreuses régions françaises bien avant cette date. Le système de surveillance des toxines ASP ne s'est mis en place en France qu'en 1999, mais plusieurs éléments concordent pour conclure que les coquillages du littoral français n'ont sans doute pas été contaminés avant cette date : (i) un screening effectué en 1995 sur les coquillages du littoral français n'avait pas mis en évidence de toxines ASP, (ii) l'absence de ces toxines en Europe dans les années 1990, (iii) aucun signalement d'intoxication à cette période en France. Une des explications possibles est que la composition des populations de *Pseudo-nitzschia* lors de ces proliférations aurait évolué en une à deux décennies d'une majorité d'espèces non toxiques à une proportion plus importante d'espèces toxiques, conduisant aux contaminations ASP que l'on observe désormais régulièrement.

Les données comparées *Pseudo-nitzschia* et toxines ASP présentes dans Quadrigé², montrent que les coquillages ne deviennent toxiques qu'après des développements importants de *Pseudo-nitzschia*, de l'ordre de plusieurs centaines de milliers de cellules par litre. L'observation de ce genre dans les échantillons d'eau prélevés dans le cadre du REPHY, constitue donc un indicateur fiable permettant de prévoir suffisamment à l'avance la contamination des coquillages en toxines amnésiantes, au moins dans les zones d'élevage côtières. La stratégie du REPHY pour ces toxines est par conséquent basée, dans les zones de production côtière, sur l'observation préalable de proliférations de *Pseudo-nitzschia* au-delà des concentrations définies comme des « seuils d'alerte » : 100 000 ou 300 000 cellules par litre selon les groupes d'espèces.

³ seuls les résultats des analyses réglementaires, c'est à dire sur la chair totale des coquillages, sont comptés ici

Par contre, pour les zones de pêche en eaux profondes de coquilles St Jacques ou de pétoncles, comme les prélèvements d'eau ne sont pas faits au fond mais en surface, la relation entre le phytoplancton et les toxines n'est pas fiable : une recherche systématique des toxines ASP est donc effectuée pendant toute la période de pêche (comme pour les autres toxines).

Si la présence de toxines ASP est toujours associée à la présence de *Pseudo-nitzschia*, au moins dans les zones où la comparaison est possible, le contraire n'est pas toujours vrai : de nombreuses régions ne sont pas sujettes à des épisodes de toxicité ASP, alors qu'il a été montré plus haut que *Pseudo-nitzschia* proliférait sur tout le littoral. **Ceci peut s'expliquer par la composition de la population de *Pseudo-nitzschia*, pouvant comporter une proportion plus ou moins importante d'espèces produisant réellement des toxines ASP, le reste de la population étant composée d'espèces non toxiques.** Le tableau en annexe 5 montre un exemple de comparaison entre les concentrations de *Pseudo-nitzschia* et les occurrences de toxines ASP, pour l'année 2011 (extrait de la Synthèse Nationale de la Surveillance pour l'année 2011, Belin et al., 2012).

2.3.2 Toxines ASP : répartition et coquillages touchés

Les cartes ci-dessous (figure 13) visualisent la répartition géographique des épisodes toxiques ASP avec le détail des coquillages contaminés. Un épisode toxique est défini par la détection dans au moins une espèce de coquillage, de toxines en quantité supérieure au seuil sanitaire officiel (20 mg d'AD / kg).

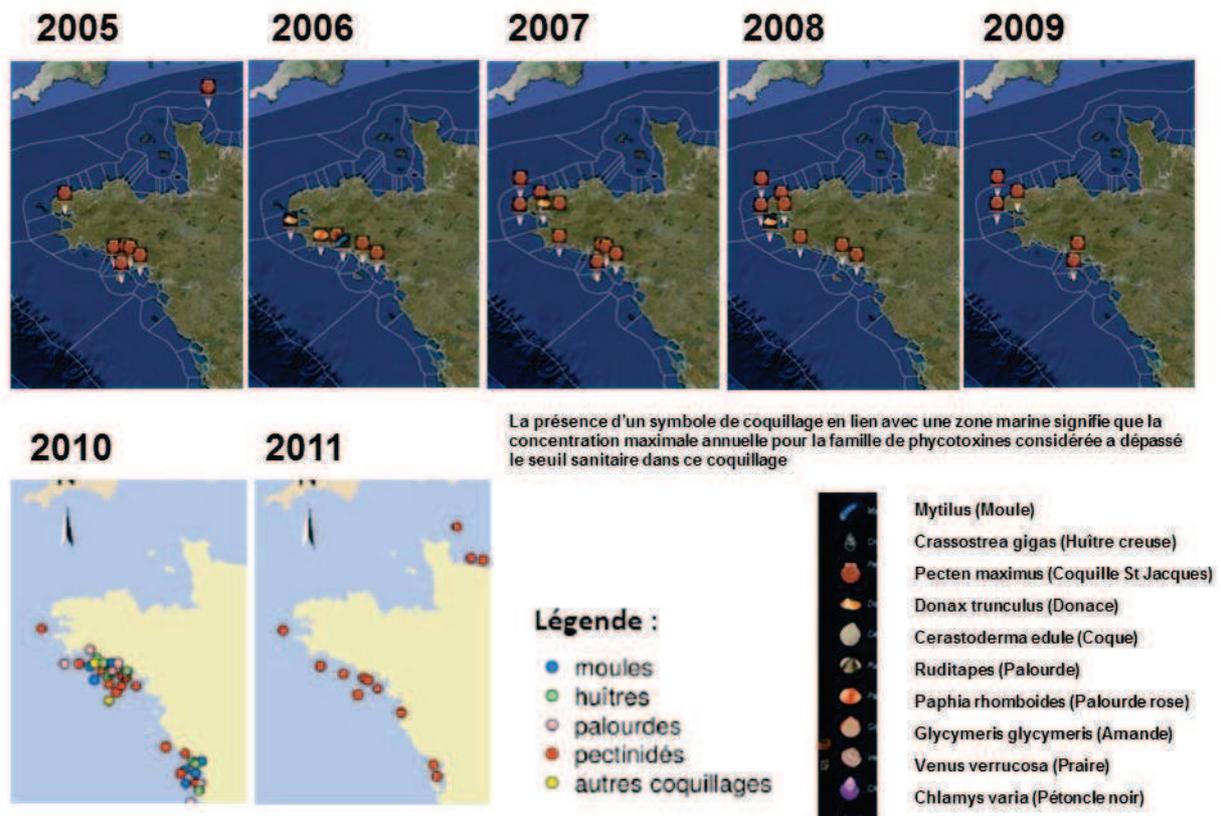


Figure 13 : Zones et coquillages touchés par des épisodes toxiques ASP, par année

Ces cartes montrent à l'évidence que les coquillages contaminés en toxines ASP sont essentiellement les coquilles St Jacques en Bretagne ouest et sud (gisements de la rade de Brest, Douarnenez, sud Finistère, baie de Quiberon -Belle île, baie de Vilaine, etc). Depuis 2010, les gisements de coquilles vendéens et des Pertuis Breton et d'Antioche sont également touchés. Par contre les gisements de Bretagne nord, comme ceux de la baie de St Brieuc, n'ont jamais été affectés jusqu'à maintenant. Ces toxines ASP peuvent cependant affecter occasionnellement certains autres coquillages (palourdes roses, donaces, etc).

Tout comme dans le cas des efflorescences à *Pseudo-nitzschia* on observe une augmentation des zones touchées depuis le début des années 2000 et celle-ci concerne principalement la pointe de Bretagne et le sud Bretagne (figure 14). **Cette recrudescence ne débute qu'à partir des années 2004 alors qu'elle avait débuté à partir de 1992 pour *Pseudo-nitzschia* laissant suspecter un remplacement d'espèces peu ou pas toxiques par des espèces plus toxiques ou un changement des conditions environnementales qui favoriseraient un meilleur développement des espèces toxiques au détriment des espèces non toxiques.**

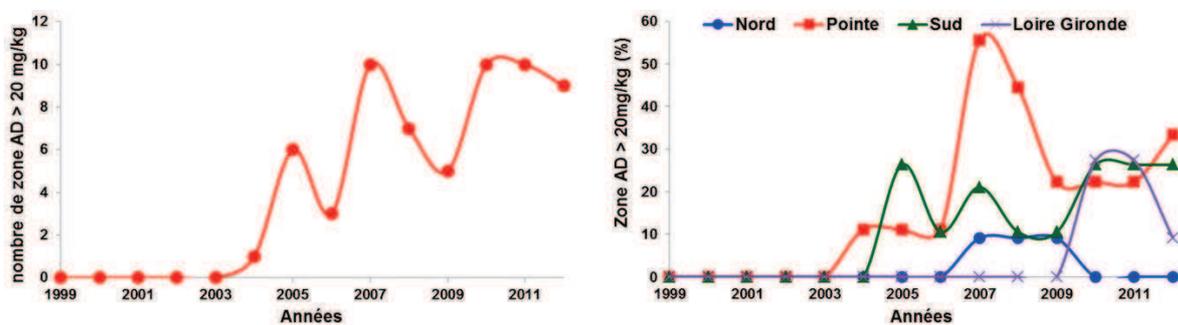


Figure 14 : Evolution temporelle (valeurs absolues) et géographique (valeurs relatives) du nombre de zones du littoral présentant des contaminations de *Pecten maximus* supérieures au seuil sanitaire officiel entraînant la fermeture des sites (AD > 20 mg.kg-1)

L'année 2010 a été très atypique, consécutivement à la tempête Xynthia, de très nombreux secteurs, des Pertuis Charentais au sud Bretagne, ont été touchés et outre la contamination des coquilles St Jacques, des coquillages très variés ont été contaminés (moules, huîtres, palourdes, etc).

Les durées de toxicité sont très différentes selon qu'il s'agit de coquilles St Jacques ou d'autres coquillages (moules, pétoncles, etc). La détoxification des coquilles St Jacques est très longue, de plusieurs mois à deux années (figure 15) alors qu'elle est beaucoup plus courte chez les autres coquillages.

Le tableau en annexe 6 détaille les résultats des toxicités maximales par zone et par an. Une grande partie des résultats se situent dans une fourchette entre 20 et 100 mg/kg. Les concentrations supérieures à 200 mg/kg sur la période ont toutes été observées en 2010 ou 2011 sur des coquilles St Jacques, le maximum ayant été atteint au large de la baie de Vilaine avec 484 mg/kg.

Les tableaux en annexes 7 et 8 détaillent les toxicités maximales par zone et par mois, toutes années confondues. L'annexe 7 qui concerne seulement les pectinidés (coquille St Jacques / *Pecten maximus*, ou pétoncle noir / *Mimachlamys varia*, ou pétoncle blanc ou vanneau / *Aequipecten opercularis*) montre qu'il n'existe pas de période de toxicité préférentielle pour ces coquillages qui peuvent rester contaminés d'une saison de pêche à une autre (ceci est essentiellement vrai pour les coquilles St Jacques car les pétoncles se décontaminent assez rapidement). L'annexe 8 qui concerne tous les autres coquillages (moules, huîtres, palourdes, amandes, donax, coques, etc) **met en évidence que la période de toxicité se situe presque toujours entre mars et mai pour ces coquillages, à quelques exceptions près, en particulier en baie de Douarnenez, c'est-à-dire suite aux efflorescences de *Pseudo-nitzschia***

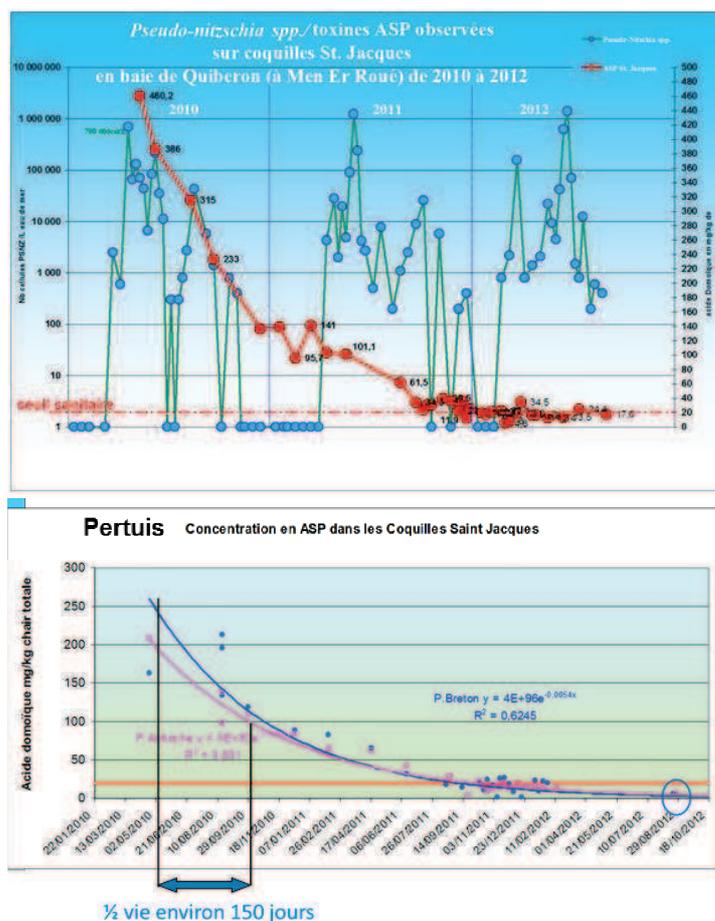


Figure 15 : Détoxification des coquilles St Jacques du Pertuis Breton (Ryckaert, com. pers.) et de la baie de Quiberon (Grouhel, com. pers.) suite à l’efflorescence à *Pseudo-nitzschia* consécutive à la tempête Xynthia, 2010

2.4 Impact des événements toxiques à *Pseudo-nitzschia* sur les activités professionnelles

Sur l’ensemble de la région Loire-Bretagne, le nombre de zones touchées par les toxines ASP est en augmentation. Cela entraîne des fermetures récurrentes des activités de pêche et de conchyliculture, ces fermetures pouvant durer plusieurs années comme c’est le cas en Sud Bretagne et Loire atlantique.

Pour établir une synthèse de la perception par les professionnels de l’impact des efflorescences à *Pseudo-nitzschia* sur la pêche à la coquille St Jacques nous avons rencontré les représentants des Comités départementaux des pêches marines et des élevages marins du Morbihan et du Finistère ainsi que les représentants de l’écloserie du Tinduff, en rade de Brest (voir annexe 9 pour les comptes rendus détaillés). Les informations qui nous ont été communiquées ont été complétées par la consultation des bilans statistiques 2008, 2009, 2010 et 2011 des données de ventes déclarées en halles à marée éditées par France AgriMER.

Les principaux gisements de coquilles St Jacques exploités le long des côtes bretonnes sont localisés en Nord Bretagne dans les baies de St Brieuc et de Morlaix et en rade de Brest et, pour le Sud Bretagne, dans les secteurs de Concarneau / les Glénans et de Quiberon.

L’activité de pêche aux coquilles St Jacques, variable selon les années et les gisements, oscille entre 7000 et 7600 tonnes par an. L’essentiel de la pêche provient de la baie de St Brieuc (~ 6000 tonnes).

Cette activité saisonnière concerne une flottille de 440 embarcations réalisant un chiffre d'affaires de l'ordre de 16-18 M€ (probablement sous-estimé et difficile à estimer car une fraction plus ou moins importante de la production peut être vendue hors criée (de 30 à 40% à Brest)).

Jusqu'à présent les gisements du Nord Bretagne n'ont pas été concernés par des fermetures de l'activité liées à des contaminations ASP.

Par contre les gisements de la rade de Brest (2004-2005, 2007-2008) de Concarneau-les Glénans (2005-2006, 2009-2010, 2010-2011, 2011-2012) et de Quiberon (2009-2010, 2010-2011, 2011-2012) ont été touchés par des contaminations longues des coquilles St Jacques. L'impact économique de ces fermetures est estimé à 2-4 M€ pour le secteur de Quiberon, 0.5 M€ par campagne pour Concarneau / les Glénans (au total ~ 4 M€). Pour ce site, la campagne de pêche étant relativement courte dans le temps (décembre – janvier) et comme la flottille a la possibilité de compenser partiellement les fermetures en reportant l'effort de pêche sur la langoustine, les répercussions des fermetures sont moins catastrophiques que pour d'autres sites. En Rade de Brest la flottille est essentiellement constituée de petites unités (<10m) qui pratique une activité quasi-exclusive de pêche à la drague en période hivernale (coquilles St Jacques, praires et pétoncles noir) sans possibilité de substitution. Suite à la fermeture de 2004 une filière de décorticage manuel a été mise en place, et pour la maintenir les pêcheurs « sacrifient » une partie de leur production même en l'absence de contamination (de 30 à 90 tonnes sont ainsi traitées selon les années pour un prix de vente de 2.5€ contre 4.5€, soit une perte annuelle de 0.1 à 0.2 M€) à laquelle s'ajoute une perte de 0.6 à 0.8 M€ par saison de fermeture. Cette flottille est très sensible et de nouvelles fermetures pourraient conduire à une réduction de la flotte.

Si d'autres espèces, non actuellement suivies par les contrôles, étaient touchées par les contaminations ASP, en particuliers les crustacés (tourteaux et araignées) l'impact sur les pêcheries pourrait être beaucoup plus important, en particulier dans le secteur de Roscoff où la pêche au tourteau représente plus de 1000 tonnes pour une valeur de ~2M€.

PECHERIE	Quiberon ¹	Concarneau / Glénans ²	Rade de Brest ²	Morlaix ²	St Brieuc ³	Bretagne
Flottille	74	24	60	66	215	439
Pêche (tonnes)	200-400	130-160	300-400	400-600	6000	7030-7560
Prix moyen (€/kg)	3.5	3.5	4.6	2.91	2.04	
Valeur (M€)	0.7 – 1.4	0.45-0.56	1.4 -1.84	1.16 – 1.75	12.3	16-17.8
Fermetures	2009/2010 2010/2011 2011/2012	2005/2006 2010/2011 2011/2012 2012/2013	12/2004 -4/2005 2007/2008	-----	-----	
Décortilage	-	-	+	-	-	
Pertes économiques	2.1- 4.2 M€ pour les trois ans	0.5 M€ par campagne ~2 M€ pour la période	0.1 à 0.2 M€ / an pour supporter filière de décortilage 2007 : 0.8 – 1 M€			
Autres espèces potentiellement sensibles	Crustacés et autres bivalves		Araignées et seiches	Araignées et tourteaux		
Remarques		Unités de 12 m qui privilégient la pêche à la langoustine en période hivernale	Flottille de petites unités (<10m) qui n'ont pas d'activité de remplacement en période hivernale			

Tableau 2 : Synthèse de l'impact potentiel des fermetures liées aux efflorescences à *Pseudo-nitzschia* établie à partir des discussions avec les représentants des professionnels.

¹ : source CDPMEM du Morbihan. ² : source CDPMEM du Finistère.

³ : source France AgriMer, données statistiques 2011, données de ventes déclarées en halles à marée de St Quay Portrieux et d'Erquy.

2.4.2 Quelques éléments de la presse

Bretagne

Coquilles. Réouverture trois ans après dans le Morbihan

21 octobre 2012

Après trois années de fermeture sanitaire, la pêche à la coquille Saint-Jacques va rouvrir en baie de Quiberon et dans les courreaux de Groix et de Belle-île. Début de la campagne le 29 octobre.



«Après trois années difficiles, c'est une bouffée d'oxygène, un gros soulagement pour tous les armements», savourait hier midi Gilles Hazevis, président de la commission coquilles au comité départemental des pêches du Morbihan. «Il faut savoir que pour certains bateaux, la coquille représente de 25 à 40% du chiffre d'affaires annuel».

Victimes de Xynthia

Une manne que les 74 coquilliers de la zone (tous Morbihannais, à l'exception de six bateaux du Croisic et six autres de La Turballe) s'apprêtent à retrouver après trois années de fermeture; partielle en 2009, totale en 2010 et 2011. En cause alors, l'importante concentration d'ASP, une toxine dangereuse pour la consommation humaine.



Concarneau. Coquilles saint-jacques des Glénan : pas de campagne de pêche en février

Faits de société jeudi 17 janvier 2013



Archives Ouest-France

Les dernières analyses du mois de décembre avaient laissé espérer une campagne de pêche à la coquille des Glénan pour le mois de février. Ce ne sera pas le cas. Vendredi, les résultats des prélèvements réalisés sur les trois sites de la baie de Concarneau en début de semaine dernière, ont parlé.

Pêche interdite

La concentration de toxine amnésiante sécrétée par la micro-algue Pseudo-nitzschia reste largement au-dessus du seuil sanitaire de 20 mg/kg de chair totale nécessaire pour rendre la coquille consommable dans son intégralité. « C'est triste à dire, commente Daniel Bigot, secrétaire du comité départemental des pêches. Les taux étant ce qu'ils sont, la pêche est interdite en l'état. »



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT

<p>Direction générale de l'alimentation Service de l'alimentation Sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments Bureau des produits de la mer et d'eau douce</p> <p>Adresse : 251 rue de Vaugirard 75 732 PARIS CEDEX 15</p> <p>Tél : 01.49.55.41.45 Courriel institutionnel : bpmed.sdssa.dgal@agriculture.gouv.fr Réf. Interne : 12-130 MOD10.21 F 20/07/12</p> <p>NOR : AGRG1236271N</p>	<p style="text-align: center;">NOTE DE SERVICE DGAL/SDSSA/N2012-8197 Date: 09 octobre 2012</p>
--	---

A l'attention de mesdames et messieurs les Préfets

En France, les principaux épisodes de contamination des coquillages par l'acide domoïque se sont produits en mai 2000 en Bretagne ouest dans des *Donax* et des moules puis dans les coquilles Saint-Jacques en Manche Est (novembre 2004 jusqu'à mi-2005), en rade de Brest (décembre 2004 à avril 2005, puis fin 2007) et en baie de Quiberon / Belle Île (tous les ans depuis 2005 en période de pêche). Depuis 2010, plusieurs zones de Bretagne (Morbihan, Finistère), des Pays-de-la-Loire (Loire-Atlantique) et de Charente Maritime ont été concernées par la présence de toxines du groupe de l'acide domoïque dans les coquillages. Depuis l'automne 2011, en plus des zones précédemment mentionnées, plusieurs zones de la Manche Est (Seine Maritime, Manche et Calvados) ont été concernées par la présence de toxines du groupe de l'acide domoïque dans les Coquilles St Jacques.

Conclusion du chapitre 2

Depuis le milieu des années 90 on assiste, pour la pointe et le sud Bretagne (« *Bretagne Atlantique* ») à une recrudescence du nombre de secteurs touchés par des efflorescences à *Pseudo-nitzschia*. Celles-ci s'accompagnent (depuis 2000) d'une progression du nombre de zones où la toxicité des coquillages est supérieure au seuil sanitaire et entraîne la fermeture des activités de pêche. Depuis 2010 les zones au Sud de la Loire sont aussi touchées. Ce sont les coquilles St Jacques, qui présentent des durées de décontamination beaucoup plus longues, qui sont le plus touchées. *Pseudo-nitzschia* représente le premier danger pour les pêcheurs en termes d'algues toxiques. La menace sur les pêcheries de coquilles Saint Jacques est réelle et a entraîné, d'une part des pertes économiques lors des épisodes de fermeture, d'autre part des ré-orientations soit par la mise en place d'une filière de décorticage soit par l'exploitation d'autres espèces au risque de fragiliser les stocks. Il faut espérer que les gisements de Bretagne-Nord et tout particulièrement celui de St Brieuc ne soit pas affecté par des fermetures de la pêche à la coquille St Jacques car l'impact économique serait alors important.

3. Les nouveaux enjeux scientifiques liés à la problématique *Pseudo-nitzschia*

3.1 *Pseudo-nitzschia* dans le contexte national (organisation d'une réunion avec les laboratoires de recherche impliqués sur *Pseudo-nitzschia*)

Nous avons réuni les scientifiques français travaillant sur *Pseudo-nitzschia* et ses toxines, le mardi 18 septembre 2012 à Ifremer Brest dans l'objectif de faire le point sur les connaissances et d'établir des pistes de recherche concertées. Cette réunion s'est faite dans le cadre du projet Dynapse (AELB).

Douze présentations ont été faites (voir programme de la réunion en annexe 10). Il ressort des exposés et des discussions que :

- En Baie de Seine, 2004 et 2011 sont des années à épisodes toxiques majeurs de toxicité mettant en cause les espèces *P. australis* et *P. multiseriis*. Ces mêmes années Si était limitant en été par rapport aux autres sels nutritifs. Les mesures *in situ* ont montré une coïncidence entre les blooms et la présence d'acide domoïque dans l'eau au printemps (au printemps groupe de larges dont *P. australis*), alors qu'en été présence de *P. americana* et absence d'acide domoïque. Il est beaucoup plus difficile de faire le lien entre *Pseudo-nitzschia* et les contaminations des coquillages dans les gisements exploités profonds qui restent encore contaminés depuis l'an dernier au printemps n+1.
- L'échantillonnage à haute fréquence réalisé en Baie de Concarneau en 2012 suggère que les espèces du genre *Pseudo-nitzschia* ont des phénologies spécifiques. En juin 2011, toujours dans la baie de Concarneau, un pic d'acide domoïque était coïncidant avec la dominance de *P. australis* dans la communauté à *Pseudo-nitzschia*.
- L'évènement exceptionnel (tempête Xynthia de 2010) a déclenché une efflorescence à *Pseudo-nitzschia* qui a entraîné une très forte contamination des coquillages (teneurs en acide domoïque > 400 µg/kg) qui ne sont pas encore décontaminés. Cet évènement, dont les causes n'ont pas toutes été encore expliquées, a tout particulièrement concerné le sud Bretagne et les Pertuis Charentais.
- Des observations au microscope ont montré l'existence de parasites de *Pseudo-nitzschia* (pseudo-champignons caractérisés génétiquement). En culture, jusqu'à 15 % de cellules pourraient être infectées. Ces parasites pourraient exercer un contrôle significatif dans la terminaison des efflorescences. Ce contrôle a jusqu'à présent été peu étudié.
- De nouveaux outils d'identification des espèces de *Pseudo-nitzschia* et de dosage *in situ* de l'acide domoïque sont en cours de développement. A court terme la méthode FISH pourrait être opérationnelle pour l'identification de certaines espèces.
- Les travaux d'écophysiologie réalisés dans le projet ANR Comanche ont permis de tester les facteurs température, lumière et sels nutritifs. La température favorise la croissance jusqu'à une température optimale mais différemment selon l'intensité lumineuse. Par contre la température a peu d'effet sur les paramètres photosynthétiques. Les *Pseudo-nitzschia* ont une bonne capacité d'acclimatation à la lumière. Les travaux de thèse d'A. Lelong (IUEM) ont montré que l'association de bactéries avec *Pseudo-nitzschia mulltiseriis* diminue sa croissance mais favorise significativement la production d'acide domoïque.
- La modélisation du genre *Pseudo-nitzschia* et du risque de contamination par l'acide domoïque est intégrée au modèle Previmer (www.previmer.org). La production d'acide domoïque est modélisée à partir des quotas cellulaires en N et Si et du rapport Si/N (Davidson et Feeling 2006). Le projet Apostrophe a pour objectif de fournir la prévision des blooms de *Pseudo-nitzschia* sur la zone de Quiberon. En Baie de Seine, le même exercice a lieu dans le cadre du projet Flam (Liteau – AESN), et il est prévu d'affiner la modélisation du genre *Pseudo-nitzschia* en prenant en compte cette fois l'espèce *P. australis*.

Plusieurs perspectives de recherche ont ensuite été évoquées et discutées :

In situ :

- Travailler sur les phénologies des espèces de *Pseudo-nitzschia* et les facteurs de contrôle des efflorescences (nutriments, prédation, parasitisme) et de la production d'acide domoïque.
- Améliorer l'identification des espèces avec des méthodes génétiques (FISH, PCR spécifiques, PCR quantitatives, metabarcoding) et définir des niches-écologiques intra/inter-spécifiques.
- Comprendre le lien entre espèces de *Pseudo-nitzschia* présentes et teneurs en acide domoïque dans l'eau et dans les coquillages : ou comment se fait la contamination. Notamment, comment se contaminent au fond les coquilles, par sédimentation des *Pseudo-nitzschia*, par d'autres espèces microphytobenthiques responsables de la production d'acide domoïque au fond (comme *Nitzschia* spp.), par des détritiques de *Pseudo-nitzschia* ou de zooplancton qui les auraient ingérés. Estimer l'importance de la re-contamination à partir du fond.

In Vitro :

- Obtenir et maintenir des cultures de *Pseudo-nitzschia* toxiques pour des expérimentations de physiologie.
- Elucider le rôle des bactéries et des parasites dans la synthèse de l'acide domoïque.

Analyse de données et Modélisation

- Comparer les épisodes de *Pseudo-nitzschia* en différentes zones du littoral Manche Atlantique, et les facteurs environnementaux concomitants et en déduire les conditions environnementales nécessaires aux blooms à partir des données déjà existantes.
- Modéliser l'espèce *Pseudo-nitzschia australis*, probablement la responsable des contaminations des coquillages à partir de paramètres écophysiologicals spécifiques.

NB : Il a été aussi discuté à cette réunion de la possibilité de constituer un Groupement De Recherche (GDR) qui réunirait la communauté algues toxiques. Aujourd'hui ce projet de GDR *Phycotox* a été déposé.

Le bilan de cette journée est à rapprocher de la discussion générale sur *Pseudo-nitzschia* qui s'est tenue lors des journées RePHY (Ifremer Nantes, 26-27 sept. 2012) et qui a rassemblé chercheurs et acteurs dans le domaine littoral. Quelques questions sont revenues plusieurs fois : quelle est le rôle du sédiment dans la contamination des coquillages ? Peut-on intégrer une incertitude sur les mesures de toxicité ? Comment expliquer une telle différence de cinétique de décontamination des coquilles St Jacques par rapport aux autres coquillages ?

3.2 *Pseudo-nitzschia* dans le contexte international (participation à un congrès international sur les algues toxiques)



Les congrès internationaux sur les microalgues toxiques (ICHA) organisés tous les deux ans par la société internationale d'études sur les microalgues toxiques (ISSHA) sont la meilleure occasion pour les chercheurs qui travaillent sur ces modèles de présenter leurs travaux de recherche au niveau international et d'échanger sur les nouvelles problématiques. En 2012, le congrès a eu lieu à Changwon en Corée du Sud du 29 Octobre au 2 Novembre 2012. Dans le bilan final du congrès, Alain Cembella président du comité scientifique, a mis en évidence en particulier les avancées technologiques (instrumentations *in situ*, méthodologies génétiques et génomique) pour les études sur les microalgues toxiques, l'importance des études sur les interactions entre les espèces (parasites, hétérotrophie, etc.) et les nouveaux risques associés aux microalgues toxiques benthiques.

En ce qui concerne les études sur *Pseudo-nitzschia* et l'acide domoïque, les travaux présentés à ce congrès étaient étonnamment peu nombreux (contrairement aux éditions précédentes).

Les études sur la diversité morphologique et génétique des *Pseudo-nitzschia* sont bien d'actualité surtout dans les pays où elle n'a été que peu explorée comme au Mexique (Licea et al., 2012) et en Corée du Sud (Kim et al., 2012). Une nouvelle espèce, *P. circumspora* a été isolée et décrite à partir des échantillons de Malaisie (Lim et al., 2012, premier prix du meilleur jeune scientifique) grâce à des critères morphologiques et génétiques. Une deuxième nouvelle espèce de diatomée benthique, *Nitzschia bizertensis*, potentiellement capable de produire l'acide domoïque a été décrite dans une lagune de la Tunisie (Bouchouicha Smida et al, 2012), la première étant *Nitzschia navis-varingica*. Ceci confirme que le risque de toxicité associé à l'acide domoïque ne vient pas que des espèces planctoniques du genre *Pseudo-nitzschia*, mais aussi d'autres espèces comme *Nitzschia* spp., qui peuvent proliférer dans les sédiments superficiels.

Une étude menée au large des côtes de la Galice pendant une campagne océanographique suggère que le développement des *Pseudo-nitzschia* spp., à la fois des groupes *seriata* et *delicatissima* (des larges et des fines), serait contrôlé par le cycle de marée, les concentrations plus élevées pour les deux groupes se trouvant en condition de marée basse. Les observations faites pendant la campagne suggèrent aussi que les *Pseudo-nitzschia* seraient transportées de la marge continentale vers la côte (Reguera et al., 2012). Des chercheurs (M. Lunven, P. Gentien) du laboratoire Dyneco/Pelagos ont participé à cette étude.

L'accumulation d'acide domoïque a été reporté dans trois copépodes (*Calanus glacialis*, *C. finmarchicus* et *C. hyperboreus*) nourris en laboratoire avec un clone toxique de *Pseudo-nitzschia seriata* qui est présent dans les eaux de l'Arctique. Les expériences de laboratoire ont montré que deux espèces de copépodes (*C. finmarchicus* et *C. hyperboreus*) ont souffert d'incapacité physique suite à l'accumulation d'acide domoïque. Cette étude montre que les copépodes, source de nourriture pour les organismes supérieurs comme les poissons, peuvent être un vecteur de toxicité dans la chaîne alimentaire de l'Arctique (Tammilehto et al., 2012).

Dyneco/Pelagos a présenté deux posters, 1) sur la méthode d'analyse de l'acide domoïque (Devez et al., 2012), 2) sur l'écologie moléculaire de *Pseudo-nitzschia* spp. (Siano et al., 2012,). Ces études étaient tout à fait pertinentes et d'actualité au sein du congrès et ont suscité l'attention de plusieurs collègues qui ont apprécié les résultats obtenus. Les titres, abstract et image des posters sont montrés ci-dessous.

1. High performance liquid chromatographic analysis of trace levels domoic acid in seawater and phytoplankton: improving selectivity by a two-step derivatization

A Devez, [R Siano](#) and D Delmas 2012.. XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012. Changwon, Gyeongnam, South Korea.

Abstract

Measuring domoic acid (DA) concentrations at trace levels is a significant challenge. The most commonly used method (HPLC-FLD), based on derivatization with 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOC-Cl), involves coupling the secondary amine function of DA with the FMOC-Cl derivatizing reagent. This method is sufficiently sensitive but suffers from poor selectivity since FMOC-Cl also reacts with primary amines resulting in interference from other amino acid compounds present in samples. OPA (*o*-phthaldialdehyde-mercaptoethanol) is another well known reagent for amino acids, which only reacts with primary amines. Differences in reactivity between these two reagents towards secondary amines provide an opportunity to avoid interference from primary amines by first reacting with OPA, followed by the specific detection of secondary amines using FMOC-Cl.

We have compared the original and two-step derivatization procedures in order to determine whether the two-step process results in improved selectivity of DA measurement without loss of sensitivity. Initial results show that the two-step derivatization produces cleaner chromatograms than the original method. Therefore, an improvement in selectivity is obtained especially for samples rich in amino acids (e.g. *Pseudo-nitzschia* cell culture extracts).

The double derivatization yields a 6-fold increase in fluorescence for the DA derivative and shows good reproducibility (RSD < 4% at the nanomolar level). These improvements seem to be linked to optimum pH conditions (9.2) for the reaction between DA and FMOC-Cl than those used for the single derivatization (7.5). Natural sample analyses by these two methods gave identical results. But an improved inter-operator reproducibility was obtained for the two-step derivatization procedure.

2. Spatio-temporal dynamics of toxic *Pseudo-nitzschia* species in Brittany (France).

[R Siano](#), C Dreanno, J Quere, V Le Roy, E Ducasse, E Nezan, A Youenou, A Devez and D Delmas. XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012. Changwon, Gyeongnam, South Korea.

Abstract

Long-lasting closures of shellfish harvesting are frequently reported along Brittany (France) coasts due to the detection in mollusks of domoic acid (DA), a potent amnesic toxin produced by *Pseudo-nitzschia* species. The 12 toxigenic *Pseudo-nitzschia* species are not ubiquitous at both spatial and temporal scale. Routine surveys of this potentially toxic phytoplankton (monitoring network REPHY) are usually based on light microscopy analyses, which only allow the separation of '*P. delicatissima* complex' (valvar width < 3µm) and the '*P. seriata* complex' (valvar width > 3 µm). Information of species-specific seasonalities are therefore overlooked.

Pseudo-nitzschia spp. assemblages were at spatial scale investigated in coastal and offshore Atlantic waters of Brittany (June 2011) and at temporal scale during their optimal natural blooming time (March-June 2012) in the Concarneau Bay. Fluorescent *In Situ* Hybridization (FISH) was developed and applied to detect and follow blooms of three potentially toxic pseudocryptic species (*P. australis*, *P. multiseriata* and *P. pungens*) and in parallel DA concentrations were analyzed.

At spatial scale northern populations differentiated for the higher relative importance of *P. multiseriata* which accounted for up to the 37% of the whole *Pseudo-nitzschia* community. The relative importance of both *P. pungens* and *P. multiseriata* increased from coastal to offshore waters in the Iroise Sea; across the Loire plume only *P. pungens* showed this pattern. *Pseudo-nitzschia australis* was present only at one station of the Bay of Concarneau, accounting for the 42% of the whole *Pseudo-nitzschia* spp. assemblage. Interestingly, the highest concentration of particulate DA was measured at this

station; notwithstanding both dissolved and particulate DA concentrations were inferior to alarming values. At temporal scale the tree target species stated developing in June, their species specific phenologies will be discussed.

Pseudo-cryptic *Pseudo-nitzschia* species can have both in space and in time at different relative importance in the whole *Pseudo-nitzschia* assemble, suggesting the existence of niche separation of single species.

High performance liquid chromatographic analysis of trace levels domoic acid in seawater and phytoplankton: improving selectivity by a two-step derivatization

A. DEVEZ, R. SIANO and D. DELMAS

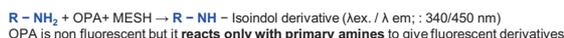
ISSHA Ifremer

Introduction & Objectives

Domoic Acid (DA) is a naturally occurring excitatory neurotoxic secondary amine produced by some species of *Pseudo-nitzschia*, that causes Amnesic Shellfish Poisoning (ASP). Studies on algal production of DA in cultures and field samples need sensitive methods. Measuring domoic acid concentrations at trace levels is still a significant challenge.

Overview of amino compounds analysis by HPLC fluorescence derivatization:

The most popular OPA / amino acid derivatization (Lindroth and Mopper, 1979)



Fluorescence derivatization of both primary and secondary amines (Einarsson et al., 1983)



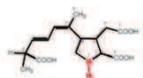
Domoic acid derivatization (Pocklington et al., 1990)



Selective derivatization of secondary amine (Einarsson, 1985)



The aim of this work is to test if the successive two-step derivatization carried out with *o*-phthalaldehyde (OPA) and 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOCCl) improved the selective determination of domoic acid at trace levels in both the dissolved and particulate field marine samples without any losses of sensitivity and reproducibility.



ABSTRACT

Measuring domoic acid (DA) concentrations at trace levels is a significant challenge. The most commonly used method (HPLC-FLD), based on derivatization with 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOCCl), involves coupling the secondary amine function of DA with the FMOCCl derivatizing reagent. This method is sufficiently sensitive but suffers from poor selectivity since FMOCCl also reacts with primary amines resulting in interference from other amino acid compounds present in samples. OPA (*o*-phthalaldehyde-mercaptoethanol) is another well known reagent for amino acids, which only reacts with primary amines. Differences in reactivity between these two reagents towards secondary amines provide an opportunity to avoid interference from primary amines by first reacting with OPA, followed by the specific detection of secondary amines using FMOCCl.

The double derivatization yields a 6-fold increase in fluorescence for the DA derivative and shows good reproducibility (RSD < 4% at the nanomolar level). These improvements seem to be linked to optimum pH conditions (9.2) for the reaction between DA and FMOCCl than those used for the single derivatization (7.5). We have compared the original and two-step derivatization procedures in order to determine whether the two-step process results in improved selectivity of DA measurement without loss of sensitivity. Initial results show that the two-step derivatization produces cleaner chromatograms than the original method. Therefore, an improvement in selectivity is obtained especially for samples rich in amino acids (e.g. *Pseudo-nitzschia* cell culture extracts). Natural sample analyses by these two methods gave identical results. But an improved inter-operator reproducibility was obtained for the two-step derivatization procedure.

Materials & Methods

DERIVATIZATION

900 µl sample
 + 100 µl borate buffer
 + 100 µl OPA/MeSH 30 s
 + 100 µl Iodoacetamide 30 s
 + 300 µl FMOCCl 30 s
 3 x 1,7 ml ethyl acetate wash
 + 10 µl acetic acid
 injection

Chromatographic separations were carried out exactly as in Pocklington et al (1990) on a Perkin Elmer Flexar HPLC system.

Results & Discussion

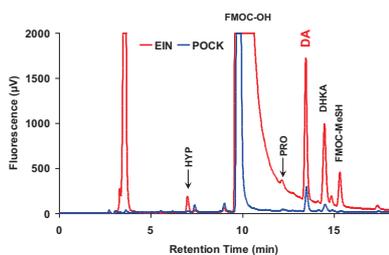


Fig. 1: Chromatograms of the same 32 nM DA working solution containing DHKA and traces of hydroxyproline (HYP) and proline (PRO) obtained by the single (blue) and the two-step (red) derivatization procedures.

For either derivatization method used, the retention times of both secondary amines and DA were basically the same. However for the two-step derivatization, the FMOCCl-OH peak, which starts at 9.5 min, is much wider. A late eluting peak corresponding to the FMOCCl-mercaptoethanol derivative (retention time = 15.4 min.), is still present even though iodoacetamide was added before the reaction with FMOCCl to block the excess of mercaptoethanol.

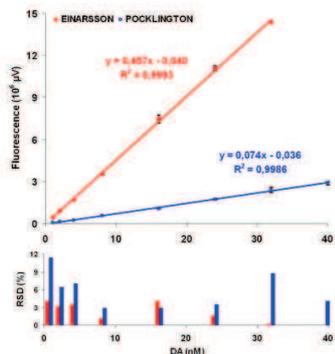


Fig. 2: DA calibration curves and relative standard deviation coefficients in % (RSD) obtained with the Einarsson and Pocklington methodologies respectively.

The double derivatization gives a large increase of the fluorescence response (~6). A better reproducibility is achieved (RSD < 4.5%; mean value = 2.8%) with the Einarsson protocol than with the Pocklington one (RSD < 12%, mean value = 5.8%). A limit of detection of 0.04 nM was achieved using both 1 nM standard solution and natural samples containing trace DA concentrations (0,898 nM ± 0,015nM, n=3).

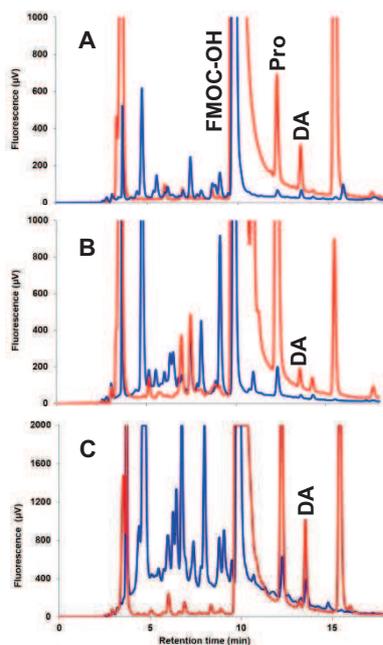


Fig. 3: Chromatograms obtained using Einarsson (red) and Pocklington (blue) derivatizations on *Pseudo-nitzschia australis* culture medium (A), particulate matter (B) and *Pseudo-nitzschia australis* cell extract (C).

In the culture medium, more additional peaks are present in the chromatogram obtained with the Pocklington derivatization than with the double derivatization. Most of them appear before the FMOCCl-OH peak (Fig. 3A). The same trend was observed for extracts (Fig. 3B and C). With the Pocklington protocol, a lot of unresolved peaks overlap and produce a large drift of the baseline. This is not the case with the two-step derivatization method where additional peaks remain scarce with no drift of the baseline. As in particulate organic matter, DA and intracellular amino acids are extracted simultaneously; the overlapping of a lot of compounds before the FMOCCl-OH peak is even more important if the sample is rich. As expected, the double derivatization procedure allows the removal of all primary amino acids present in both batch cultures and field samples.

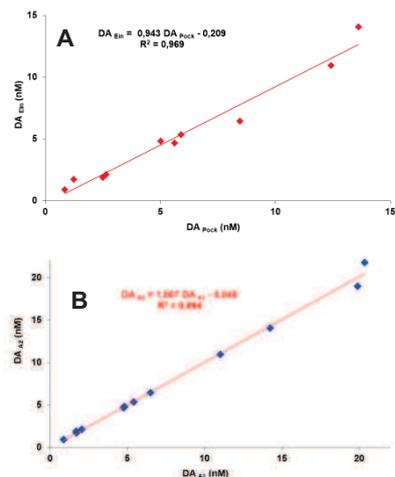


Fig. 4: Inter-calibration between single and two step derivatization performed on natural marine samples (A); and inter-operator reproducibility for the two-step procedure (B).

Inter-calibration between methods was essentially performed on particulate material extracts from natural marine samples collected during the PSEUTEC cruise in 2011 (Southern-Brittany coastal waters, France). In the low concentration range tested, both derivatization protocols gave results perfectly correlated and fully comparable (Fig. 4A). These initial results are encouraging but they will merit to be confirmed on a wider range of dissolved and particulate DA concentrations.

Finally, during this experiments some extracted samples were analyzed at 10 d intervals by two analysts and a very good agreement has been obtained between them (Fig 4B).

Conclusions

This optimization of the Pocklington method by a two-step derivatization process (OPA-MeSH and FMOCCl) is more **selective, accurate and sensitive** and allows quantification of trace levels of dissolved and particulate domoic acid by giving clearer chromatograms without co-elutions. Moreover, an improved inter-operator reproducibility was also obtained with the two-step derivatization method.

References & Acknowledgements

Einarsson et al., 1983. J Chromatogr, 282 : 609-6180.
 Einarsson S., 1985. J Chromatogr., 348 : 213-220.
 Lindroth P., Mopper K., 1979. Anal Chem 51: 1667-1674.
 Pocklington et al., 1990. Intern J Environ Anal Chem 38: 351-368.

A. DEVEZ was funded by an IFREMER postdoctoral fellowship.
 Thanks to the Conseil Général du Finistère and to Brest Océane Métropole for funding.



raffaele.siano@ifremer.fr

Ifremer



Spatio-temporal dynamics of toxic *Pseudo-nitzschia* species in Brittany (France)



Raffaele Siano¹, Catherine Dreanno², Julien Quere¹, Valerian Le Roy^{1,2}, Emmanuel Ducasse^{1,2}, Elisabeth Nezan³, Agnes Youenou¹, Aurelie Deveze¹ and Daniel Delmas¹

¹ Ifremer – Centre de Brest – DYNECO/Pelagos, BP 70, 29280 Plouzané, France.
² Ifremer – Centre de Brest – Service Interfaces et Capteurs, BP 70, 29280 Plouzané, France
³ Ifremer – Station de Biologie Marine – LER/FBN, 29185 Concarneau Cedex, France

Introduction

Long-lasting closures of shellfish harvesting are frequently reported along Brittany (NW France) coasts due to toxic *Pseudo-nitzschia* blooms and the detection of domoic acid (DA) in shellfish.

Pseudo-nitzschia calliantha, *P. multiseries* and *P. australis* have been already identified in occasion of DA accumulation in shellfish. However spatial and temporal dynamics of these species as well as of other pseudocryptic species (e.g. *P. pungens*) are not well known since in the frame of routine monitoring analyses in light microscopy species identification is not performed. Only the quantification of the *P. delicatissima* complex (valvar width <3 µm) and of the *P. seriata* complex (v. w. >3 µm) is assured by the national REPHY network (Réseau de surveillance et d'observation du phytoplancton et des phycotoxines).

With the double aim of identifying spatial and temporal patterns of toxic pseudocryptic *Pseudo-nitzschia* species and developing genetic methods for species identification adapted to monitoring activities, we tested i) the Fluorescence *in situ* hybridisation (FISH) and ii) the species-specific ITS genomic amplification (PCR) on samples collected in Brittany waters.

Material & Methods

Species	QPC (overall)	Pdelicatissima	PaustralisQ3R	Pmultiseries2	Ppungens	Pfraudenta3
<i>P. delicatissima</i>	**	-	-	+++	-	-
<i>P. pungens</i>	**	+	-	-	+++	-
<i>P. australis</i>	**	-	+++	-	-	-
<i>P. fraudulenta</i>	**	-	-	-	-	-
<i>P. delicatissima</i>	**	+++	+	-	-	-



The specificity and the relative hybridisation signal intensity (+/-) of probes have been tested on monoclonal, mid-exponential growing cultures obtained from cells isolated in the Concarneau Bay (Brittany). Cultures were genetically characterised before FISH tests. Positive and specific probe signals have been obtained for *P. australis*, *P. delicatissima*, *P. multiseries* and *P. pungens*. Negative signal have been obtained for *P. fraudulenta* using different ITS probes.

Fluorescence *in situ* hybridisation (FISH):

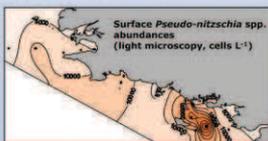
The experimental protocol developed by Miller & Scholin (2000, J. Phycol. 36: 238-250) for FISH analyses on *Pseudo-nitzschia* spp. has been improved adding cold methanol washings after cell fixation. ITS probes have been newly developed and tested on culture, natural and net-tow samples. Specific hybridization (50°C) and washing temperature (52°C) has been set on the basis of probe melting temperature.

Species-specific genomic identification by PCRs
On the basis of the genus phylogeny, species-specific ITS primers have been designed for some *Pseudo-nitzschia* species. These primers have been tested on phytoplankton genomic DNA collection before their application on Lugol fixed (25ml) natural samples.

Domoic acid analyses:
Particulate DA concentrations have been analysed by HPLC.

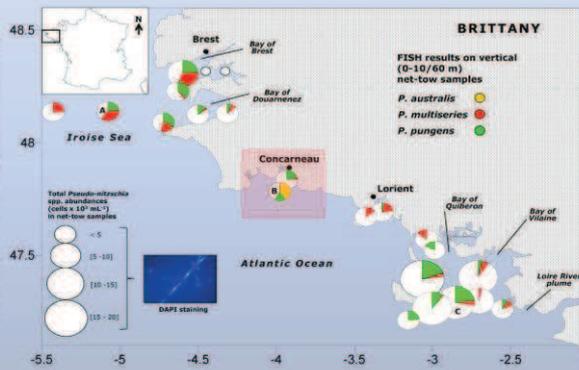
Results

Spatial dynamic (Juin 2011)



Low total *Pseudo-nitzschia* spp. abundances (max. 49.7 x 10³ cells L⁻¹) were observed across the study area.

A bloom of a species of the *P. delicatissima* complex was detected at surface in the southernmost zone (Loire River plume) in correspondence of the highest temperature (15.4 °C), the lowest salinity (35.4 psu) and nutrient concentrations (SiO₂: 0.8; NO₃: 0.1; PO₄: 0.03 µmol L⁻¹).

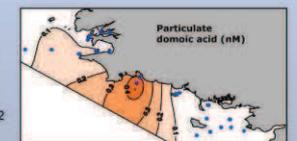


P. pungens and *P. multiseries* were sympatric in most of the analysed samples.

The relative importance of *P. multiseries* varied across the studied area, being more important in the northern zone (Iroise Sea) (max. 37% of total *Pseudo-nitzschia* spp. assemblage) than in the south (max. 19%).

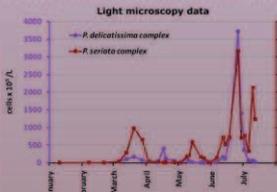
Relative importance of *P. pungens* increased from coast (8%) to large (23%) across the Loire River plume.

P. australis was detected by FISH only in the Concarneau Bay, with a relative importance of 42%.



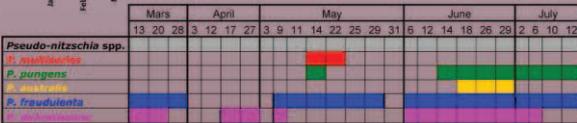
The highest surface particulate DA concentrations (0.4 nM) were observed in the Concarneau Bay (station B), in correspondence of the presence of *P. australis*.

Temporal dynamic in the Concarneau Bay (January-July 2012)



Species of the *P. delicatissima* complex were dominant all along the studied period, blooming (max 3.7 x 10⁶ cells L⁻¹) in June (16.9°C), in coincidence with the highest abundances (max. 3.2 x 10⁶ cells L⁻¹) of the *P. seriata* complex and low Si/N ratio (2.5).

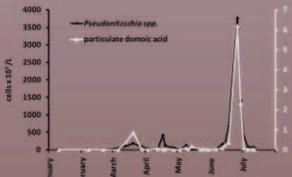
PCR analyses revealed different periods of occurrence of the selected *Pseudo-nitzschia* species, suggesting specific phenological signatures and the temporal separation of pseudocryptic species (*P. multiseries* and *P. pungens*).



The highest abundances of both *P. seriata* and *P. delicatissima* complexes coincided in June with a peak of particulate DA concentration (6.2 nM)

This event corresponded to a contamination (max. 86.8 mgDA/kg) of commercial shellfish (*Pecten maximus*) which overtook sanitary threshold (20 mgDA/kg).

Two monoclonal cultures of *P. pungens* obtained from cells isolated during the bloom resulted lightly toxic. Despite *P. australis* also occurred in June, no culture was obtained.



Electron microscopy analyses (SEM) on three selected net-tow samples collected at station A, B, C confirmed the presence and the patterns of relative abundance of the species detected by FISH.

P. australis was found also at stations A and B, but at very low concentrations. In addition to species detected by FISH, *P. fraudulenta* was also identified at stations A, B, C, being more abundant at station C.

At station C a species of the *P. delicatissima* complex (*P. pseudodelicatissima* group) was dominant, that confirms light microscopy observations.



Conclusions

- The pseudocryptic species *P. multiseries* and *P. pungens* are sympatric in Brittany waters, but they could be characterised by different phenologies, thus being separated in time rather than in space.
- P. australis* is likely to be the major worrying species in Brittany since its presence has been associated to peaks of particulate DA, corroborating past observations. Predictive models should now be developed for this species to forecast harmful blooms.
- Local species-specific threshold concentrations (e.g. for *P. australis*) are needed to progress in coastal monitoring and quantitative genetic methods should be developed in this sense.

3.3 Proposition d'un projet de recherche sur l'écologie et la prédiction des blooms toxiques de *Pseudo-nitzschia*

Suite à la discussion avec les scientifiques français impliqués dans la problématique *Pseudo-nitzschia*-ASP (paragraphe 3.1) et l'évolution de celle-ci dans le contexte international (paragraphe 3.2), il apparaît qu'une future piste de recherche devrait viser à :

Vérifier l'hypothèse que ces dernières années *P. australis* est l'origine la plus probable de la toxicité dans les coquillages.

Pour vérifier cette hypothèse nous envisagerions de :

- Effectuer une analyse rétrospective des données historiques portant à la fois sur *Pseudo-nitzschia*, les épisodes toxiques ASP, ainsi que les flores associées et les facteurs environnementaux liés aux efflorescences dans 6 sites ateliers choisis sur la base de l'analyse préliminaire effectuée dans le cadre de ce rapport. Les sites choisis seraient : Baie de Seine, Rade de Brest, Baie de Concarneau, Baie de Quiberon, Pertuis breton et Baie de St Brieuc (pour 'témoin négatif' car ce site est caractérisé par la présence de *Pseudo-nitzschia* spp mais sans toxicité). L'objectif étant de déterminer les niches écologiques liées aux blooms de *Pseudo-nitzschia* dans ces différents sites.
- Mesurer *in situ* la succession des espèces de *Pseudo-nitzschia* pendant une année, avec des méthodes génétiques dans ces six sites ateliers.
- Analyser sur ces mêmes sites et pour la même période les taux de contamination et de décontamination *in situ* des coquillages (moules et coquilles Saint Jacques) marqués.
- Etudier *in vitro* et *in situ* les facteurs biologiques qui déterminent l'apparition et la disparition de l'espèce (prédateurs, bactéries, parasites)
- Modéliser la phénologie de l'espèce *P. australis* avec des paramètres physiologiques spécifiques, calibrer et valider le modèle Previmer.

Références

- Amzil, Z., Fresnel, J., Le Gal, D. & Billard, C., 2001. Domoic acid accumulation in French shellfish in relation to toxic species of *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *P.pseudodelicatissima*. *Toxicon* 39, 1245-1251.
- Amzil Z., Royer F., Sibat M., Fiant L., Gelin M., Le Gal D., Françoise S. 2009. First report on amnesic and diarrhetic toxins detection in French scallops during 2004-05 monitoring surveys. Sixth International Conference on Molluscan Shellfish Safety. Blenheim, New Zealand, 18-23 March.
- Bargu S, Silver MW, Ohman MD, Benitez-Nelson CR, Garrison DL, 2012. Mystery behind Hitchcock's birds. *Nature Geoscience* 5: 2-3
- Bates SS, Worms J, Smith JC, 1993. Effects of ammonium and nitrate on growth and domoic acid production by *Nitzschia pungens* in batch culture. *Can J Fish Aquat Sci* 50: 1248-1254.
- Bates S.S., 1998. Ecophysiology and metabolism of ASP toxin production. In: Anderson, D.M., A. D. Cembella, and G. M. Hallegraeff, (Ed.), *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 407-426.
- Bates S.S., Douglas D.J., Doucette G.J., Léger C., 1995. Enhancement of domoic acid production by reintroducing bacteria to axenic cultures of the diatom *Pseudo-nitzschia multiseriata*. *Nat Toxins* 3: 428-435.
- Bates S.S., Garrison D.L., Horner R.A., 1998. Bloom dynamics and physiology of domoic acid producing *Pseudo-nitzschia* species. In: Anderson, D.M., A. D. Cembella, and G. M. Hallegraeff, (Ed.), *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 267-292.
- Bates S.S., Gaudet J., Kaczmarek I., Ehrman J.M., 2004. Interaction between bacteria and the domoic-acid-producing diatom *Pseudo-nitzschia multiseriata* (Hasle) Hasle. Can bacteria produce domoic acid autonomously? *Harmful Algae* 3: 11-20.
- Bates S.S., Trainer V.L., 2006. The Ecology of Harmful Diatoms. In: Granéli, E. Turner, J.T. (Eds.), *Ecology of Harmful Algae*. Springer-Verlag, Berlin.
- Belin C. & Neaud-Masson N., 2012. Cahier de Procédures REPHY 2012-2013. Document de prescription. Document Ifremer/ODE/DYNECO/VIGIES/12-07.
http://envlit.ifremer.fr/content/download/81386/558742/version/4/file/Cahier_REPHY_2012_version_finale_12_sep_+2_012.pdf
- Belin C., Claisse D., Daniel A., Fleury E., Le Mao P., Marchand M., Nedellec M., Boisseaux A., Soudant D., 2012. Qualité du Milieu Marin Littoral. Synthèse Nationale de la Surveillance 2011. Edition 2012. Rapport ODE/DYNECO/VIGIES/12.09.
<http://envlit.ifremer.fr/content/download/81498/559447/version/4/file/SyntheseNationaleBullSurvED2012.pdf>
- Billard C., Fresnel J., Chrétiennot-Dinet M.J., 2001. Les espèces productrices de phycotoxines marines et leur détection. In : Frémy, J.M. and Lassus, P. (Eds), *Toxines d'algues dans l'alimentation*. Editions Ifremer, Plouzané, pp. 129-156
- Bogan Y.M., Kennedy D., Harkin A.L., Gillespie J., Hess P., Slater J.W. 2006. Comparison of domoic acid concentration in king scallop, *Pecten maximus* from seabed and suspended culture systems. *J Shellfish Res* 25 :129-135.
- Bogan Y.M., Harkin A.L., Gillespie J., Kennedy D.J., Hess P., Slater J.W., 2007. The influence of size on domoic acid concentration in king scallop, *Pecten maximus*. *Harmful algae* 6: 15-28.
- Bouchouicha Smida D., Lundholm N., Kooistra W.H.C.F., Sahraoui I., Ruggiero M. V., Ellegaard M., Lambert C., Mabrouk H. H., Sakka Hlaili A. 2012 Morphology and molecular phylogeny of *Nitzschia bizertensis* sp. nov. – a new domoic acid producer. XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012, Changwon, Gyeongnam, South Korea book of abstract pag 146.
- Campbell, D. A., Kelly, M. S., Busman, M., Bolch, C. J., Wiggins, E., Moeller, P. D. R., Morton, S. L., Hess, P. & Shumway, S. E., 2001. Amnesic shellfish poisoning in the king scallop, *Pecten maximus*, from the west coast of Scotland. *Journal of Shellfish Research* 20, 75-84.
- Caron, D. A., Garneau, M. E., Seubert, E., Howard, M. D. A., Darjany, L., Schnetzer, A., Cetinic, I., Filteau, G., Lauri, P., Jones, B. & Trussell, S., 2010. Harmful algae and their potential impacts on desalination operations off southern California. *Water Research* 44, 385-416.
- Caroppo, C., Congresti, R., Bracchini, L. & Albertano, P., 2005. On the presence of *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle and *Pseudo-nitzschia delicatissima* Heiden in the Southern Adriatic Sea (Mediterranean, Italy). *J. Phycol.* 27, 763–774.
- Cho E.S., Hur H.J., Byun H.S., Lee S.G., Rhodes L.L. Jeong, C.S. & Park, J. G. 2002. Monthly monitoring of domoic acid producer *Pseudo-nitzschia multiseriata* (Hasle) Hasle using species-specific DNA probes and WGA lectins and abundance of *Pseudo-nitzschia* species (Bacillariophyceae) from Chinhae Bay, Korea. *Botanica Marina* 45: 364-372.

- Cusack, C. K., Bates, S. S., Quilliam, M. A., Patching, J. W. & Raine, R., 2002. Confirmation of domoic acid production by *Pseudo-nitzschia australis* (Bacillariophyceae) isolated from Irish waters. *Journal of Phycology* 38, 1106-1112.
- D'Alelio D., Ribera d'Alcala M., Dubroca L., Sarno D., Zingone A., Montresor M., 2010. The time for sex: a biennial life cycle in a marine planktonic diatom. *Limnol Oceanogr* 55: 106-114.
- Davidson K., Fehling J., 2006. Modelling the influence of silicon and phosphorus limitation on the growth and toxicity of *Pseudo-nitzschia seriata*. *African J Mar Sci*. 28: 357-360
- Devez A., Siano R., Delmas D. 2012. High performance liquid chromatographic analysis of trace levels domoic acid in seawater and phytoplankton: improving selectivity by a two-step derivatization. XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012, Changwon, Gyeongnam, South Korea, book of abstract pag 118.
- Dortch Q, 1990. The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser*. 61: 183-201.
- Fehling J., Davidson K., Bolch C.J., Bates S.S., 2004. Growth and domoic acid production by *Pseudo-nitzschia seriata* (bacillariophyceae) under phosphate and silicate limitation. *J. Phycol.* 40: 674-683.
- Fehling J., Davidson K., Bolch C.J., Bates S.S., 2004. Growth and domoic acid production by *Pseudo-nitzschia seriata* (bacillariophyceae) under phosphate and silicate limitation. *J. Phycol.* 40: 674-683.
- Fehling J., Davidson K., Bolch, C. & Tett P. 2006. Seasonality of *Pseudo-nitzschia* spp. (Bacillariophyceae) in western Scottish waters. *Mar Ecol Prog Ser* 323: 91-105.
- http://www.franceagrimer.fr/content/download/3235/17763/file/2008_bilan%20production.pdf
- http://www.franceagrimer.fr/content/download/3228/17703/file/bilan_ham-2009.pdf
- <http://www.franceagrimer.fr/content/download/6296/33917/file/bilan-ham-2010-f.pdf>
- http://www.franceagrimer.fr/content/download/15478/115532/file/BIL-MER-Bilan_HAM-2011.pdf
- Gallacher, S., Howard, G., Hess, P., MacDonald, E., Kelly, M. C., Bates, L. A., Brown, N., Mackenzie, M., Gillibrand, P. & Turnell, W. L., 2001. The occurrence of amnesic shellfish poisons in shellfish from Scottish waters. In : Hallegraeff, G.M., Blackburn, S.I. & Bolch, J.C. (Eds.), Harmful Algal Blooms 2000. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp 30-33
- Hallegraeff, G. M., 2003. Harmful algal blooms : a global overview. In : Hallegraeff, G. M., Anderson, D. M. & Cembella, A. D. (Eds.), Manual on Harmful Marine Microalgae. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp 25-49.
- Hallegraeff G M, 2010. Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge. *J Phycol* 46: 220-235.
- Hasle, G.R., 1965. *Nitzschia* and *Fragilariopsis* species studied in the light and electron microscopes. II. The group *Pseudo-nitzschia*. *Skrifter utgitt av Det Norske Videnskaps-Akademi I Oslo, I. Mate-mastisk-Naturvidenskapelige Klasse*. Ny Serie 18:1-49.
- Hasle G.R. 2002. Are most of the acid domoic acid-producing species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* cosmopolites? *Harmful Algae News* 33: 6-7.
- Holtermann K.E., Bates S.S., Trainer V.L., Odell A., Armbrust E.V. 2010. Mass sexual reproduction in the toxigenic diatoms *Pseudo-nitzschia australis* and *P. pungens* (Bacillariophyceae) on the Washington coast, USA. *J Phycol* 46: 41-52.
- Howard M.D.A., Cochlan W.P., Ladizinsky N., Kudela R.M., 2007. Nitrogenous preference of toxigenic *Pseudo-nitzschia australis* (bacillariophyceae) from field and laboratory experiments. *Harmful Algae* 6: 206-217.
- IOC-UNESCO. Taxonomic reference list of harmful micro algae. Disponible sur : <http://www.marinespecies.org/hab/index.php>
- James K.J., Gillman M., Amandani M.F., Lopez-Rivera A., Puente P.F., Lehane M., Mitrovic S., Furey A., 2005. Amnesic shellfish poisoning toxins in bivalves molluscs in Ireland. *Toxicon* 46 : 852-858.
- Kim J-H, Cho S-Y, Han M-S., 2012. The appearance of *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species in Korean coastal waters and genetic polymorphisms of the internal transcribed spacer region in *P. pungens*. XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012, Changwon, Gyeongnam, South Korea book of abstract pag 98.
- Klein, C., Claquin, P., Bouchart, V., Le Roy, B. & Véron, B., 2010. Dynamics of *Pseudo-nitzschia* spp. And domoic acid production in a macrotidal ecosystem of the eastern English channel (Normandie, France), *Harmful algae*, 9: 218-226
- Lelong A., Hégaret H., Soudant P., Bates S.S., 2012. *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms. *Phycologia* 51: 168-216.
- Licea S., Cortés-Altamirano R., Moreno J.L., Zamudio M.E. Luna R., 2012. *Pseudo-nitzschia* species in the souther Gulf of Mexico: data base 1979-2010, 2012. XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012, Changwon, Gyeongnam, South Korea book of abstract pag 100.

- Lim H.-C., Leaw C.-P., Nyun-Pau S., Teng S.-T., Usup G., Mohammad-Noor, N. Lundholm, N. Kotaki, Y. & Lim P.-T. 2012. Morphology and molecular characterization of *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) from Malaysian Borneo, including the new species *Pseudo-nitzschia circumpora* sp. nov.. *J. Phycol.* 48: 1232-1247.
- Lundholm, N., Hansen, P.J. & Kotaki, Y., 2004. Effect of the pH on growth and domoic acid production by potentially toxic diatoms of the genera *Pseudo-nitzschia* and *Nitzschia*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 273, 1–15.
- Lundholm, N., Skov, J. & Pocklington, R., 1997. Studies on the marine phytoplanktonic diatom *Pseudo-nitzschia*. 2. Autoecology of *P. pseudodelicatissima* based on isolates from Danish coastal waters. *Phycologia* 36, 381–388.
- Lundholm N., Moestrup Ø., Hasle G.R., Hoef-Emden K., 2003. A study of the *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima/cuspidata* complex (Bacillariophyceae): what is *P. pseudodelicatissima*?. *J. Phycol.* 39: 797-813.
- Lundholm, N., Moestrup, O., Kotaki, Y., Hoef-Emden, K., Scholin, C. & Miller, P., 2006. Inter- and intraspecific variation of the *Pseudo-nitzschia delicatissima* complex (Bacillariophyceae) illustrated by rRNA probes, morphological data and phylogenetic analyses. *Journal of Phycology* 42, 464-481.
- Maldonado M.T., Hughes M.P., Rue E.L., Wells M.L., 2002. The effect of Fe and Cu on growth and domoic acid production by *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *Pseudo-nitzschia australis*. *Limnol. Oceanogr.* 47: 515-526.
- Miguez, A., Fernandez, M. L. & Fraga, S., 1996. First Detection of Domoic Acid in Galicia (NW of Spain). In : Yasumoto, T., Oshima, Y. & Fukuyo, Y. (Eds.), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp 143-145.
- Nézan, E., Antoine, E., Fiant, L., Amzil, Z. & Billard, C., 2006. Identification of *Pseudo-nitzschia australis* and *P. multiseriata* in the Baie of Seine. Was there a relation to presence of domoic acid in king scallops in autumn 2004? *Harmful Algae News* 31, 1-3.
- Nézan, E., Chomérat, N., Bilien, G., Boulben, S., Duval, A. & Ryckaert, M., 2010. *Pseudo-nitzschia australis* on French Atlantic coast-an unusual toxic bloom. *Harmful Algae News* 41, 1-2.
- Nézan E. & Chomérat N. 2009. Diversité, variabilité inter-annuelle et saisonnière du genre *Pseudo-nitzschia* sur les côtes du Finistère. Colloque de l'Association des Diatomistes de Langue Française, 7 Septembre, Banyuls-sur-Mer, France.
- Quiroga, I., 2006. *Pseudo-nitzschia* blooms in the Bay of Banyuls-sur-Mer, Northwestern Mediterranean Sea. *Diatom Res.* 21, 91–104.
- Pan Y.L., Subba Rao D.V., Mann K.H., 1996. Changes in domoic acid production and cellular chemical composition of the toxigenic diatom *Pseudo-nitzschia multiseriata* under phosphate limitation. *J Phycol* 32 : 371-381.
- Reguera B., Díaz P. A., Ramilo I., Villarreal M. R., Velo-Suarez L., Gentien P., Lunven M., Fernand L., Raine R., 2012. XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012, Changwon, Gyeongnam, South Korea book of abstract pag 138.
- Rhodes, L. R., 1998. Identification of potentially toxic *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) in New Zealand coastal waters, using lectins, *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 32:4, 537-544
- Shipe R.F., Leinweber A., Gruber N., 2008. Abiotic controls of potentially harmful algal blooms in Santa Monica Bay, California. *Continental Shelf Research* 28: 2584-2593.
- Siano R, Dreanno C, Quere J, Le Roy V, Ducasse E, Nezan E, Youenou A, Devez A and Delmas D, 2012. Spatio-temporal dynamics of toxic *Pseudo-nitzschia* species in Brittany (France). XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012, Changwon, Gyeongnam, South Korea book of abstract pag 136.
- Spatharis S., Tsirtis G., Danielidis D.B., Chi T.D., Mouillot D., 2007. Effects of pulsed nutrient inputs on phytoplankton assemblage structure and blooms in an enclosed coastal area. *Est Coast Shelf Sci* 73: 807-815.
- Stewart J.E., Marks L.J., Wood C.R., Risser S.M., Gray S. 1997. Symbiotic relations between bacteria and the domoic acid-producing diatom *Pseudo-nitzschia multiseriata* and the capacity of these bacteria for gluconic acid / gluconolactone formation. *Aquat Microb. Ecol.* 12: 211-221.
- Stewart J.E., 2008. Bacterial involvement in determining domoic levels in *Pseudo-nitzschia multiseriata* cultures *Aquat Microb Ecol* 50 : 135-144.
- Tammilehto A., Nielsen T.G., Krock B., Lundholm N., 2012. Are toxic diatoms a problem in the Arctic?- focusing on zooplankton as potential vector. XV international conference on Harmful Algae, 29 October -2 November 2012, Changwon, Gyeongnam, South Korea book of abstract pag 38.
- Thessen, A.E., Dortch, Q., Parsons, M.L. & Morrison, W., 2005. Effect of salinity on *Pseudo-nitzschia* species (Bacillariophyceae) growth and distribution. *J. Phycol.* 41, 21–24.
- Trainer V. L., Hickey B.M. & Homer R.A. 2002. Biological and physical dynamics of domoic acid production off the Washington coast. *Limnology and Oceanography* 47, 1438-1446.
- Trainer V.L., Bates S.S., Lundholm N., Thessen A.E., Cochlan W.P., Adams N.G., Trick C.G., 2012. *Pseudo-nitzschia* physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health. *Harmful Algae* 14 : 271-300.

Wright, J. L. C., Boyd, R. K., Defreitas, A. S. W. & other authors, 1989. Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino-acid, in toxic mussels from eastern Prince Edward Island. *Canadian Journal of Chemistry-Revue Canadienne De Chimie* 67, 481-490.

ANNEXES 1 à 8

Les résultats présentés dans les annexes 1 à 8 proviennent des données stockées dans la base Ifremer / Quadrigé², et acquises dans le cadre du Réseau REPHY

Annexe 1 : Nombre d'occurrences de chaque taxon appartenant au genre Pseudo-nitzschia, sur la période 1990-2012

	Pseudo-nitzschia	complexe americana (americana)	complexe seriata, groupe des larges, (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	groupe des larges symétriques (fraudulenta)	complexe seriata, groupe des effilées, (multiseries + pungens)	complexe delicatissima, groupe des fines (calliantha + delicatissima + pseudodelicatissima)	groupe des sigmoïdes (multistriata)
020 - Baie du Mont Saint-Michel	375	3	87	253	39	2	346	22
021 - Rance - estuaire et large	228	6	24	250	24	4	280	22
022 - Arguenon - estuaire et large	112	5	36	324	38	8	407	35
025 - Baie de Saint-Brieuc - fond de baie	171	12	38	262	43	13	328	41
026 - Baie de Paimpol	1	0		1	0	0	1	0
027 - Trieux - Bréhat	164	14	32	400	35	9	482	31
028 - Jaudy	56	0		77	0	0	76	0
029 - Jersey - Guernesey		0		0	0	0	1	0
031 - Perros Guirrec	32	3	16	3	8	9	17	12
032 - Baie de Lannion	258	18	78	294	39	46	394	23
033 - Baie de Morlaix - large	34	2	5	12	16	6	39	8
034 - Rivière de Morlaix	280	6	6	65	32	36	103	18
035 - Penzé	63	0	2	6	12	12	15	1
037 - Ouessant - Abers	206	9	18	45	51	58	143	2
038 - Iroise - Camaret	159	3	27	62	64	86	144	7
039 - Radé de Brest	521	11	26	97	68	80	198	7
040 - Baie de Douarnenez	284	9	34	123	80	115	193	27
042 - Baie d'Audierne	342	13	24	66	79	105	169	8
043 - Concarneau large - Glénan	290	0		98	0	68	73	0
044 - Bénodet	4	0		0	0	0	0	0
045 - Rivière de Pont L'Abbé	22	0	1	5	1	4	6	0
047 - Baie de Concarneau	128	7	24	61	86	110	148	10
048 - Aven - Belon - Laïta	140	1	14	18	17	51	49	6
049 - Radé de Lorient - Groix	467	0	54	0	4	48	75	4
050 - Scorff - Blavet	1	0		0	0	0	0	0
051 - Petite mer de Gâvres	68	1	34	0	8	23	44	0
052 - Baie d'Etel	56	4	18	1	3	13	25	4
053 - Rivière d'Etel	152	0	31	1	5	22	42	0
054 - Belle-Ile - Houat - Hoëdic	147	0	26	0	3	21	31	1
055 - Baie de Quiberon	485	0	48	2	9	39	70	5
056 - Baie de Plouharnel	99	0	12	1	2	4	19	0
057 - Rivière de Crac'h	93	0	12	0	1	7	20	0
058 - Golfe du Morbihan - large	49	0	0	0	0	0	0	0
059 - Saint-Philibert - Le Breneguy	108	0	12	0	1	8	19	0
060 - Rivière d'Auray	52	0	0	0	0	0	0	0
061 - Golfe du Morbihan	169	0	30	1	5	22	48	2
062 - Baie de Vilaine - large	83	1	32	2	3	32	37	0
063 - Baie de Vilaine - côte	851	4	56	39	18	69	94	14
064 - Rivière de Peneuf	150	0	15	1	3	14	19	0
065 - Estuaire de la Vilaine	539	0	43	3	12	40	58	1
066 - Pen Bé	456	0	18	88	6	20	37	1
067 - Traict de Pen Bé		0		54	0	0	15	0
068 - Traicts du Croisic	470	3	32	205	19	33	94	6
069 - Loire - large	599	0	11	77	1	5	27	0
070 - Estuaire de la Loire	416	0	10	72	0	9	14	0
071 - Baie de Bourgneuf	784	6	26	225	18	24	55	8
072 - Vendée Nord	525	0	2	117	1	8	16	0
073 - Atlantique - large		0		1	0	0	0	0
074 - Olonne - Le Payré	950		42	151	1	4	53	0
075 - Ouest îles de Ré et d'Oléron	52	0	18	0	0	0	27	0
076 - Pertuis Breton	1145	0	74	52	0	24	113	0
077 - Baie de l'Aiguillon	428	0	28	11	0	5	28	0
079 - Pertuis d'Antioche	911	0	48	24	0	16	76	0
080 - Marennes Oléron	395	1	35	118	0	4	129	0
081 - Rivière de la Charente	65	0	4	0	0	0	3	0
082 - Pertuis de Maumusson	368	0	41	73	0	6	131	0
083 - Rivière de la Seudre	164	0	5	1	0	0	10	0
084 - Aval et large de la Gironde	53	1	15	0	0	0	22	0
085 - Estuaire de la Gironde	7	0		1	0	0	1	0
Totaux	15227	143	1325	3843	855	1342	5064	326

Annexe 2 : Concentrations maximales de *Pseudo-nitzschia* (tous taxons confondus) par zone et par année

	concentrations > 100 000 cellules par litre																				nb années > 100 000				
	concentrations > 1 000 000 cellules par litre																								
en rouge : zones touchées par concentrations > 100 000, au moins 12 années sur 23	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012		
020 - Baie du Mont Saint-Michel	22 600	1 800	8 600	30 200	141 400	0	70 000	0	69 200	139 200	12 500	932 000	42 300	92 000	33 700	144 600	1 022 000	669 600	82 900	29 700	11 500	17 600	13 800	6	
021 - Rance - estuaire et large							0	0	21 200	4 500	40 000	100 600	61 600	3 500	7 500	260 600	17 400	294 800	38 000	44 600	1 700	6 200	12 700	3	
022 - Arguenon - estuaire et large	233 800	6 000	13 600	13 600	8 800	42 800	6 400	2 800	19 400	19 400	19 000	18 000	55 500	40 200	40 500	63 800	9 300	763 700	79 400	8 300	21 000	54 400	15 800	2	
025 - Baie de Saint-Brieuc - fond de baie	133 000	52 800	12 200	565 500	43 600			0	13 400	1 104 000	38 000	9 600	133 200	399 400	1 203 300	235 800	873 000	97 400	311 100	16 000	57 600	6 600	9 600	9	
026 - Baie de Paimpol												0			12 500									0	
027 - Trieux - Bréhat	42 600	8 600	4 400	22 000	30 400	48 400	12 200	7 600	7 600	27 000	24 400	20 900	14 600	11 000	8 900	22 800	36 200	133 500	111 300	5 500	5 500	8 900	7 600	2	
028 - Jaudy		7 200	3 000						20 600	5 000	5 200	6 100		0		600	0						0	0	
029 - Jersey - Guernesey																	300							0	
031 - Perros Guirec																		1 900	21 700	9 800	10 400	4 800	4 300	0	
032 - Baie de Lannion			65 600		159 000	0	0	786 000	1 468 500	150 100	432 500	64 200	108 800	70 000	22 000	8 400	162 400	29 100	256 400	298 618	1 333 000	3 100 000	557 700	12	
033 - Baie de Morlaix - large																		4 500	15 000	26 300	17 230	19 800	21 900	0	
034 - Rivière de Morlaix	280 000	58 000	28 000	26 600	26 400	288 400	39 400	75 800	73 100	35 700	16 000	22 800	80 000	15 000	7 000	12 900	48 000	9 700	1 079 900	18 200	49 800	10 800	13 500	3	
035 - Penzé								21 200	47 500	3 900	5 300	0	0					7 800	63 500	110 400	48 700	149 400		2	
037 - Ouessant - Abers								88 200	25 200	47 800	90 100	240 000			230 300			138 800	363 500	120 000	402 200	56 200	25 900	603 600	7
038 - Iroise - Camaret		200						10 000	75 200	81 800	2 927 500	101 700	468 000	395 850	2 617 900	143 000	166 100	1 603 800	420 700	445 600	354 000	119 800	61 000	12	
039 - Rade de Brest	1 600	9 800	8 800	27 000	20 200	31 600	125 600	70 800	128 600	26 300	86 600	433 600	53 100	86 200	765 100	33 000	62 700	645 600	1 304 000	384 400	116 600	85 600	62 300	8	
040 - Baie de Douarnenez	31 200	12 400	51 000	145 200	215 200	67 000	76 800	46 200	73 000	1 062 400	1 600 600	60 200	6 854 400	116 000	4 417 900	74 800	679 200	2 710 400	543 900	162 100	266 200	81 600	270 300	13	
042 - Baie d'Audierne		800					2 256 000	89 000	318 200	258 000	596 100	253 000	2 380 000	95 200	338 000	237 000	9 283 600	1 817 000	2 976 600	1 270 800	109 500	118 600	4 725 400	15	
043 - Concarneau large - Glénan	1 600 000	106 200	16 100	1 339 900	250 200	349 200	1 880 000	314 200	379 200	254 400	264 600	1 448 000	1 106 700	1 627 000										13	
044 - Bénodet													493 300											1	
045 - Rivière de Pont L'Abbé								52 900	2 700	0	328 200		157 200						13 400					3	
047 - Baie de Concarneau	25 000	600				280 800	1 032 000	33 800	22 900	61 000	699 400	2 122 000	288 800	284 800	1 642 400	1 378 900	9 362 300	1 310 500	14 465 500	1 526 900	423 000	486 700	2 720 800	15	
048 - Aven - Belon - Laita		100						133 000	43 000	17 900	335 200	0	662 000	1 055 600				12 900	1 192 100	88 000	320 000	60 000	66 800	6	
049 - Rade de Lorient - Groix				9 200			78 000	400 000	56 000	350 000	600 000	300 000	500 000	72 000	500 000	410 000	4 600 000	518 000	4 820 000	914 000	1 370 000	1 499 000	101 400	14	
050 - Scorff - Blavet								8 400																0	
051 - Petite mer de Gâvres											0							2 000 000	635 000	1 726 000	349 000	378 000	437 400	81 300	6
052 - Baie d'Étel																		463 000	1 506 400	136 000	133 000	133 000	189 100	6	
053 - Rivière d'Étel			15 400	300			300 000	4 200	4 800	8 200	1 150 000	9 400	340 000	55 400	1 600 000	820 000	4 500 000	670 000	2 020 400	979 000	1 060 000	765 000	72 700	11	
054 - Belle-Ile - Houat - Hoëdic							216 000	350 000	200 000	143 200	640 000							738 000	1 800 000	105 500	107 200	111 600	77 800	10	
055 - Baie de Quiberon				7 800	520 000		900 000	232 600	500 000	118 400	350 000	124 000	380 000	92 000	1 200 000	2 000 000	510 000	312 000	984 200	2 524 800	700 000	1 226 700	1 403 300	17	
056 - Baie de Plouharnel							0	4 200	0	2 800	100 000	0	200 000	64 000	1 200 000	600 000	13 500	130 000	139 000	4 200	218 200	20 000	801 600	7	
057 - Rivière de Crac'h								0					340 000	7 600	600 000	780 000	8 000	4 000	280 800	5 100	153 700	52 600	103 100	6	
058 - Golfe du Morbihan - large							0	16 400	13 600	250 000	500 000		190 000											3	
059 - Saint-Philibert - Le Breneuguy							40 600	300	9 200	180 000		155 000	52 000	1 400 000	350 000	620 000	4 000	150 600	5 600	221 000	96 800	240 000		8	
060 - Rivière d'Auray								300	140 000	180 000		53 200	155 000	4 600	650 000	130 000	64 500	60 000						5	
061 - Golfe du Morbihan							0	0	1 000	21 200	160 000	46 600	230 000	2 500	63 000	120 000	18 000	57 000	402 600	42 100	290 000	136 600	181 600	7	
062 - Baie de Vilaine - large																			116 000	757 000	770 000	97 000	31 700	3	
063 - Baie de Vilaine - côte	216 600	19 200		17 000		32 800	1 000 000	465 000	350 000	33 900	509 600	114 000	840 000	40 000	290 000	1 000 000	450 000	238 000	2 534 000	134 800	866 000	81 000	155 100	15	
064 - Rivière de Penérif							32 000	400	1 800	6 800	100 000	27 200	100 000	6 000	190 000	302 000	1 400 000	17 200	2 732 000	43 800	64 600	3 800	21 000	4	
065 - Estuaire de la Vilaine							1 200 000	1 200	200 000	13 000	400 000	81 000	300 000	12 000	275 000	1 050 000	660 000	120 000	3 040 200	17 600	151 200	55 100	38 500	10	
066 - Pen Bé							1 200 000	123 900	300 000	50 000	588 000	140 000	170 000	34 000	360 000	310 000	120 000	765 000		224 000	160 000	95 000	13 000	70 000	12
067 - Traict de Pen Bé	58 500	16 100	37 400	55 500	28 300	42 000																		0	
068 - Traicts du Croisic	260 000	72 600	189 300	38 200	32 300	548 800	198 800	166 600	270 000	313 600	509 600	242 800	300 000	38 500	563 400	402 200	150 700	691 200	57 400	87 000	245 200	82 700	69 800	15	
069 - Loire - large							170 500	392 000	148 400	46 600	152 000	208 000	290 400	20 700	28 500	169 100	587 000	204 000	70 300	133 000	361 300	46 800	432 000	12	
070 - Estuaire de la Loire			29 500			0		94 400	23 700	16 700	66 000	32 000	207 200	9 900	6 100	159 900	196 000	103 000	9 000	3 800	17 100	25 600	83 300	4	
071 - Baie de Bourgneuf	2 600	3 600	7 100	35 100	22 000	73 600	38 000	33 500	27 200	16 100	118 200	11 300	313 400	1 900	39 300	264 600	127 600	248 600	60 000	122 500	77 300	16 100	64 600	6	
072 - Vendée Nord			200	1 600		143 800	1 200	76 000	14 200	505 400	118 000	412 200	154 600	7 900	97 700	335 520	75 400	2 265 500	371 000	87 400	90 800	61 500	89 600	8	
073 - Atlantique - large					4 184 000																			1	
074 - Olonne - Le Payré							400	15 800	39 200	119 800	11 800	5 400	91 700	69 300	84 700	43 900	525 600	552 200	24 000	148 000	633 600	7 600	24 500	5	
075 - Ouest îles de Ré et d'Oléron																			79 700			93 100	230 600	1	
076 - Pertuis Breton				5 000	800	32 600	63 000	25 000	400 000	300 000	69 100	114 700	54 400	65 500	79 800	69 000	120 600	13 800	17 600	43 800	770 000	5 100	56 600	5	
077 - Baie de l'Aiguillon				400	1 600		82 000	7 500	41 000	42 000	18 700	88 100	24 700	3 300	62 400	45 600	92 500	62 800	9 700	45 800	1 200 000	5 400	30 100	1	
079 - Pertuis d'Antioche				1 000		3 000	6 200	17 000	325 000	103 500	14 000	25 600	66 000	6 900	18 000	26 600	332 800	32 800	36 000	102 900	830 000	16 500	76 300	5	
080 - Marennes Oléron			97 000	60 000	90 80																				

Annexe 3 : Concentrations maximales de *Pseudo-nitzschia* (tous taxons confondus) par mois
(toutes années confondues sur la période 1990-2012)

	concentrations > 100 000 cellules par litre											
	concentrations > 1 000 000 cellules par litre											
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
020 - Baie du Mont Saint-Michel	1 200	2 800	10 600	278 300	1 022 000	932 000	131 800	106 000	578 400	12 000	1 000	2 900
021 - Rance - estuaire et large	1 500	900	12 700	61 600	294 800	47 400	44 600	41 800	260 600	6 500	2 500	300
022 - Arguenon - estuaire et large	3 600	3 200	11 200	55 500	763 700	233 800	46 500	23 600	63 800	16 200	5 300	2 500
025 - Baie de Saint-Brieuc - fond de baie	3 900	27 000	1 104 000	240 800	1 203 300	873 000	133 200	43 600	75 700	13 800	4 100	4 200
026 - Baie de Paimpol					12 500	0						
027 - Trieur - Bréhat	1 200	4 200	10 800	27 000	133 500	48 400	12 200	8 900	10 800	36 200	4 300	1 400
028 - Jaudy					20 600	7 400	2 600	3 000	900			
029 - Jersey - Guernesey									300			
031 - Perros Guirrec	400	0	400	2 600	10 300	2 400	21 700	3 400	800	1 900	1 500	0
032 - Baie de Lannion	1 400	900	4 900	60 300	3 100 000	1 468 500	786 000	98 500	159 000	74 900	2 100	1 200
033 - Baie de Morlaix - large	200	0	500	6 000	11 900	6 200	26 300	24 500	5 600	3 200	300	0
034 - Rivière de Morlaix	7 000	400	4 000	2 700	1 079 900	280 000	288 400	58 000	80 000	4 100	1 200	500
035 - Penzé	0	0	0	0	47 500	149 400	110 400	48 700	100	1 200	0	0
037 - Quessant - Abers	700	1 000	9 500	25 900	82 200	402 200	363 500	479 300	603 600	1 600	200	400
038 - Iroise - Camaret	7 600	13 100	57 000	141 800	2 927 500	2 617 900	781 200	395 850	1 603 800	143 000	31 800	700
039 - Rade de Brest	2 200	1 200	6 700	106 900	1 304 000	765 100	433 600	249 000	645 600	45 400	1 200	800
040 - Baie de Douarnenez	7 700	3 300	162 100	104 000	1 600 600	6 854 400	679 200	513 600	2 710 400	256 900	270 300	16 200
042 - Baie d'Audierne	200	14 000	258 000	9 283 600	895 400	2 976 600	2 256 000	1 817 000	4 725 400	258 800	9 100	600
043 - Concarneau large - Gléan	900	2 100	192 000	1 880 000	1 339 900	924 000	1 627 000	389 400	1 448 000	1 600 000	4 200	3 200
044 - Bénodet								493 300	190 000			
045 - Rivière de Pont L'Abbé				0	328 200	209 100	115 600	157 200				
047 - Baie de Concarneau	600	800	1 378 900	9 362 300	699 400	14 465 500	1 526 900	1 310 500	2 122 000	42 800	90 800	2 900
048 - Aven - Belon - Laita	0	1 800	31 700	320 000	335 200	1 192 100	1 055 600	172 800	133 000	1 600	300	1 200
049 - Rade de Lorient - Groix	600	19 000	72 200	2 500 000	4 600 000	4 820 000	500 000	100 000	377 000	250 000	3 800	19 200
050 - Scorff - Blavet						8 400						
051 - Petite mer de Gâvres				378 000	2 000 000	1 726 000	160 000		11 600	635 000	500	
052 - Baie d'Etel	800	0	7 800	103 000	266 500	1 506 400	138 000	49 000	86 000	8 000	1 200	400
053 - Rivière d'Etel				1 060 000	4 500 000	2 020 400	170 000	55 800	42 500	15 400	4 700	
054 - Belle-Ile - Houat - Hoëdic	0	348 000	14 000	350 000	210 000	1 800 000	47 000	39 000	31 600	44 400	9 000	700
055 - Baie de Quiberon	3 200	232 600	2 000 000	1 000 000	1 226 700	2 524 800	300 000	100 000	40 000	49 000	160 000	30 600
056 - Baie de Plouharnel			300	440 000	600 000	1 200 000	13 500	48 000	3 000	900	130 000	0
057 - Rivière de Crac'h			800	560 000	780 000	600 000	12 600	140 000	5 200	1 400	0	0
058 - Golfe du Morbihan - large				2 800	190 000	500 000	72 400	140 000	2 200	400		
059 - Saint-Philibert - Le Breneuguy			100	350 000	350 000	1 400 000	30 000	105 000	11 700	3 200	2 600	0
060 - Rivière d'Auray			1 500	130 000	155 000	650 000	13 500	1 800		11 500		
061 - Golfe du Morbihan	0	0	15 600	290 000	230 000	402 600	18 000	7 400	8 000	11 200	1 700	400
062 - Baie de Vilaine - large	8 200	600	30 400	770 000	757 000	116 000	15 700	206 200	12 100	33 400	6 800	0
063 - Baie de Vilaine - côte	400	600	184 400	900 000	1 000 000	2 534 000	400 000	155 000	220 000	38 100	16 800	2 000
064 - Rivière de Peneuf				39 100	240 000	2 732 000	1 400 000	265 000	3 200	1 600	100	
065 - Estuaire de la Vilaine	200	600	25 000	140 000	1 200 000	3 040 200	660 000	63 000	53 600	22 000	4 000	100
066 - Pen Bé	700	0	18 500	1 200 000	600 000	765 000	60 000	52 000	45 000	5 500	4 500	1 700
067 - Traict de Pen Bé			1 000	55 500	50 000	37 400	16 100	2 300	1 600	58 500	1 800	
068 - Traicts du Croisic	800	800	12 300	245 200	509 600	691 200	192 000	108 000	70 400	91 400	3 400	1 600
069 - Loire - large	1 100	400	3 900	392 000	290 400	587 000	136 000	46 800	432 000	13 300	800	300
070 - Estuaire de la Loire	200	0	600	94 400	207 200	196 000	43 800	6 200	3 500	3 800	500	400
071 - Baie de Bourgneuf	1 000	1 600	20 700	122 500	313 400	264 600	39 300	9 600	23 400	6 500	800	600
072 - Vendée Nord	1 100	5 000	101 000	412 200	505 400	2 265 500	45 700	90 800	57 000	28 300	1 400	1 200
073 - Atlantique - large					4 184 000							
074 - Olonne - Le Payré	800	3 800	633 600	84 700	525 600	552 200	35 600	14 400	21 200	148 000	13 500	1 400
075 - Ouest îles de Ré et d'Oléron	500	10 300	30 700	8 500	37 000	230 600	10 000	43 200	16 400	93 100	0	0
076 - Pertuis Breton	2 600	1 400	770 000	105 500	400 000	300 000	69 000	15 300	9 400	13 800	8 000	2 000
077 - Baie de l'Aiguillon	1 000	500	1 200 000	95 400	274 100	62 400	21 080	30 600	9 800	62 800	1 900	500
079 - Pertuis d'Antioche	4 000	6 800	830 000	25 600	332 800	103 500	10 000	17 800	66 000	4 700	11 000	800
080 - Marennes Oléron	2 400	3 400	334 500	97 000	317 200	955 000	23 600	90 800	750 000	9 800	3 600	1 600
081 - Rivière de la Charente	200	0	252 000	40 900	42 000	1 500	100	2 800	0	0	0	0
082 - Pertuis de Maumusson	2 200	21 400	410 000	116 000	573 000	1 585 000	33 000	38 700	86 000	282 600	21 600	2 600
083 - Rivière de la Seudre	400	3 600	136 700	19 200	71 900	155 600	5 600	3 100	1 900	1 800	4 100	200
084 - Aval et large de la Gironde	1 800	20 000	8 800	1 500	34 700	107 600	15 600	35 300	7 800	64 700	600	500
085 - Estuaire de la Gironde								0	0	0	1 600	

Annexe 4 : Résultats supérieurs à 100 000 cellules par litre, attribuables aux groupes des larges et des effilées.

Tri par zone et par année

	groupe des effilées
	groupe des larges
100000	résultat > 1 000 000 de cellules par litre

zone	année	mois	taxon	valeur	
020 - Baie du Mont Saint-Michel	2001	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	162800	
021 - Rance - estuaire et large	2001	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	100000	
025 - Baie de Saint-Brieuc - fond de baie	2004	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	610400	
025 - Baie de Saint-Brieuc - fond de baie	2004	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	181300	
025 - Baie de Saint-Brieuc - fond de baie	2005	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	199000	
025 - Baie de Saint-Brieuc - fond de baie	2006	6	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	308000	
032 - Baie de Lannion	1994	9	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	100600	
032 - Baie de Lannion	1998	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	709600	
032 - Baie de Lannion	1998	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	385000	
032 - Baie de Lannion	1998	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	566900	
032 - Baie de Lannion	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	116000	
032 - Baie de Lannion	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	289000	
032 - Baie de Lannion	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	328800	
032 - Baie de Lannion	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	161600	
032 - Baie de Lannion	2006	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	146000	
032 - Baie de Lannion	2008	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	140500	
032 - Baie de Lannion	2010	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	511500	
032 - Baie de Lannion	2011	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	650000	
032 - Baie de Lannion	2012	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	551500	
032 - Baie de Lannion	2012	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	119200	
032 - Baie de Lannion	2012	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	117400	
035 - Penzé	2011	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	141400	
037 - Ouessant - Abers	2006	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	103800	
037 - Ouessant - Abers	2009	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	261400	
037 - Ouessant - Abers	2009	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	294900	
037 - Ouessant - Abers	2009	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	105000	
037 - Ouessant - Abers	2009	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	166800	
038 - Iroise - Camaret	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	106800	
038 - Iroise - Camaret	2000	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	745200	
038 - Iroise - Camaret	2010	8	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	248000	
038 - Iroise - Camaret	2010	8	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	239000	
038 - Iroise - Camaret	2010	8	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	127600	
040 - Baie de Douarnenez	1993	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	104000	
040 - Baie de Douarnenez	1993	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	140000	
040 - Baie de Douarnenez	1994	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	215200	
040 - Baie de Douarnenez	1994	8	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	106500	
040 - Baie de Douarnenez	2000	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	140400	
040 - Baie de Douarnenez	2006	7	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	138100	
040 - Baie de Douarnenez	2012	11	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	256600	
042 - Baie d'Audierne	2000	3	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	124400	
042 - Baie d'Audierne	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	120000	
042 - Baie d'Audierne	2000	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	580800	
042 - Baie d'Audierne	2004	9	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	237200	
042 - Baie d'Audierne	2005	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	226000	
042 - Baie d'Audierne	2008	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	470500	
042 - Baie d'Audierne	2008	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	1047000	
042 - Baie d'Audierne	2009	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	484800	
042 - Baie d'Audierne	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	136600	
042 - Baie d'Audierne	2010	8	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	103700	
042 - Baie d'Audierne	2012	9	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	4721000	
043 - Concarneau large - Glénan	1990	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	230000	
043 - Concarneau large - Glénan	1990	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	184400	
043 - Concarneau large - Glénan	1990	9	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	150900	
043 - Concarneau large - Glénan	1990	10	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	100000	
043 - Concarneau large - Glénan	1993	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	135000	
043 - Concarneau large - Glénan	1993	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	173200	
043 - Concarneau large - Glénan	1993	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	867400	
043 - Concarneau large - Glénan	1993	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	1033600	
043 - Concarneau large - Glénan	1993	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	1339900	
043 - Concarneau large - Glénan	1994	9	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	250200	
043 - Concarneau large - Glénan	1999	3	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	192000	
043 - Concarneau large - Glénan	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	105800	
045 - Rivière de Pont L'Abbé	2000	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	191800	
047 - Baie de Concarneau	2000	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	318000	
047 - Baie de Concarneau	2005	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	594000	
047 - Baie de Concarneau	2005	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	198400	
047 - Baie de Concarneau	2008	7	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	613400	
047 - Baie de Concarneau	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	343600	
047 - Baie de Concarneau	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	273000	
047 - Baie de Concarneau	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges symétriques (fraudulenta)	514500	
047 - Baie de Concarneau	2009	9	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	140800	
047 - Baie de Concarneau	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	118000	même
047 - Baie de Concarneau	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	303400	échantillon
048 - Aven - Belon - Laita	2008	7	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	144600	
049 - Rade de Lorient - Groix	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	880000	
049 - Rade de Lorient - Groix	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	180000	
049 - Rade de Lorient - Groix	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	103000	
049 - Rade de Lorient - Groix	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	116000	
049 - Rade de Lorient - Groix	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	106000	
049 - Rade de Lorient - Groix	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	570000	même
049 - Rade de Lorient - Groix	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	800000	échantillon
049 - Rade de Lorient - Groix	2011	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	128000	
051 - Petite mer de Gâvres	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	250000	
051 - Petite mer de Gâvres	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	322000	
051 - Petite mer de Gâvres	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	340000	
051 - Petite mer de Gâvres	2010	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	151600	
052 - Baie d'Etel	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	121000	
052 - Baie d'Etel	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseriis + pungens)	103000	

Annexe 4 : Résultats supérieurs à 100 000 cellules par litre, attribuables aux groupes des larges et des effilées.

Tri par zone et par année

	groupe des effilées
	groupe des larges
100000	résultat > 1 000 000 de cellules par litre

zone	année	mois	taxon	valeur	
052 - Baie d'Etel	2010	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	105000	
053 - Rivière d'Etel	2009	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	164000	
053 - Rivière d'Etel	2009	6	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	104000	
053 - Rivière d'Etel	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	140000	
053 - Rivière d'Etel	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	600000	même
053 - Rivière d'Etel	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	460000	échantillon
055 - Baie de Quiberon	2008	5	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	108000	
055 - Baie de Quiberon	2009	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	110000	
055 - Baie de Quiberon	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	260000	même
055 - Baie de Quiberon	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	440000	échantillon
059 - Saint-Philibert - Le Breneguy	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	200000	
061 - Golfe du Morbihan	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	255000	
062 - Baie de Vilaine - large	2009	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	100000	
062 - Baie de Vilaine - large	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	320000	même
062 - Baie de Vilaine - large	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	450000	échantillon
062 - Baie de Vilaine - large	2010	8	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	180000	
063 - Baie de Vilaine - côte	1998	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	121000	
063 - Baie de Vilaine - côte	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	380000	même
063 - Baie de Vilaine - côte	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	486000	échantillon
065 - Estuaire de la Vilaine	2010	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	145000	
065 - Estuaire de la Vilaine	2010	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	113600	
066 - Pen Bé	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	118000	
068 - Traicts du Croisic	1990	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	110000	
068 - Traicts du Croisic	1990	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	241000	
068 - Traicts du Croisic	1990	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	158800	
068 - Traicts du Croisic	1992	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	189300	
068 - Traicts du Croisic	1995	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	134600	
068 - Traicts du Croisic	1995	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	548800	
068 - Traicts du Croisic	1996	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	105840	
068 - Traicts du Croisic	1997	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	166600	
068 - Traicts du Croisic	1998	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	270000	
068 - Traicts du Croisic	1999	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	313600	
068 - Traicts du Croisic	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	162000	
068 - Traicts du Croisic	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	117000	
068 - Traicts du Croisic	2004	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	161280	
068 - Traicts du Croisic	2010	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	127400	
069 - Loire - large	1996	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	131300	
069 - Loire - large	1998	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	148400	
069 - Loire - large	2012	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	102600	
070 - Estuaire de la Loire	2005	5	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	112900	
070 - Estuaire de la Loire	2005	5	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	112900	
071 - Baie de Bourgneuf	2000	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	102900	
071 - Baie de Bourgneuf	2005	5	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	169500	
072 - Vendée Nord	1995	4	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	143800	
072 - Vendée Nord	1999	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	101000	
072 - Vendée Nord	1999	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	182000	
072 - Vendée Nord	1999	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	505400	
073 - Atlantique - large	1994	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	4184000	
074 - Olonne - Le Payré	1999	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	107400	
074 - Olonne - Le Payré	2006	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	370400	
074 - Olonne - Le Payré	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des effilées, complexe seriata (multiseries + pungens)	633600	
076 - Pertuis Breton	2006	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	111800	
076 - Pertuis Breton	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	485000	
076 - Pertuis Breton	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	509000	
076 - Pertuis Breton	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	376000	
076 - Pertuis Breton	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	770000	
076 - Pertuis Breton	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	484000	
076 - Pertuis Breton	2010	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	150000	
077 - Baie de l'Aiguillon	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	347600	
077 - Baie de l'Aiguillon	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	1200000	
079 - Pertuis d'Antioche	2006	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	211400	
079 - Pertuis d'Antioche	2006	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	318800	
079 - Pertuis d'Antioche	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	690000	
079 - Pertuis d'Antioche	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	830000	
079 - Pertuis d'Antioche	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	150000	
080 - Marennes Oléron	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	334500	
081 - Rivière de la Charente	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	252000	
082 - Pertuis de Maumusson	1997	10	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	158600	
082 - Pertuis de Maumusson	2006	5	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	266200	
082 - Pertuis de Maumusson	2007	6	Pseudo-nitzschia, groupe des larges asymétriques (australis + seriata + subpacifica)	155152	
082 - Pertuis de Maumusson	2010	3	Pseudo-nitzschia, groupe des larges, complexe seriata (australis + fraudulenta + seriata + subpacifica)	150000	

Annexe 6 : Toxicités ASP maximales par zone et par an, en mg d'AD / kg de chair de coquillage

	pas d'analyse
	toxines non détectées ou non quantifiables
	toxines en faible quantité, < seuil sanitaire
00	toxines > seuil sanitaire

		1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
020 Baie du Mont Saint-Michel	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>														
021 Rance - estuaire et large	<i>Pecten maximus</i>														
023 Fresnaye - estuaire et large	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
024 Baie de Saint-Brieuc - large	<i>Pecten maximus</i>														
025 Baie de Saint-Brieuc - fond de baie	<i>Cerastoderma edule</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>														
029 Jersey - Guernesey	<i>Pecten maximus</i>														
032 Baie de Lannion	<i>Cerastoderma edule</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
033 Baie de Morlaix - large	<i>Mytilus galloprovincialis</i>														
	<i>Aequipecten opercularis</i>														
	<i>Mimachlamys varia</i>														
034 Rivière de Morlaix	<i>Pecten maximus</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
035 Penzé	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
037 Ouessant - Abers	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Donax trunculus</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Pecten maximus</i>									49	23	21			
038 Iroise - Camaret	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Donax trunculus</i>		53												
	<i>Glycymeris glycymeris</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>		31												
	<i>Pecten maximus</i>									48	29	20	52	50	43
	<i>Polititapes virgineus</i>														
039 Rade de Brest	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Crepidula fornicata</i>														
	<i>Glycymeris glycymeris</i>														
	<i>Mimachlamys</i>														
	<i>Mimachlamys varia</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>														
	<i>Ostrea edulis</i>														
	<i>Pecten maximus</i>							47	43	183	83	33			
	<i>Venus verrucosa</i>														
040 Baie de Douarnenez	<i>Aequipecten opercularis</i>														
	<i>Callista chione</i>														
	<i>Donax trunculus</i>		32							21					38
	<i>Glycymeris glycymeris</i>														
042 Baie d'Audierne	<i>Pecten maximus</i>									70	52				50
	<i>Donax trunculus</i>								53	21					
043 Concarneau large - Glénan	<i>Pecten maximus</i>								74	63	44		237	76	95
	<i>Polititapes virgineus</i>								88				36		
044 Bénodet	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>														
045 Rivière de Pont L'Abbé	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>														
047 Baie de Concarneau	<i>Cerastoderma edule</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
048 Aven - Belon - Laïta	<i>Mytilus galloprovincialis</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>													29	
	<i>Mytilus edulis</i>													41	
	<i>Pecten maximus</i>									40					
049 Rade de Lorient - Groix	<i>Venerupis philippinarum</i>													42	
	<i>Callista chione</i>													20	
	<i>Mytilus</i>								48				121		24
051 Petite mer de Gâvres	<i>Pecten maximus</i>												246	138	43
	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>													21	
052 Baie d'Étel	<i>Venerupis philippinarum</i>														
	<i>Donax trunculus</i>													28	
	<i>Pecten maximus</i>							49							

Annexe 6 : Toxicités ASP maximales par zone et par an, en mg d'AD / kg de chair de coquillage

	pas d'analyse
	toxines non détectées ou non quantifiables
	toxines en faible quantité, < seuil sanitaire
00	toxines > seuil sanitaire

		1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
053 Rivière d'Etel	<i>Crassostrea gigas</i>												90		
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>												123		
054 Belle-Ile - Houat - Hoëdic	<i>Aequipecten opercularis</i>												86		
	<i>Callista chione</i>												36		
	<i>Pecten maximus</i>							82		36		39	380	242	81
	<i>Politapes virgineus</i>														
055 Baie de Quiberon	<i>Crassostrea gigas</i>												106		
	<i>Mimachlamys varia</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
056 Baie de Plouharnel	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>														
057 Rivière de Crac'h	<i>Crassostrea gigas</i>												43		
	<i>Mytilus</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
058 Golfe du Morbihan - large	<i>Venerupis philippinarum</i>												73		
	<i>Pecten maximus</i>							38		36			344	91	53
	<i>Crassostrea gigas</i>														
059 Saint-Philibert - Le Breneguy	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>												51		
060 Rivière d'Auray	<i>Crassostrea gigas</i>												101		
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>												61		
061 Golfe du Morbihan	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>														
	<i>Aequipecten opercularis</i>												34		
062 Baie de Vilaine - large	<i>Pecten maximus</i>							44	27	42	33		484	96	44
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>														
063 Baie de Vilaine - côte	<i>Mytilus edulis</i>														
064 Rivière de Penerf	<i>Crassostrea gigas</i>														
065 Estuaire de la Vilaine	<i>Mytilus edulis</i>														
066 Pen Bé	<i>Mytilus edulis</i>														
067 Traict de Pen Bé	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>														
068 Traicts du Croisic	<i>Cerastoderma edule</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
069 Loire - large	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Pecten maximus</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>														
071 Baie de Bourgneuf	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>														
	<i>Pecten maximus</i>													25	
072 Vendée Nord	<i>Spisula (Spisula) ovalis</i>														
074 Olonne - Le Payré	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Pecten maximus</i>												134		
075 Ouest îles de Ré et d'Oléron	<i>Donax trunculus</i>														
076 Pertuis Breton	<i>Aequipecten opercularis</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>												82		
	<i>Mimachlamys varia</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>												149		
	<i>Ostrea edulis</i>														
	<i>Pecten maximus</i>												213	83	23
077 Baie de l'Aiguillon	<i>Mytilus edulis</i>												78		
079 Pertuis d'Antioche	<i>Aequipecten opercularis</i>												27		
	<i>Crassostrea gigas</i>												27		
	<i>Mytilus edulis</i>												176		
	<i>Pecten maximus</i>												209	64	
080 Marennes Oléron	<i>Aequipecten opercularis</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>														
	<i>Mimachlamys varia</i>														
	<i>Mytilus edulis</i>												119		
	<i>Ostrea edulis</i>														
	<i>Venerupis philippinarum</i>												119		
082 Pertuis de Maumusson	<i>Cerastoderma edule</i>														
	<i>Crassostrea gigas</i>												38		
084 Aval et large de la Gironde	<i>Venerupis philippinarum</i>												32		

Annexe 9 : Point de vue des professionnels

A chaque rencontre nous avons préalablement abordé le sujet des algues toxiques et fait le point sur les avancées de la recherche (*Pseudo-nitzschia* mais aussi *Alexandrium* et d'autres algues toxiques)

Questionnaire proposé aux professionnels

- 1) Quelles sont pour vous les espèces d'algues toxiques qui vous créent le plus de problèmes ?
- 2) Comment êtes-vous affectés par les fermetures liées à *Pseudo-nitzschia* (Coquilles Saint Jacques ou autres coquillages) ?
 - Perte économique ? (liée à la non vente)
 - Flottille touchée ? y a-t-il une estimation connue ?
 - Option de décorticage ?
- 3) D'autres espèces commerciales peuvent être touchées (crabes, araignées, oursins,...), quel impact potentiel ce serait pour vous ?
- 4) Quel besoins au niveau de la surveillance ? (identifier les espèces toxiques, les seuils d'alerte, ...)
- 5) Quels besoins exprimez-vous au niveau de la recherche et de l'information de la part des chercheurs ? (périodes à risques et prédiction, origine de la contamination, ...)
- 6) Avez-vous des observations terrain qui que vous avez noté et qui pourraient être liées aux événements toxiques (facteurs climatiques, environnementaux,...).

Annexe 9 A : Entrevue avec l'écloserie du Tinduff (F. breton et M.L. Muzellec),

Rade de Brest

Jeuudi 31 janvier 2013 - A.Chapelle, D. Delmas, R.Siano

L'écloserie du Tinduff (www.iroise-peche.com) élève des juvéniles de Coquilles Saint Jacques pour repeupler les gisements de la rade de Brest. Elle travaille avec les pêcheurs de la rade en liens très étroits.

Il ressort de la discussion que :

- 1) Quelles sont pour vous les espèces d'algues toxiques qui vous créent le plus de problèmes ?
 - pour la production de juvéniles ce sont les espèces qui affectent le développement des Coquilles Saint Jacques qui sont les craintes : 1) *Karenia mikimotoi* (anciennement *Gymnodinium*). Cette espèce, non toxique pour l'homme déforme les juvéniles de coquilles et entraînent une forte mortalité. Ce fut le cas en 1983, 1985 et 1994/95. Il faudrait étudier l'effet d'*Alexandrium* sur le développement larvaire des CSJ pour étudier s'il y a un risque aujourd'hui qu'*Alexandrium* est présent en rade de Brest.
 - pour la pêche des CSJ, 1) *Pseudo-nitzschia* est le genre le plus redouté parce qu'il affecte les CSJ pendant la période de pêche (automne, hiver) et parce que les durées de décontamination sont très longues. 2) Les blooms d'*Alexandrium* ne coïncident pas avec la période de pêche des CSJ mais il faudrait évaluer le temps de décontamination des CSJ pour s'assurer s'il y a un risque ou pas de contamination PSP.
- 2) Comment êtes-vous affectés par les fermetures liées à *Pseudo-nitzschia*?

En rade de Brest, la profession a été affectée en 2004 et 2007. Il s'agit d'une flottille d'une soixantaine de petits bateaux qui ont une licence pour la pêche de la CSJ, les praires, les palourdes et les huitres plates en rade de Brest.

En 2004, lors du premier événement toxique, ils ont détourné une partie de l'effort de pêche sur les autres gisements de coquilles mais en partie seulement afin de ne pas épuiser les stocks des autres coquillages. Une filière de décorticage manuel (à l'écloserie) a ensuite été mise en place. En 2007, lors de l'épisode toxique, les coquilles Saint-Jacques ont été pêchées et vendues décortiquées. Depuis, la filière décorticage est maintenue mais à bas niveau. En effet, le prix de vente des coquilles Saint Jacques décortiquées est de 2,5 euros/kg contre 4,20 euros/kg pour des coquilles entières. A terme, si *Pseudo-nitzschia* devait contaminer régulièrement le stock de la rade, le gisement ne serait pas suffisant pour supporter économiquement la flottille, car pour le même gain, il faudrait augmenter la pêche de Coquille Saint-Jacques si elle sont vendues décortiquées, or le gisement ne le permet pas. Les professionnels ne peuvent pas non plus se tourner vers une autre pêche hors de la rade en hiver car leurs bateaux ne sont pas adaptés. Il y a donc un impact économique fort des blooms toxiques de *Pseudo-nitzschia* sur la pêche en Rade.

3) D'autres espèces commerciales peuvent être touchées (crabes, araignées, oursins,...), quel impact potentiel ce serait pour vous ?

En rade le risque de contamination d'autres espèces n'est pas un risque élevé pour les pêcheurs, car c'est la Coquille Saint-Jacques qui est la ressource principale.

4) Quel besoins au niveau de la surveillance ?

- La fréquence du suivi du RePHY (tous les 15 jours) leur paraît insuffisante car il y a un risque de passer à côté d'un bloom (même s'ils comprennent que c'est un équilibre entre risque et coût de la surveillance).
- Connaître le vrai risque toxique, c'est-à-dire quelle espèce de *Pseudo-nitzschia* est présente et si elle est toxique, et non pas une information sur le genre *Pseudo-nitzschia*
- Le suivi toxicité ne se fait qu'en période de pêche, or il pourrait être intéressant d'avoir une idée de l'état des stocks en dehors de ces périodes.
- Le point de surveillance phytoplancton (Lanveoc) s'il est peut être représentatif du risque pour *Pseudo-nitzschia* ne l'est pas du tout pour *Alexandrium* dont les blooms se situent dans les parties plus confinées de la rade.
- Les professionnels pourraient être intéressés par des outils de détection de la toxicité en dehors des périodes de pêche (Test Elisa, acide domoïque), ou par des outils de détection des espèces toxiques comme *Alexandrium* (test bandelette).

5) Quels besoins exprimez-vous au niveau de la recherche et de l'information de la part des chercheurs ?

- Trouver un processus de décontamination (est-ce que les Coquilles Saint-Jacques se décontamineraient plus vite en pleine eau, dans des bacs, quels procédés ? Pourquoi y a-t-il une telle différence de contamination entre les Coquilles Saint-Jacques et les autres coquillages).
- Empêcher les blooms (mais c'est un peu irréaliste)
- Y a-t-il un risque de re-contamination des Coquilles Saint-Jacques sur le fond par la pratique conchylicole ? Y a-t-il un risque de déplacements des sédiments (comme le dragage du port de Brest notamment pour *Alexandrium*) ?

- Est-ce que l'eutrophisation de l'eau (blooms) pourrait avoir un impact sur les juvéniles de Coquilles Saint-Jacques ?
 - La prévision des blooms n'intéresserait pas forcément la profession mais plutôt les affaires sanitaires.
- 6) Avez-vous des observations terrain que vous avez notées et qui pourraient être liées aux événements toxiques (facteurs climatiques, environnementaux,...).
- Pour *Pseudo-nitzschia*, pas vraiment par contre pour *Alexandrium*, il y a eu des observations d'eaux colorées dans tous les rias du fond de rade. Une hypothèse avancée est que la température de l'eau de mer en 2012 était inférieure à celle observée à la même époque les autres années et que peut être cela aurait été lié à l'apparition de ce bloom exceptionnel.
 - Avant on observait des eaux rouges à *Prorocentrum*, plus maintenant. 2012 a été la première fois que l'on a observé de l'*Alexandrium*. On a eu observé aussi des eaux colorées (vertes) à *Ceratolina*.
 - L'écloserie du Tinduff filtre l'eau de mer pour ses bassins et regarde au microscope les filtres. Ils sont d'accord pour collaborer, c'est-à-dire prévenir si une espèce semble bloomer et conserver des échantillons pour analyse par Ifremer. Ce serait une version 'évoluée' de Phénomex. Ils sont aussi partants pour diffuser Phénomex.

Annexe 9B

Questionnaire Pseudo-nitzschia (Pn) pour les professionnels dans le cadre d'une étude Ifremer – Agence de l'eau Loire Bretagne

Date/lieu	Enquêteur	Enquêtés
29/01/2013 au CDPM à Quiberon	JP Allenou LER/MPL La Trinité	Louis Ferrero, permanent CDPM Morbihan Gilles HAZEVIS président de la commission CSJ Serge JEANNE, pêcheur, ancien président du CLPM 56

(Présenter la problématique scientifique et de surveillance Pn)

1) Comment êtes-vous affectés par les fermetures liées à Pn (CSJ ou autres coquillages) ?

- Perte économique ? (liée à la non vente)

Pertes économiques très importantes liées à l'interdiction de pêche sur les saisons 2009-2010 et 2011.

Sur la base d'un tonnage de 200 à 400 tonnes/an avec un prix moyen de 3,50 €, la perte peut être estimée entre **2,10 M€ et 4,2 M€** sur ces trois dernières années.

L'absence de pêche une année peut améliorer les captures l'année suivante et limiter les pertes, mais, sur trois années consécutives, la mortalité naturelle et par prédation (étoile de mer), est très importante.

- Flottille touchée ? y a-t-il une estimation connue ?

74 navires possèdent une licence coquille pour la campagne 2012-2013

- Option de décorticage ?

Cette option n'a pas été retenue car elle présente trop de contraintes :

Trop de lieux de débarquement (la Turballe, le Croisic, Quiberon, La Trinité, le Golfe, Les îles ..etc) incompatible avec les contrôles liés à ce type d'activité (mise sous scellées etc..)

Irrégularité des apports

Prix trop faibles

2) D'autres espèces commerciales peuvent être touchées (crabes, araignées, oursins,...), quel impact potentiel pour vous ?

Impact réel car forte activité de pêche au casier (araignée, dormeur, homard) et d'oursin

Mais aussi pêche d'autres bivalves : pétoncles, vernis, palourdes roses, donax...

- 3) Quel besoins au niveau de la surveillance ? (identifier les espèces toxiques, les seuils d'alerte)

Questions posées par les pêcheurs :

1. pourquoi un seuil basé sur la chair totale alors que seul le muscle est consommé ??
2. comment a été fixé le seuil de 20 mgAD/kg ?

Ce seuil leur « apparaît » très sévère et un peu abrupt : à 20.1 on ne peut pas les consommer et à 19.9 c'est bon...quelle est la marge de sécurité ? Ne faudrait-il pas mettre un intervalle de confiance sur le résultat ??

- 4) Quels besoins au niveau de la recherche et information de la part des chercheurs ? (périodes à risques et prédiction, origine de la contamination, ...)

Si le réseau de surveillance est assez bien connu (beaucoup de liens entre CLPM et Ifremer La Trinité) les pêcheurs sont demandeurs de plus d'informations sur les programmes de recherche en cours, ils apprécient notamment d'être invités aux journées REPHY.

Questions soulevés :

Rôle du sédiment dans la contamination des coquilles ?

Pourquoi une telle différence entre les coquillages sur la durée de décontamination ? (exemple Coquilles Saint-Jacques et pétoncles).

Note de J.P. Allenou : il y a encore un gros effort de vulgarisation à faire ! Malgré les nombreux échanges, participations à des réunions (commission CSJ..), les pêcheurs parlent encore de « maladie » de la coquille...

Ils sont réellement demandeurs d'informations et nous encouragent fortement à mener des recherches sur leur secteur. Mais quand on organise des réunions d'information (j'ai l'expérience d'un programme sur 3 ans sur les eaux colorées au large du Croisic avec le COREPEM), ils sont très peu nombreux à se déplacer...le bon vecteur d'information n'est pas facile à trouver.

- 5) Observations terrain (facteurs climatiques, environnementaux et toxicité), Propositions pour la compréhension des événements toxiques

Pour les pêcheurs le lien est évident entre conditions climatiques du printemps et *Pseudo-nitzschia*. Un temps calme aux mois d'avril et mai favoriserait le phénomène. Au contraire, du mauvais temps en avril/mai serait une garantie de ne pas avoir de problème...

Conclusion :

Les trois personnes présentes étaient très réceptives et très coopératives. Cette enquête s'est déroulée dans un très bon climat (c'est vrai que la pêche a été autorisée en 2012/2013..) et cela a été une très bonne occasion d'échanger sur les programmes de recherches en cours. Nous avons retenu l'idée d'une présentation des programmes de recherches sur la thématique PSNZ lors des prochaines réunions de la commission Coquille Saint-Jacques, en plus des résultats de la surveillance.

Jean-Pierre Allenou, le 05/02/2013

Annexe 9C : Enquête CDPMEM du Finistère (Marc Bigot, Joël Le Gall) 11/03/2013

1) Algues toxiques qui posent problème :

Pseudo-nitzschia essentiellement pour la pêche à la coquille St Jacques, mais également Dinophysis qui occasionne 6 mois de fermeture de la pêche à pieds professionnelle en baie de Douarnenez chaque année.

2) Comment êtes-vous affectés par les fermetures liées à Pn (CSJ ou autres coquillages) ?

Trois principaux secteurs de pêche à la coquille le long des côtes du Finistère :

La baie de Morlaix, 2 gisements : un au large et un côtier. Actuellement il y a 32 licences côtières et 34 licences pour le large. Le tonnage pêché varie entre 400 et 600 tonnes par an pour un prix de vente moyen de 2.91 €/kg.

La Rade de Brest : 60 licences ; pêche 300 à 400 tonnes par an, prix de vente moyen 4.6€/kg.

Le secteur Concarneau-les Glénan : Sur 34 licences, 24 licences sont attribuées. Pêche 130 à 160 tonnes par an.

Pour mémoire sur le secteur Mer d'Iroise, Ouessant- ile de Sein sur 30 licences attribuées un seul bateau exerce une activité de pêche.

Les fermetures de la pêche

Pour l'instant la baie de Morlaix n'a pas été affectée par des fermetures de la pêche à la coquille St Jacques suite à les contaminations ASP.

La Rade de Brest a été fermée en 2004 et en 2007-2008 pour la Coquille St Jacques. Il y a aussi une pêche de praires (100 – 120 tonnes), de pétoncles noirs (10 – 20 tonnes) et d'huitres plates.

Le secteur des Glénans est fermé depuis 3 ans avec des teneurs en acide domoïque qui oscillent entre 70 et 80 mg/kg.

Les conséquences des fermetures ne sont pas identiques selon les secteurs :

Pour le secteur Concarneau –les Glénans, la flottille est essentiellement composée d'unités de tailles de 12m qui pratiquent principalement le chalutage le reste de l'année (langoustine). 70 % des coquilles sont donc débarquées en un mois (sur les criées de Concarneau et de Loctudy), les captures globales s'établissant autour **de 130 à 160 tonnes**, selon les années. Ces trois dernières saisons, consécutivement aux fermetures, faute de pouvoir exploiter la coquille, les navires ont continué à chaluter. Néanmoins, cette pêche de la coquille permet à ces navires de petite taille de travailler l'hiver, dans de bonnes conditions de sécurité, et de réaliser de belles ventes, la coquille étant valorisée sur les criées autour de **3.50 / 4.00 €** (avec des pointes à **6.00 / 7.00 € à l'approche des Fêtes** de fin d'année).

Toutefois, l'impact des fermetures est moins catastrophique pour cette flottille (possibilité de substituer la pêche à la langoustine à celle à la coquille) et dans les faits, la pêche à la coquille n'est réalisée que sur une courte période (2 mois, décembre - janvier).

Pour **la rade de Brest**, la flottille est essentiellement composée de petites unités (< 10m) qui pendant toute la période hivernale ne peuvent avoir d'autre activité ; donc la survie de la flottille est très dépendante de la pêche à la coquille St Jacques, heureusement pour l'instant il n'y a pas eu plusieurs années consécutives de fermeture. Il ya aussi un risque de report de l'effort de pêche sur les autres coquillages dont le stock est peu important.

{A Brest les débarquements de coquilles St Jacques représentent, en valeur, selon les années, 13% (2010) et 9% (2011) du total des ventes en criée, il s'agit de la deuxième espèce après la Baudroie}(source : France AgriMer, données statistiques 2011, données de ventes déclarées en halles à marée).

St Jacques : 300-400 tonnes ~ 1.26 -1.68 M€/an (4.2€/kg)

Si ASP et décorticage 2.5€/kg 0.75 – 1.0 M€/an → perte : 0.5 -0.7 M€/an

Option du décorticage

Essentiellement pratiquée en Rade de Brest (prix d'achat : 2.5 €/kg contre 4.6 € pour les coquilles non décortiquées), elle est réalisée un jour par semaine pour maintenir la « filière » viable, celle-ci constitue une « assurance » essentielle en cas de fermeture pour les professionnels. Toutefois son maintien engendre une perte économique permanente pour les professionnels de la pêche.

3) D'autres espèces commerciales peuvent être touchées (crabes, araignées, oursins,...), quel impact potentiel pour vous ?

Pêche d'araignées et de seiches en Rade par 3 ou 4 bateaux. Les araignées en Bretagne nord

Quelques bateaux font aussi la pêche au la palourde rose et aux amandes.

4) Quel besoins au niveau de la surveillance ? (identifier les espèces toxiques, les seuils d'alerte)

Bon contact avec la station de Concarneau,

Les professionnels ont un fort besoin d'anticipation, un suivi régulier (mensuel) de la toxicité des stocks en période de non pêche serait important pour rassurer les pêcheurs et aider à une meilleure prévision d'ouverture des aires de pêche. Un suivi mensuel serait idéal.

Le suivi légal, 3 semaines avant l'ouverture est trop court pour l'organisation de l'activité des professionnels

5) Quels besoins au niveau de la recherche et information de la part des chercheurs ? (périodes à risques et prédiction, origine de la contamination, ...)

Comment expliquer les différences de contamination sur les gisements dans un même secteur.
Par exemple comment expliquer les différences de contamination en rade de Brest entre secteurs nord et sud et Camaret ?

Quel impact les dragages du port de Brest pourraient-ils avoir, notamment sur les gisements de Keraliou ?

- 6) Observations terrain (facteurs climatiques, environnementaux et toxicité), Propositions pour la compréhension des événements toxiques**

ANNEXE 10 : Dynamique des *Pseudo-nitzschia* dans les eaux de Manche Atlantique



Réf. Dyneco Pelagos 12.15



Réunion du mardi 18 septembre : liste des présentations

Phénologie et toxicité des efflorescences à *Pseudo-nitzschia*, suivis spatio-temporels et facteurs abiotiques

Dynamique des efflorescences de *Pseudo-nitzschia spp.* en Baie de Seine sur la période 2002-2011- et présentation du projet Tapas (M. Schapira, Laboratoire Environnement Ressources de Normandie IFREMER PORT-EN-BESSIN)

Dynamiques spatio-temporelles des espèces toxiques du genre *Pseudo-nitzschia* observées en Bretagne par méthodes génétiques (R. Siano, DYNECO-PELAGOS IFREMER BREST)

Suivi des populations de *Pseudo-nitzschia* et des niveaux de toxicité ASP dans les coquilles Saint-Jacques en baie de Quiberon depuis 2005. (A. Grouhel, Laboratoire Environnement Ressources Morbihan -Pays de Loire, IFREMER LA TRINITE)

Contrôle biologique des *Pseudo-nitzschia*

Pseudo-nitzschia et parasites (E. Nézan, Laboratoire Environnement Ressources Finistère Bretagne Nord, IFREMER CONCARNEAU)

Rôle des pathogènes naturels dans le contrôle des efflorescences d'*Alexandrium minutum*: une exemple à suivre pour les blooms de *Pseudo-nitzschia spp.*? (L. Guillou, R. Siano, M. Le Gac, UMPC, Station Biologique de Roscoff)

Utilisation des nouveaux outils d'identification

Les nouveaux outils d'identification (FISH, Biopuce, PCR, biocapteur (acide domoïque) (C. Compère, C. Dreanno, C. Noyer, REM-RDT-IC, IFREMER BREST)

Biologie et écophysiologie

Pseudo-nitzschia spp. en Baie de Seine: écophysiologie, cycle de vie et dynamique des efflorescences (projets COMANCHE et TAPAS). (J. Fauchot, M. Thorel, Université de Caen Basse Normandie)

Influence de facteurs biotiques et abiotiques sur la physiologie et la production d'acide domoïque de *Pseudo-nitzschia spp.* (Lelong A., H. Hégaret et P. Soudant, IUEM LEMAR, BREST)

Modèles et prévisions

Etat actuel de la modélisation opérationnelle de *Pseudo-nitzschia* dans Previmer (A. Ménesguen, DYNECO-BENTHOS IFREMER, BREST)

Projet Apostrophe : Démonstration d'un service de fourniture de prévision qualifiée des blooms phytoplanctoniques. (O. Raillard, M. Dussauze, ACTIMAR, BREST)

Conditions environnementales et comparaison modèle mesures pour la campagne d'échantillonnage Dynapse (Avr-Juil 2012). (A. Chapelle, DYNECO-PELAGOS IFREMER, BREST)

Modèle Baie de Seine (R. Le Gendre, Laboratoire Environnement Ressources de Normandie IFREMER, PORT-EN-BESSIN)