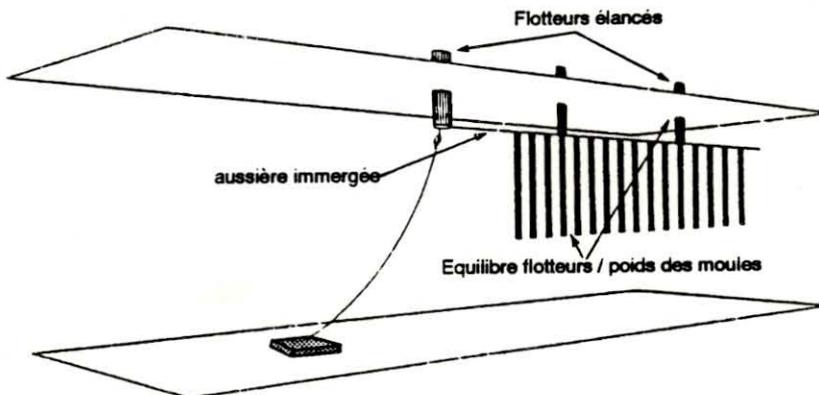


Rapport de stage :

**PERFORMANCES DE CROISSANCE ET COMPOSITION BIOCHIMIQUE
DE *MYTILUS EDULIS* (CULTURES SUSPENDUES DU PERTUIS BRETON) EN
FONCTION DE PARAMETRES DECRIVANT LA RICHESSE
TROPHIQUE DU MILIEU.**

présenté par DARNAUDGUILHEM Fabrice



Réalisé à :
IFREMER (U.R.R.A.)
Mus de Loup
17390 LA TREMBLADE

Juin 1992

AVANT-PROPOS

*Ce travail présente un ensemble de résultats acquis depuis voici bientôt 9 mois et qui s'insère dans une étude pluriannuelle du Pertuis Breton ayant pour but d'en modéliser l'écosystème. La part personnelle des études réalisées dans ce rapport représente la partie biochimique de l'étude de *Mytilus edulis* sur cette période de 9 mois, les échantillons ayant été conservés lyophilisés. Quelques aides personnelles ont aussi été apportées pour les études hydrobiologiques du milieu lors des 2 derniers mois.*

Je tiens à remercier le corps enseignant de l'I.U.T. de Périgueux qui m'a permis de suivre ce stage dans le cadre de ma formation universitaire. Je remercie également M. HERAL et A. BODOY, responsables de laboratoires à l'IFREMER de La Tremblade pour m'avoir accueilli dans leur établissement et m'avoir aidé lors de la rédaction de mon rapport. Je ne saurais oublier la bonne humeur et le dynamisme d'A.L. BARILLE, de S. HEURTEBISE et de J. GARNIER lors des expérimentations, ainsi que C. BACHER lors des traitements informatiques et de leur interprétation. Je les remercie pour leur compétence dans l'encadrement de ce stage, leur soutien moral et leur amitié. Je voudrais remercier plus particulièrement A. BODOY qui m'a aidé et soutenu lors de la réalisation de ce rapport.

Enfin, je tiens à remercier la totalité du personnel IFREMER pour sa sympathie, ainsi que S. TISSIDRE pour la dactylographie et S. TAILLADE pour la mise en forme de ce rapport.

RESUME :

La croissance des mollusques cultivés dans les zones littorales, à faible taux de renouvellement d'eau, semble être limitée, au-delà d'une certaine biomasse, par la possibilité de nourriture, ce qui nécessite d'appréhender le mieux possible les capacités trophiques d'un écosystème. En particulier, dans le Pertuis Breton, s'est développée récemment une nouvelle technique de culture mytilicole qui pourrait accroître à terme de 20 % la biomasse de mollusques cultivés.

Une étude de 9 mois et demi a donc été entreprise pour observer la croissance de deux populations de *Mytilus edulis* (moules de bouchots d'un an et moules issues de naissain de filière) sur ces nouvelles filières "subflottantes". Elle a été couplée à une étude du milieu pour étudier les paramètres biologiques de la croissance de *Mytilus edulis*.

Il apparait que :

- le développement des moules sur filière s'effectue dans de bonnes conditions avec un faible taux de mortalité et une bonne croissance : + 6,8 g en 9 mois pour les moules de bouchots, + 5,5 g en 5 mois pour les moules issues de naissain de filière.
- les moules issues de naissain de filière ont rattrapé en taille et en poids sec les moules de bouchots placées dans les mêmes conditions pourtant de 1 an plus âgées.
- la majorité des transferts biochimiques paraît se situer au niveau du glycogène et des lipides.
- le fond paraît toujours plus chargé en seston minéral et organique que la surface. De même pour les chlorophylles et phéopigments.

MOTS CLES : Pertuis Breton, *Mytilus edulis*, filière, naissain, croissance, hydrologie, biochimie.

3.1.5.2.2. Les constituants biochimiques	10
3.2. Méthodes de mesures des paramètres hydrologiques	10
3.2.1. Sur le terrain	10
3.2.1.1. Prélèvement proprement dits	10
3.2.1.2. Mesures à bord	11
3.2.1.2.1. La température	11
3.2.1.2.2. Les sels nutritifs et chlorophylles	11
3.2.1.2.3. Conserveation	12
3.2.2. Au laboratoire	12
3.2.2.1. Traitement des échantillons avant expériences	12
3.2.2.2. Les sels nutritifs	12
3.2.2.3. Les chlorophylles et phéopigments	12
3.2.2.4. Les sestons	13
3.3. <i>Mytilus edulis</i>	13
3.3.1. Sur le terrain	13
3.3.1.1. Les conditions d'expérience	13
3.3.1.1.1. Expérience préliminaires	14
3.3.1.1.2. Le système actuel	14
3.3.1.1.3. Les populations étudiées	15
3.3.1.2. Entretien	17
3.3.2. Mesures faites au laboratoire	17
3.3.2.1. Les associations écologiques	17
3.3.2.2. La biométrie	18
3.3.2.3. La biochimie : composition proximale	19

3.3.2.3.1. Les lipides	19
3.3.2.3.1. Les sucres	19
3.3.2.3.3. Les protéines	19
3.4. Traitement informatique des données	20
IV - RESULTATS	20
4.1. Résultats "milieu"	20
4.1.1. Paramètres physico-chimiques	21
4.1.1.1. La température	21
4.1.1.2. Les sestons	21
4.1.1.2.1. La matière organique	21
4.1.2.2.2. La matière minérale	23
4.1.1.3. Les sels nutritifs	23
4.1.2. Paramètres biologiques	25
4.1.2.1. La chlorophylle a	25
4.1.2.2. Les phéopigments	25
4.2. Résultats "moules"	29
4.2.1. Le poids total	29
4.2.2. Le poids de coquille	29
4.2.3. La taille	32
4.2.4. Le poids sec	32
4.2.5. La composition biochimique	34
4.2.5.1. Evolution absolue (en mg de poids sec)	34
4.2.5.1.1. Les protéines	34
4.2.5.1.2. Les lipides	34
4.2.5.1.3. Les sucres totaux et le glycogène	36

4.2.5.2. Evolution relative, exprimée, en pourcentage par rapport au poids sec	36
V - DISCUSSION	40
5.1. L'hydrologie	40
5.1.1. Les moules du milieu	40
5.1.2. Corrélations entre surface et fond	45
5.1.3. Corrélations entre la matière organique et les chlorophylles + pigments	48
5.1.4. Chlorophylles et sels nutritifs.	49
5.2. Les moules	49
5.3. Les moules et les paramètres du milieu	52
5.4. Comparaison moules-naissain	53
VI CONCLUSION	54
VII. BIBLIOGRAPHIE	55
ANNEXES	57

I. INTRODUCTION

Depuis quelques années, un nouveau type de culture mytilicole a été mis au point : les filières de "subsurface" en eaux profondes. Dans le Pertuis Breton, une concession de ce type a été créée, au large de la pointe d'Arcay. Cet élevage est destiné à être doublé si les conditions d'exploitation le permettent. Ce projet a provoqué des inquiétudes chez les conchyliculteurs. En effet, 15 à 20 000 tonnes de moules sur bouchots cohabitent déjà sur le site avec l'élevage ostréicole. Ce nouveau type de culture vient donc en concurrence du point de vue de la nourriture potentielle présente dans le bassin. D'où la nécessité d'analyser l'impact des filières dans le Pertuis Breton.

Un point de cette analyse a été réalisé sur :

- la quantité de nourriture présente dans le milieu,
- les conditions influençant le développement de cette nourriture,
- la croissance de *Mytilus edulis*.

C'est donc une étude des performances de croissance et de la composition biochimique qui a été réalisée. Elle concerne des moules de bouchots installées sur filière, et des moules issues de naissain de filière. Les paramètres qui caractérisent la richesse trophique du milieu (sestons, sels nutritifs, évaluation du phytoplancton) ont été mesurés et mis en rapport avec la croissance des moules.

II. ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES LIEES AU SUJET

Les moules, appartenant à l'espèce "*Mytilus edulis*" sont des bivalves cosmopolites, marins ou estuariens. L'élevage des moules est sans doute le moyen le plus efficace de convertir la matière organique produite par les organismes marins autotrophes situés au premier niveau de la chaîne alimentaire (phytoplancton) en une nourriture humaine agréable et riche. Une chaîne alimentaire très raccourcie (un maillon seulement), un animal filtreur très efficace (Vahl, 1972) et l'existence d'une très abondante source de nourriture sont autant de facteurs qui permettent la production de grandes quantités de chair de moules, à un prix très raisonnable pour un pays européen.

L'obtention de nourriture est primordiale pour les organismes vivants. Parmi les activités consacrées à l'obtention de plus grandes quantités de protéines animales, la culture des moules semble plus prometteuse que la culture des huîtres ou la pêche (croissance rapide en grandes quantités, souplesse de culture). Les conditions optimales pour cette culture sont les suivantes : une zone raisonnablement abritée, une eau de mer de bonne qualité et un bon apport en phytoplancton.

2.1. La Mytiliculture en France

La culture des moules en France date du 13ème siècle (Mason, 1976). Il existe maintenant trois principaux modes de culture. La culture sur le sol est pratiquée en Loire Atlantique, la culture en suspension à partir de structures fixées ou flottantes est utilisée respectivement en Méditerranée et dans les rias atlantiques d'Espagne, et la méthode des bouchots est employée traditionnellement sur les côtes atlantiques de la France.

En France, les moules sont acceptées comme nourriture depuis des siècles, ce qui en explique la demande. La France importe des moules, jusqu'à 60 000 tonnes, principalement d'Espagne, de Hollande et du Danemark. La taille commercialisable des moules cultivées sur bouchots est relativement petite (40 à 50 mm), mais la chair est habituellement abondante et d'un goût extrêmement fin, ce qui leur permet d'être appréciées et même préférées à celles plus grosses provenant des centres de production comme l'Espagne et la Hollande (Korringa, 1976).

2.2. Cultures traditionnelles sur bouchots, dans le Pertuis Breton

Les bouchots sont constitués de rangées de pieux en pin, d'un diamètre de 10 à 20 cm, espacés de 35 à 50 cm, et qui sont placés de manière à ne découvrir qu'aux basses mers de vives-eaux, sur des emplacements concédés par les Affaires Maritimes (Dardignac-Corbeil, 1975) (annexe 1, photo n°1).

Deux types de cultures sur bouchots sont rencontrés dans le Pertuis Breton, selon que le naissain se fixe directement sur les bouchots ou qu'il est récolté ailleurs sur des cordes qui seront transplantées sur les pieux. Le principal avantage de la méthode des bouchots réside en ce que les moules sont moins

exposées aux prédateurs vivants sur le sol, tels que les crabes ou les étoiles de mer.

2.3. Nouvelles cultures : les filières du Pertuis Breton

Dans le Pertuis Breton, après une phase d'essais de 5 ans, un vaste "lotissement mytilicole" de 400 ha vient de naître : 240 filières sont mouillées, en pleine mer, entre l'Ile de Ré et le continent.

Elles sont inspirées d'un modèle défini par l'IFREMER et expérimenté avec succès, de 1988 à 1991 sur plusieurs sites français : la pointe de Corsen, la rade de Brest, Sète et le Pertuis Breton. Elles réalisent un compromis intéressant entre les filières flottantes bretonnes et les filières de subsurface méditerranéennes, d'où leur nom de "filières subflottantes" (figure 1) (in Bompais et al., 1991).

Le principe consiste à maintenir l'aussière principale sous la surface de l'eau avec des flotteurs élancés que l'on ajoute au fur et à mesure de la pousse des moules. L'immersion de l'aussière et la forme élancée des flotteurs protègent les filières subflottantes du mauvais temps, tout en les gardant très accessibles d'un bateau (annexe 1, photo n°2 et 3). Grâce à cela, ces filières peuvent être mouillées sur des sites moins abrités et aussi moins convoités. Le dégrappage des moules sur les suspentes est nettement atténué avec cette technique. D'une longueur de 100 mètres, elles sont installées par ensemble de trois sur des concessions de 5 ha chacune. Leur but est double : bien-sûr produire des moules commercialisables mais aussi récolter du naissain qui sera replacé ensuite sur les bouchots (figure 2).

2.4. La conchyliculture dans le Pertuis Breton

Actuellement la quantité de mollusques cultivés sur le site s'élève à :

- 20 000 tonnes de moules sur bouchots.
- 8 000 tonnes d'huîtres au nord de l'Ile de Ré.

L'exploitation de 260 filières de 100 mètres de long, constituerait à terme un apport de 5 000 tonnes supplémentaires, soit une augmentation d'environ 20 % du stock total.

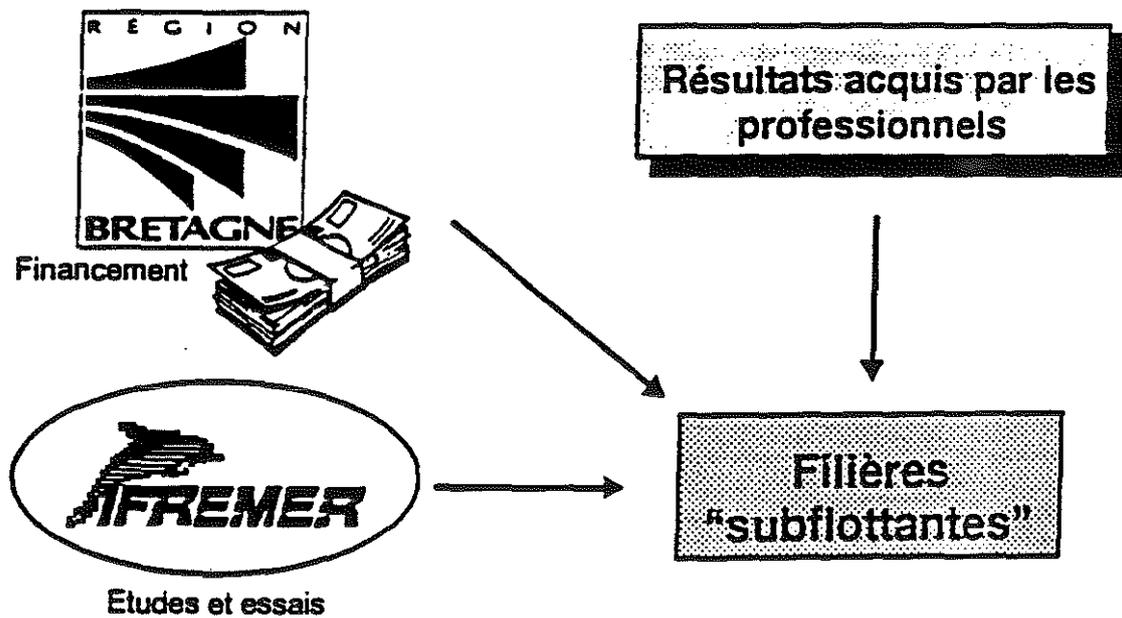


Figure 1 - "Naissance" des filières subflottantes.

Grâce au financement de la région Bretagne et en collaboration avec des professionnels, l'IFREMER a mené des études théoriques et conduit des essais en mer. A partir des résultats déjà acquis par les mytiliculteurs, ce programme a permis de définir un nouveau type de filières : les filières dites "subflottantes".

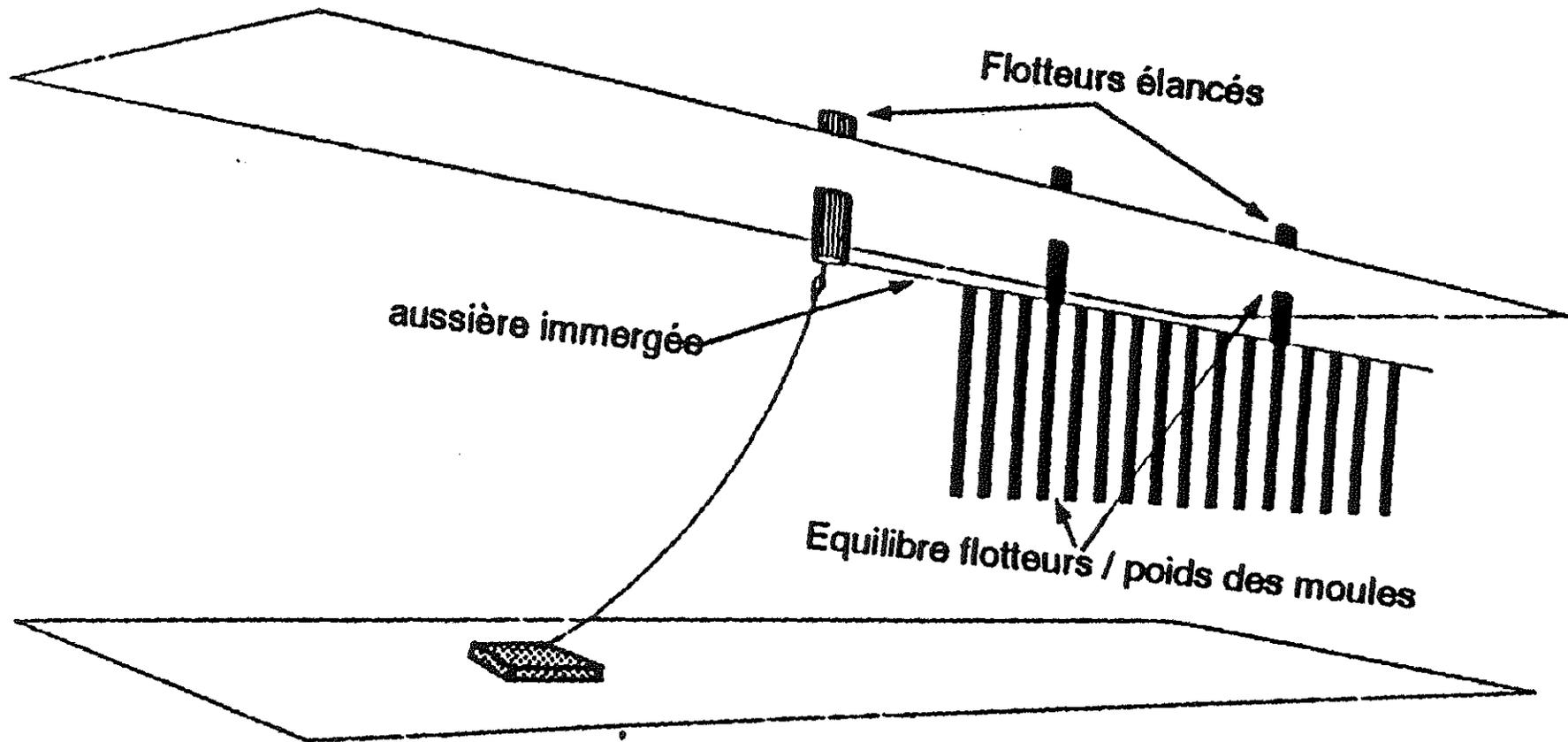


Figure 2 - Les trois idées qui caractérisent les filières "subflottantes".

L'implantation des filières s'est effectuée au large de la pointe d'Arçay, entre le continent et l'Ile de Ré, sur un site d'environ 10 mètres de profondeur (figure 3).

III. MATERIELS ET METHODES

3.1. Stratégie d'échantillonnage ; site

En collaboration avec Messieurs M. Héral, A. Bodoy, C. Bacher et Madame M.J. Dardignac, il a été établi une stratégie d'échantillonnage adaptée aux nécessités de la modélisation et répondant aux besoins biologiques.

L'échantillonnage des stations 1, 2 et 3 est effectué le même jour à l'aide d'un chaland Antares, basé à La Rochelle.

3.1.1. Station 1

Elle est située à 1,5 miles au nord de l'Ile de Ré. Ce point a été choisi en raison de sa proximité avec le Pertuis d'Antioche pour étudier l'éventuelle influence de la remontée du panache de la Gironde.

3.1.2. Station 2

La station 2, située au sud de la pointe de l'Aiguillon, à la sortie de l'anse de l'Aiguillon est susceptible de nous fournir des informations sur les apports de la Sèvre Niortaise à l'écosystème (sels nutritifs, sestons organiques et minéraux).

3.1.3. Station 3

Implantée à proximité immédiate des nouvelles cultures sur filière, c'est à cet endroit que nous déterminerons les qualités nutritionnelles de l'eau de mer. Cette zone, tout comme celle d'exploitation des moules, est soumise aux courants marins côtiers ainsi qu'aux courants estuariens locaux.

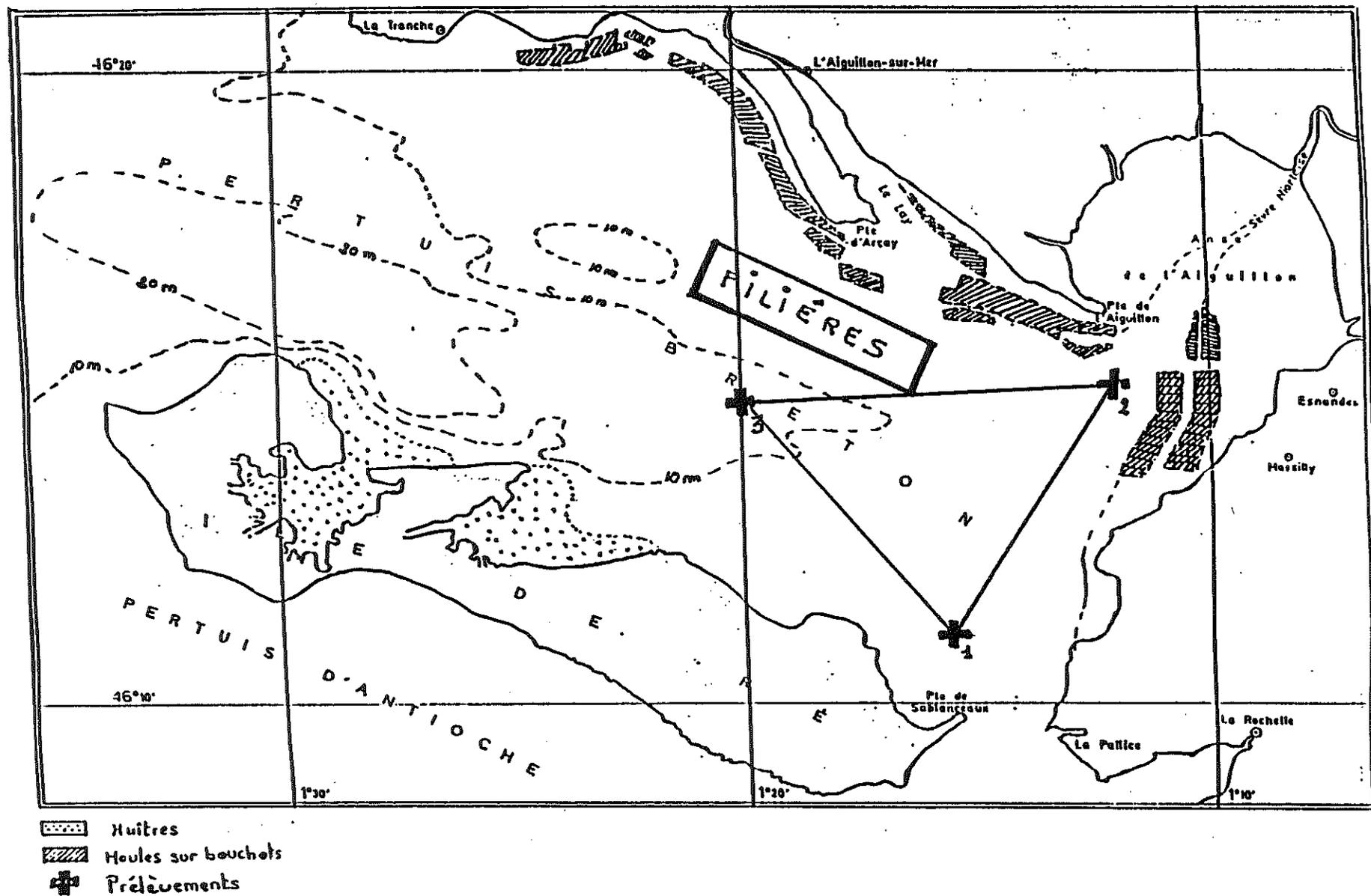


Figure 3 - Situation générale des cultures dans le Pertuis Breton et sites de prélèvements.

3.1.4. Suivi des stations

Fréquence des sorties aux stations :

* été, automne, hiver : 2/mois . L'une s'effectue avec un faible coefficient de marée et une autre avec un fort coefficient de marée.

* printemps : 1/semaine.

Total : 30 prélèvements/an.

La cadence des prélèvements est doublée au printemps à cause du bloom phytoplanctonique survenant à cette période de l'année. C'est également la période de reproduction des mollusques.

De plus, une fois par mois en été, automne, hiver, et deux fois par mois au printemps un prélèvement est effectué sur les filières pour ramener des moules.

3.1.5. La signification des variables mesurées

Les variables choisies expriment en fait trois choses :

- La quantité de nourriture présente pour *Mytilus edulis*.
- Les conditions influençant le développement de cette nourriture.
- La croissance des moules que l'on observe grâce à des paramètres tels que la taille, le poids...

Toutes les variables biologiques sont en fait interconnectées entre elles et dépendantes les unes des autres.

3.1.5.1. Hydrologie

3.1.5.1.1. La température

Elle influe sur la plupart des mécanismes biologiques :

* La production primaire : développement du phytoplancton : Par exemple au printemps (réchauffement de l'eau) cette population autotrophe va connaître un bloom phytoplanctonique qui accroît considérablement la biomasse planctonique.

* La physiologie de la moule qui par le biais de mécanismes enzymatiques induits par la température sera modifiée, notamment pour la filtration et l'assimilation de la nourriture.

3.1.5.1.2. Les chlorophylles et phéopigments

Le phytoplancton représente l'essentiel de la nourriture des mollusques filtreurs.

Les chlorophylles permettent de quantifier le phytoplancton, alors que les phéopigments sont les pigments dégradés résultant de la mort du matériel végétal. Ils représentent la matière détritique.

Parmi les premiers maillons de la chaîne alimentaire sous-marine, ces chlorophylles et phéopigments permettent de quantifier la nourriture potentielle pour les mollusques : le phytoplancton (dont le développement est soumis aux variations de température...).

3.1.5.1.3. Seston organique

Il représente la nourriture particulière dans son ensemble : matières et molécules organiques, chlorophylles, phéopigments, qui est susceptible d'être ingérée par le mollusque.

3.1.5.1.4. Seston minéral

Il fournit une mesure de la turbidité de l'eau. En effet, plus il y a de seston minéral, plus l'eau est opaque. La production primaire en est influencée (peu de lumière pour la photosynthèse). Les sestons organiques et minéraux qui ont tendance à sédimenter peuvent être remis en suspension par les courants (marées) ou le vent (agitation de la colonne d'eau).

3.1.5.1.5. Les sels nutritifs

Ce sont les sels intervenant dans la croissance des végétaux. Ils ont deux origines :

- organique : provenant alors de l'excrétion dissoute des mollusques (urée...),
- minérale : ce sont les nitrites, nitrates, ammoniac, phosphates et silicates. Ils peuvent constituer des facteurs limitants la production primaire car ils sont directement assimilables par le phytoplancton et à l'origine de son développement.

A travers toutes ces variables, on s'attachera donc à estimer la nourriture potentielle contenue dans l'eau (sestons organiques, phytoplancton), elle même dépendante des fluctuations de température, de quantité de sels nutritifs, et à analyser les relations entre les moules et la nourriture présente dans le milieu.

3.1.5.2. Les moules

3.1.5.2.1. La taille, le poids total, le poids frais, le poids sec, le poids de coquille

Cela nous permet de mesurer l'évolution mensuelle de la croissance de la population étudiée sur filière.

3.1.5.2.2. les constituants biochimiques

Grâce aux protides, lipides, sucres totaux et glycogène mesurés, un suivi de tous les constituants importants des moules peut être réalisé afin de suivre l'évolution du métabolisme du mollusque sur une période d'environ 9 mois. Cette période correspondant à la croissance, la maturation des gamètes et la reproduction.

3.2. Méthodes de mesures des paramètres hydrologiques

3.2.1. Sur le terrain

3.2.1.1. Prélèvements proprement dits

A chaque station, un prélèvement à 1 m au-dessus du fond et un prélèvement à 1 m sous la surface, pour les stations 1, 2 et 3 (plus un prélèvement au milieu pour la station 3, plus profonde) ont lieu toutes les 2 h à 2 h 30. Cela nous permet de faire 5 tours pendant 11 h à 12 h (ce qui correspond à un cycle de marée

complet : marée haute et marée basse), soit 35 prélèvements/sortie-tours. L'une des mesures est effectuée le matin, avant le levé du soleil et les autres se trouvent assez espacées dans la journée pour couvrir les périodes de haute mer et de basse mer.

Les prélèvements d'eau se font avec une bouteille à renversement SUBER d'une contenance de 2,5 l, en PVC aux profondeurs indiquées précédemment : 1 m sous la surface et 1 m au-dessus du fond aux stations 1, 2, 3, plus un prélèvement à mi profondeur à la station 3.

L'eau est filtrée grossièrement à 250 μm pour éliminer les particules en suspension (algues...) et recueillie dans des bidons en PVC opaques d'une contenance de 5 l.

3.2.1.2. Mesures à bord

Certaines variables sont mesurées directement à bord, après le prélèvement, d'autres seront exploitées en laboratoire.

3.2.1.2.1. La température

Elle est mesurée grâce à un analyseur multiparamètres (pH/ec/°C meter) C925 K CONSORT, directement dans le bidon en PVC.

3.2.1.2.2. Les sels nutritifs et chlorophylles

Après homogénéisation, 50 cm^3 d'eau de mer sont prélevés grâce à une seringue Plastipak (Becton Dickinson) en polypropylène de 60 ml que l'on monte sur un appareil de filtration SARTORIUS.

Le filtre employé est de type WHATMAN GF/C d'un diamètre de 25 mm et d'une porosité de 1,2 μm .

Le filtrat est récupéré dans des petits flacons en polypropylène étanches, et servira au dosage des sels nutritifs. On récupère le support Sartorius contenant le filtre chargé de matières en suspension pour étudier les chlorophylles et phéopigments.

Le tout est placé au frais, dans une glacière à l'abri de la température et de la lumière.

3.2.1.2.3 Conservation

Le restant d'eau non utilisée sera traité en laboratoire et conservé dans les bidons opaques, ils seront rafraîchis si nécessaire avec la pompe à eau du bord.

3.2.2. *Au laboratoire*

3.2.2.1. *Traitement des échantillons avant expériences*

Les sels nutritifs et les filtres pour chlorophylles et phéopigments sont conservés au congélateur, à -18°C et à l'abri de la lumière.

Les bidons d'eau de mer sont conservés au frais, dans une salle tempérée. Il serait nécessaire pour en assurer une meilleure conservation, de disposer d'une chambre froide à environ 4°C .

Toutefois le temps de séjour reste relativement court car les échantillons sont traités dès le lendemain de la sortie.

3.2.2.2. *Les sels nutritifs*

Afin de quantifier les sels nutritifs (nitrates, nitrites, ammoniac) les échantillons sont traités à l'Houmeau : CREMA (IFREMER, CNRS) grâce à un appareil de dosage : SCALAR (analyseur automatique).

3.2.2.3. *Les chlorophylles et phéopigments*

La méthode employée consiste à mesurer l'émission fluorescente des chlorophylles et phéopigments, avant et après acidification d'un extrait acétonique de pigments.

Ceci se fait grâce à un fluorimètre à filtre TURNER A112.

La méthode d'extraction, de dosage et l'étalonnage de l'appareil est décrite en annexe (annexe 2).

3.2.2.4. Les sestons

La matière particulaire est recueillie sur des filtres WHATMAN GF/C d'un diamètre de 47 mm et d'une porosité de 1,2 μm .

Ces filtres sont préalablement calcinés à 450°C pendant une heure afin d'éliminer d'éventuels dépôts organiques, puis pesés après retour à température ambiante dans un dessiccateur. Ces filtres sont ensuite conservés dans des boîtes de Pétri répertoriées.

500 ml d'eau sont filtrés sur une rampe à filtration SARTORIUS. Si la quantité de particules est telle qu'il y a colmatage du filtre avant passage des 500 ml, l'opération est stoppée, après avoir noté la valeur du volume filtré. Les filtres sont ensuite rincés à l'eau distillée pour éliminer le sel résiduel.

Après séchage de douze heures à l'étuve à 60°C, une pesée est effectuée après retour à température ambiante. Elle représente la matière particulaire totale en suspension. Après une calcination d'une heure à 450°C puis retour à température ambiante dans le dessiccateur, une seconde pesée est réalisée. La quantité restant alors sur le filtre représente la matière particulaire minérale.

Après déduction du poids du filtre, on obtient :

- la matière particulaire totale,
- la matière minérale,
- la matière organique (matière particulaire moins matière minérale).

3.3. Croissance de *Mytilus edulis*

3.3.1. Sur le terrain

3.3.1.1. Les conditions d'expérience

Du fait :

- d'un matériel lourd à employer lors du relevage de la aussière principale lors des prélèvements de moules (barge, grue),

- de la difficulté à réunir ensemble chercheurs et professionnels possédant ce matériel sur le site,
- et de la nécessité pour l'étude des populations d'un isolement relatif (pas de contamination par du naissain étranger), limitant aussi les possibilités de pertes, une technique plus souple d'utilisation, adaptée aux moyens nautiques disponibles a été employée.

Il s'agit en fait de paniers : poches ostréicoles en plastique rigide, aménagées pour l'occasion et disposées directement sur l'aussière principale.

3.3.1.1.1. expériences préliminaires

En premier lieu, le panier seul était fixé à l'aussière grâce à une corde.

Ce panier était soutenu par un tube en plastique dur qui fixé à la corde permettait de minimiser les forces exercées sur le système.

L'ensemble était maintenu dans l'eau grâce à un lest de 2 kg en chaînes galvanisées .

Cependant, dès la première tempête rencontrée, le tout était arraché, sans aucun espoir de récupération.

3.3.1.1.2. Le système actuel

La base est restée la même, les moules sont enfermées dans des paniers de 40 cm de diamètre sur 20 cm de long, à mailles larges (1,2 cm) pour éviter le colmatage mais suffisamment fines pour maintenir les moules dans le panier.

Le tout est placé dans une "manne" ostréicole en fer galvanisé. Cette manne de dimension : 38,5 x 49,5 x 25 cm, à mailles de 2,7 x 3,5 cm est maintenue au fond par 2 kg de lest : 4 barres de fer soudées au fond de la manne. Cela évite au panier de trop grandes oscillations lors des différents mouvements d'eau qui l'agitent (marées, vents, courants). La dite manne, à l'origine sans couvercle a été munie d'une fermeture en grillage galvanisé attaché par des crochets en métal au corps du système. Le maillage, tout comme celui des paniers a été choisi large pour éviter le colmatage par les algues et autres particules en suspension (figure 4).

Le système d'attache à l'aussière principale est plus complexe que le précédent, plus solide et résiste mieux à la houle, même lors de mauvais temps (figure 5).

3.3.1.1.3. Les populations étudiées

L'étude porte sur deux cohortes :

- Première cohorte

Elle est constituée de 200 moules de bouchots, âgées d'environ 1 an (naissance au printemps 1990), par panier, sur un total de 20 paniers. Elles sont toutes triées et calibrées, d'une taille comprise entre 38 et 43 mm. Ces moules ont été choisies en bonne santé, autant que l'on ait pu en juger et débarrassées des parasites externes apparents : vers plats, balanes, bryozoaires. Ces paniers sont maintenus entre 2,5 et 3 m en dessous de la surface durant toute la durée de l'expérience. Ils ont été installés le 20 juillet 1991.

- Seconde cohorte

Il s'agit ici de naissain de moules issus de la filière elle-même, né au printemps 1991. Cent individus sont disposés par panier, sur un total de 15 paniers. Elles sont toutes triées et calibrées, d'une taille comprise entre 43 et 47 mm. Les paniers ont été déposés le 16 décembre 1991.

Ces deux cohortes homogènes permettent de suivre deux courbes de croissance différentes :

- de 0 à 1 an avec le naissain de filière,
- de 1 à 2 ans avec les moules de bouchots, seules disponibles, les filières étant trop récentes dans le Pertuis Breton.

Ces deux cohortes composées chacune d'individus identiques au départ nous permettront d'avoir des résultats cohérents pour l'étude de leur croissance.

Compte tenu de la grandeur du panier et du maillage des supports (manne et panier) qui laissent librement circuler l'eau, les conditions de croissance peuvent

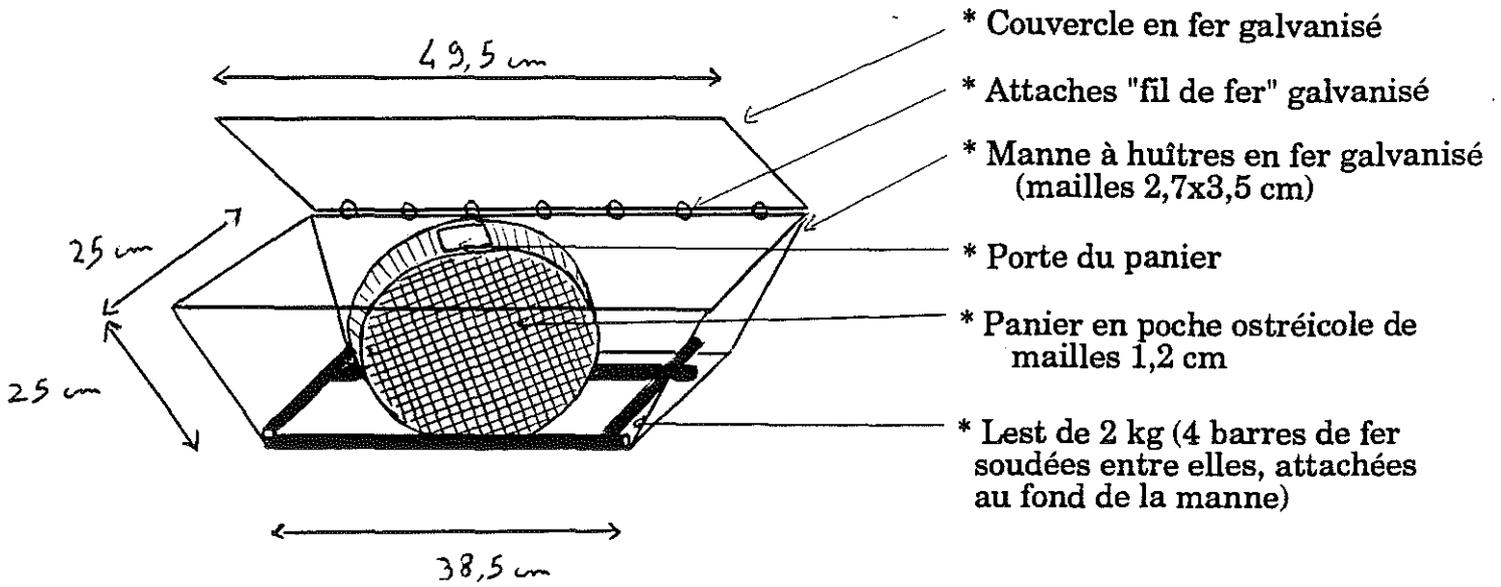


Figure 4 - Détail des installations d'élevage sur filière.

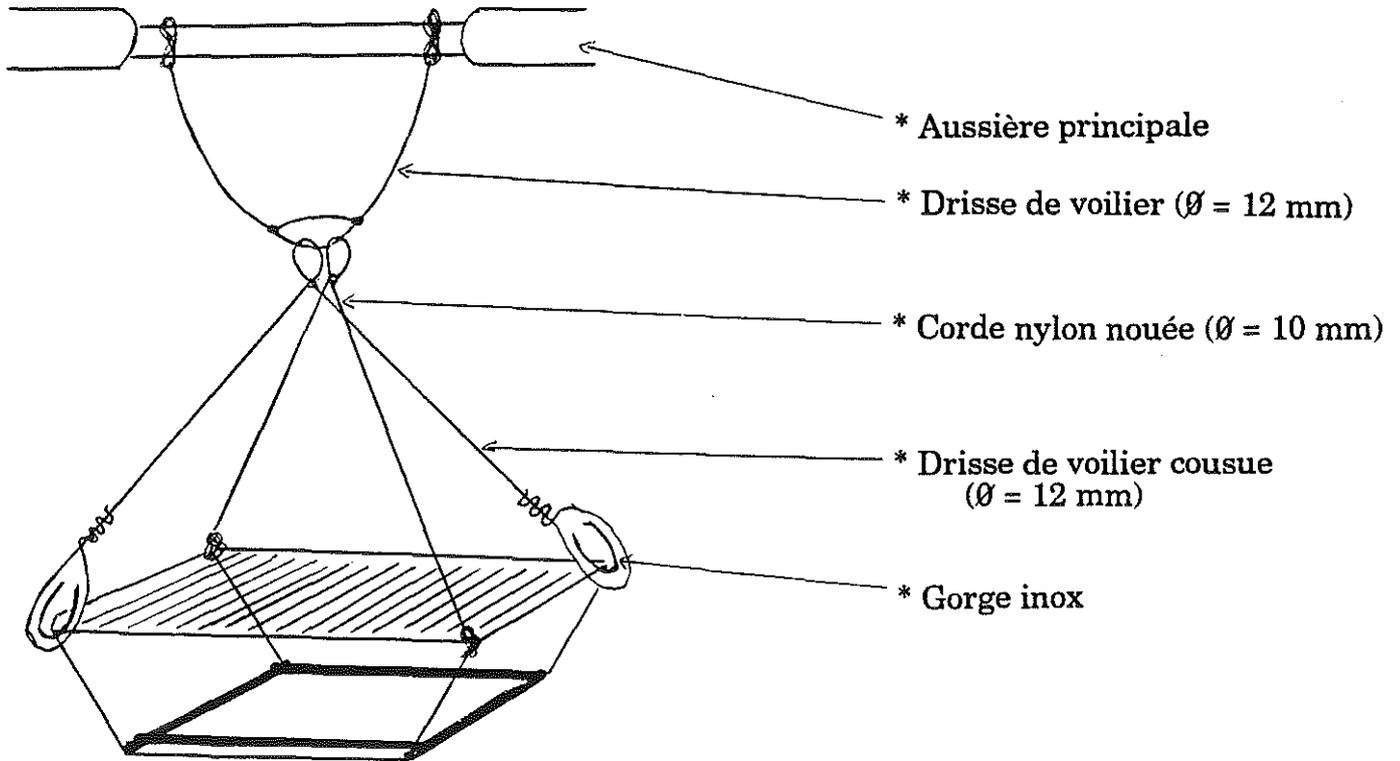


Figure 5 - Technique d'attache du panier d'élevage sur l'aussière principale de la filière.

être considérées comme optimales, même si elles ne correspondent pas exactement aux conditions réelles de subsurface.

3.3.1.2. Entretien

Afin de conserver les meilleures conditions de culture, il a fallu nettoyer les paniers à cause du colmatage provoqué par le développement d'algues qui se fixent sur les mannes. Cette opération est effectuée à l'aide de la pompe à eau du bord si les paniers sont relativement propres, les mannes sont changées si elles sont trop obstruées.

3.3.2. Mesures faites au laboratoire

Les paniers sont conservés dans un réservoir d'eau de mer, le minimum de temps possible afin de ne pas mesurer ensuite des paramètres liés au bassin.

En premier lieu, après avoir éliminé les moules ne correspondant pas aux cohortes étudiées (par exemple, du naissain de filière qui a poussé avec les moules de bouchots), un comptage est effectué afin de mesurer le pourcentage de mortalité.

Diverses observations sont ensuite réalisées :

3.3.2.1. Les associations écologiques

** Les épibiontes*

Après un lavage grossier à l'eau de mer, et le choix au hasard de 50 individus sur les survivants, le développement éventuel d'organismes sur la surface externe de la coquille est noté. Il peut s'agir de vers plats, de balanes, de bryozoaires ou d'autres lamellibranches telles que des huîtres, crépidules...(annexe 1, photo n°4).

** Les organismes commensaux internes*

Avec un couteau, la coquille est nettoyée des algues et autres organismes qui ont pu s'y fixer. Les moules sont rincées à l'eau de mer et conservées dans un bac.

Après ouverture les organismes qui auraient pu établir résidence à l'intérieur de la coquille sont décomptés. Il peut s'agir soit de petits crabes ou bien de pinnothères (annexe 1, photo n°5).

*** Les parasites internes**

La présence de *Mytilicola intestinalis* a été recherchée. Ce petit vers rouge peut atteindre 2 à 5 mm de long, dans la cavité intestinale de son hôte (annexe 1, photo n°6).

De plus, la présence de déformations de coquille, de tâches noirâtres est aussi répertoriée.

3.3.2.2. La biométrie

Après nettoyage et avant ouverture, nous effectuons des mesures individuelles de biométrie sur les 50 individus prélevés.

*** Le poids total**

Les moules, conservées dans l'eau de mer jusqu'à présent sont séchées avec un chiffon puis pesées afin de déterminer le poids total : poids de coquille + poids de chair fraîche + poids de l'eau contenue dans la cavité palléale.

*** La taille**

Elles sont ensuite mesurées, avec un pied à coulisse au dixième de millimètre .

*** Le poids de chair fraîche**

Après ouverture, l'eau résiduelle est enlevée, la chair est soigneusement recueillie dans un tube préalablement taré, et une pesée de chair fraîche est effectuée.

*** Le poids de chair sèche**

Ce même tube contenant la chair fraîche sera congelé puis lyophilisé (lyophilisateur Christ Loc-1).

Après retour à température ambiante une dernière pesée est effectuée et par différence, on obtient le poids de chair sèche (soustraction du poids du tube).

* Le poids de la coquille

Les coquilles sont lavées, rincées à l'eau douce (élimination du sel) puis placées 24 heures à l'étuve à 60°C. Le lendemain, celles-ci sont pesées pour déterminer le poids de coquille.

3.3.2.3. La biochimie : composition proximale

Elle est réalisée sur les 25 premiers individus de notre lot étudié en biométrie, de façon individuelle. Toutes les mesures sont faites à partir de la chair lyophilisée obtenue précédemment qui a été conservée à l'abri de l'air et de la lumière dans un dessiccateur, afin de la préserver de la réhydratation. Cette chair est broyée manuellement à l'aide d'un mortier afin d'homogénéiser tous les compartiments physiologiques et de faciliter les prélèvements.

3.3.2.3.1. Les lipides

L'extraction est réalisée par la méthode de Bligh et Dyer (1959). Le dosage des lipides se fait par la méthode colorimétrique de Marsh et Weinstein (1959) (annexe 3).

3.3.2.3.2. Les sucres

Les sucres totaux et le glycogène sont dosés par la méthode colorimétrique de Dubois et al. (1956) à partir du culot récupéré lors du dosage des lipides (annexe 4).

3.3.2.3.3. Les protéines

Il s'agit ici de la méthode colorimétrique de dosage des protéines, de Lowry et al. (1951) (annexe 5).

3.4. Traitement informatique des données

Les données enregistrées sur disquette sont traitées sur un ordinateur personnel OLIVETTI M380 XP1 à l'aide du logiciel LOTUS 1-2-3.

Ce traitement comporte les opérations suivantes :

- la rentrée de données, pour chaque sortie et pour chaque variable mesurée (température, sestons, chlorophylles et phéopigments, sels nutritifs pour l'hydrologie, les différentes mesures de poids, de taille, de protéines, lipides, glucides sur les moules),
- la vérification des données,
- le calcul de moyennes et écart-types par date d'échantillonnage,
- la visualisation des résultats,
- la recherche de corrélations entre les différents paramètres.

Chaque variable possède donc son propre fichier.

Afin de faciliter l'interprétation, les graphiques sont sortis avec une même échelle des temps. Les moyennes sont visualisées ainsi que les points représentant + ou - 2 fois l'écart-type, par date de sortie et par variable.

De plus afin d'établir des correspondances (surface/fond, par exemple), des régressions linéaires ont été effectuées, afin aussi de déceler d'éventuelles erreurs (erreurs de frappe ou variations ponctuelles anormales), mais surtout, afin d'étudier les relations entre variables et de comparer les sites de prélèvement (surface, fond).

IV. RESULTATS

4.1. Résultats "milieu"

Seuls seront utilisés les résultats de la station C qui nous intéressent plus particulièrement à cause des filières, ceux des stations A et B étant utilisés pour la vérification des valeurs si nécessaire.

4.1.1. Paramètres physico-chimiques.

Le coefficient de marée et la date correspondant à chaque sortie sont notés dans le tableau 1.

Le temps est compté en jours, à partir du 1er juin 1991 qui marque le début des prélèvements.

4.1.1.1. La température

Le graphe de la figure 6 pour la station C représente l'évolution de la température moyenne de l'eau à chaque sortie-prélèvements et ce sur toute la durée de l'expérience : de juin 1991 à fin avril 1992.

Elle fluctue de 5,85 à 21,8°C au cours des 9 mois avec un pic et des valeurs maximales durant les premiers mois d'été : juillet, août et septembre (mois les plus ensoleillés de l'année), un palier à 17°C durant les mois d'octobre et novembre (période automnale relativement douce) et une chute brutale au mois de décembre avec l'arrivée du froid hivernal. Elle se maintient ensuite entre 5,85 et 6,58°C jusqu'à mi-mars. Puis l'on observe un réchauffement printanier de fin mars à fin avril où la température atteint 11,2°C.

Ces prélèvements sont plus rapprochés à cette époque de l'année afin d'observer les phénomènes biologiques suivants : production de phytoplancton, reproduction des moules.

4.1.1.2. Les sestons

Il s'agit de la matière particulaire en suspension dans l'eau de mer.

4.1.1.2.1. La matière organique

* En surface (figure 7)

Elle fluctue de 1,90 à 8,22 g/m³ durant la période étudiée avec des maxima durant les mois de novembre et décembre.

Tableau 1 - Dates et coefficients de marée correspondant à chaque sortie effectuée.

N° de sortie	DATE	Coefficient de marée
1	05/06/91	48
2	23/07/91	46
3	22/08/91	50
4	03/09/91	44
5	24/09/91	92
6	08/10/91	102
7	20/10/91	95
8	06/11/91	89
9	08/12/91	71
10	15/12/91	45
11	11/01/92	62
12	21/01/92	107
13	11/02/92	53
14	18/02/92	106
15	03/03/92	76
16	31/03/92	65
17	08/04/92	68
18	14/04/92	78
19	24/04/92	38

Elle se stabilise ensuite aux alentours de $2,5 \text{ g/m}^3$ durant la fin de l'hiver et le début du printemps.

* Au fond (figure 8)

Elle fluctue plus largement entre $1,86$ et $18,45 \text{ g/m}^3$ avec des maxima durant les mois de septembre et novembre, respectivement $16,90$ et $18,45 \text{ g/m}^3$. Puis on observe une chute en décembre suivie par de petites fluctuations avec un maximum à $6,43 \text{ g/m}^3$ jusqu'à fin avril 1992.

Le fond subit donc beaucoup plus de variations que la surface.

4.1.1.2. La matière minérale

* En surface (figure 7)

Les variations sont très marquées et se situent de $3,15$ à $41,04 \text{ g/m}^3$ avec des maxima en automne-hiver, de septembre à décembre. L'on observe un pic moindre en janvier et février puis la teneur en seston minéral stagne, aux alentours de $2,7 \text{ g/m}^3$ jusqu'à fin avril.

La teneur en particules minérales est toujours supérieure à celle en particules organiques à part lors de la sortie 10 (légèrement inférieure).

On observe toutefois une très grande variabilité dans les mesures, aussi bien chez le seston organique que le seston minéral.

* Au fond (figure 8)

L'évolution reste similaire à celle observée en surface avec de fortes variations toujours aux sorties 6 et 8. La quantité au fond est supérieure à celle en surface et fluctue de $3,16$ à $97,35 \text{ g/m}^3$. Comme précédemment la quantité de particules minérales reste toujours supérieure à celle en particules organiques.

4.1.1.3 Les sels nutritifs

Nous ne disposons pas actuellement de toutes les valeurs, la période étudiée s'arrêtant à la fin janvier 1992.

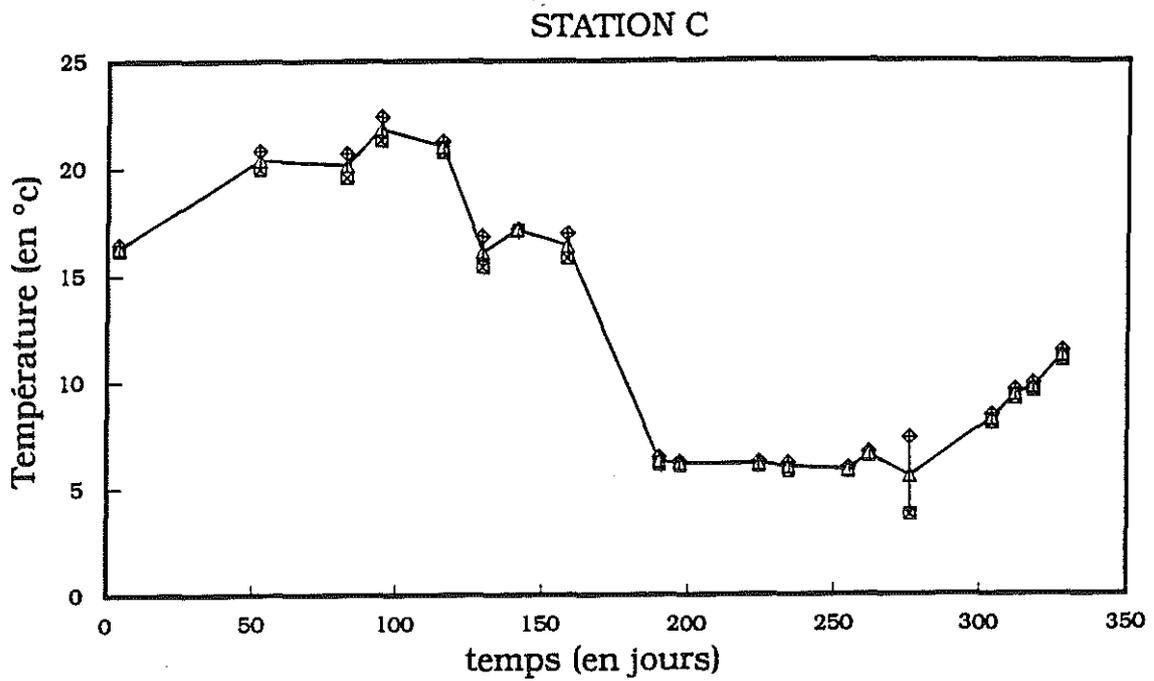


Figure 6 - Evolution de la température au cours du temps entre le 01/06/91 (jours 0) et le 24/04/92. (les traits verticaux correspondent à + ou - deux fois l'écart-type des valeurs).

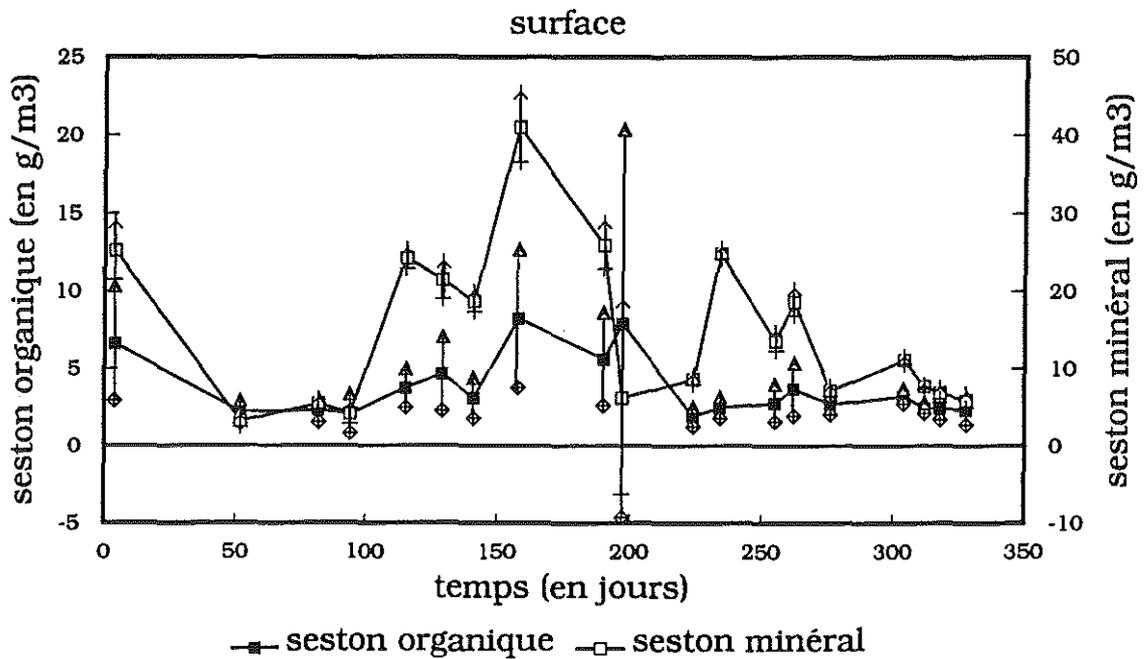


Figure 7 - Evolution temporelle de la matière particulaire minérale et organique en surface, exprimée en g/m³.

Il s'agit de substances dissoutes telles que les nitrites, nitrates et ammoniac qui sont disponibles pour les organismes photosynthétiques.

* Les nitrites + nitrates

La tendance générale en surface et fond est identique avec une partie pratiquement constante jusqu'en octobre 1991 puis une augmentation au cours de l'hiver. La tendance générale oscille entre 3 et 60 μmoles d'azote nitrique/l (figures 9 et 10).

Les forts écart-types constatés sur ces graphiques indiquent une grande variabilité journalière de la teneur en sels nutritifs.

* L'ammoniac

La figure 11 indique une assez forte variabilité saisonnière, avec des maxima durant les mois de septembre à novembre. Toutefois il faut relativiser ces variations, les quantités en ammoniac restant très inférieures à celles en nitrites et nitrates. En effet, elles varient entre 0,5 et 5,7 μmoles d'azote ammoniacal/l.

4.1.2 Paramètres biologiques

Dans les figures 12 et 13 les sorties n°14 et 15 ainsi que les 18 et 19 ne sont pas représentées car non disponibles à l'heure actuelle (dosage non fait). La fin des résultats se situe donc au 08/04/92.

4.1.2.1. La chlorophylle a

La tendance de la courbe, aussi bien au fond qu'en surface montre une constance relative tout au long de l'année avec un petit pic en septembre à 1,96 $\mu\text{g/l}$ et un autre pic plus important de la mi-janvier à la fin mars (3,39 $\mu\text{g/l}$). La teneur en chlorophylle varie de 0,64 à 3,39 mg/l.

4.1.2.2. Les phéopigments

Leur évolution est à peu près semblable à la chlorophylle a, avec des pics au même moment, mais leur quantité est généralement supérieure : de 0,35 à 8,80 $\mu\text{g/l}$. On observe des fluctuations annuelles assez importantes mais très peu de

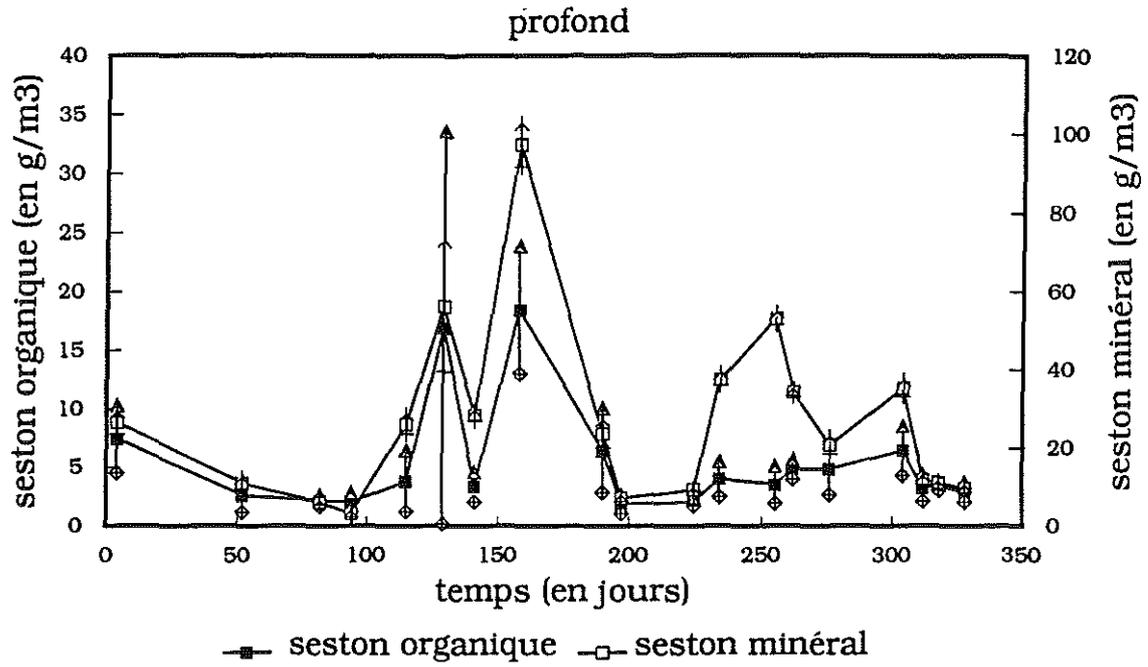


Figure 8 - Evolution temporelle de la matière particulaire minérale et organique en profondeur, exprimée en g/m³.

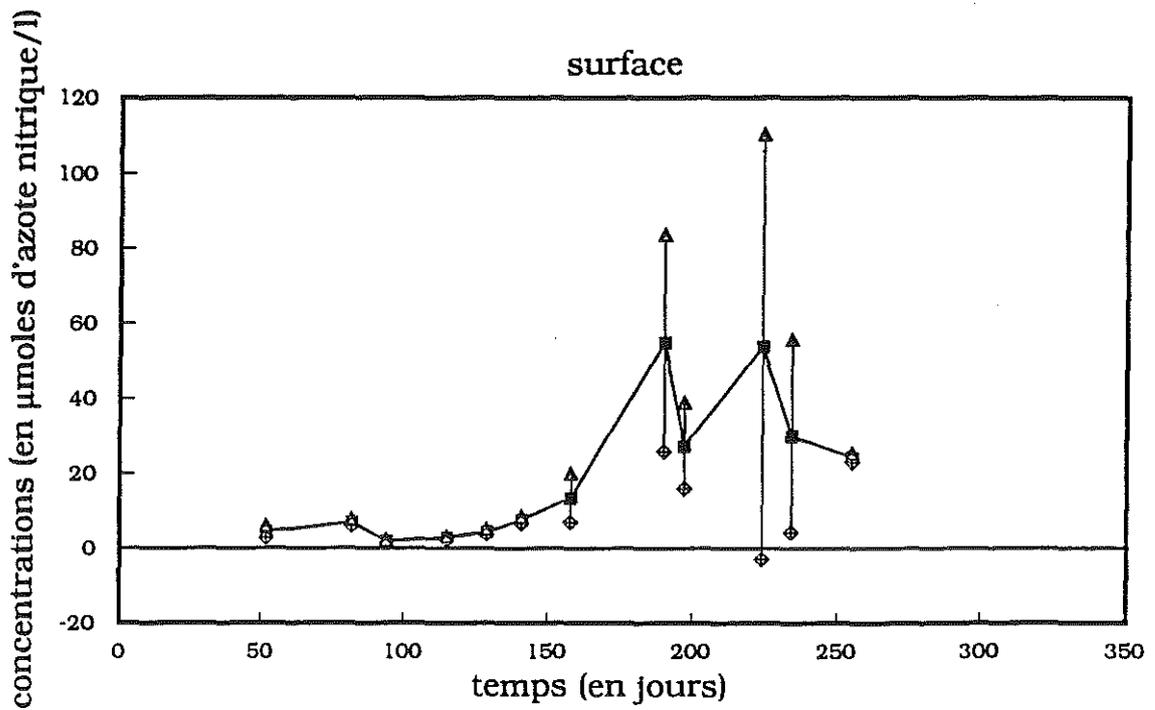


Figure 9 - Evolution temporelle des nitrates + nitrites en surface, exprimée en µmoles d'azote nitrique/l.

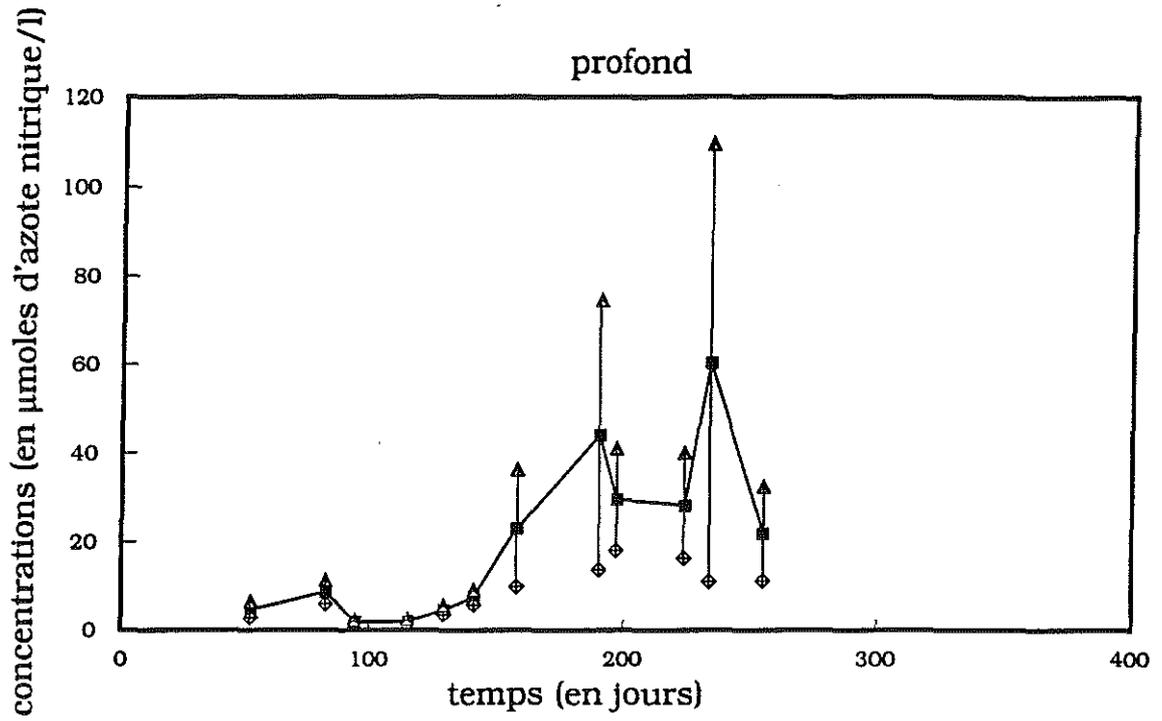


Figure 10 - Evolution temporelle des nitrates + nitrites en profondeur, exprimée en μ moles d'azote nitrique/l.

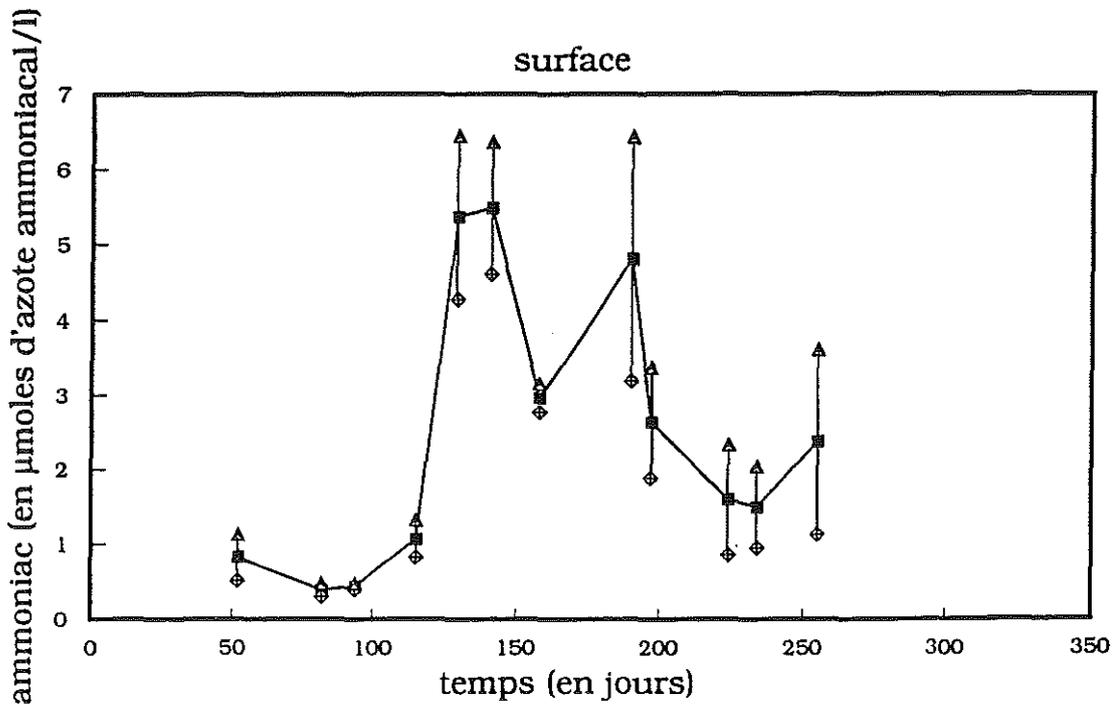


Figure 11 - Evolution temporelle de la teneur en ammoniac de l'eau, exprimée en μ moles d'azote ammoniacal/l.

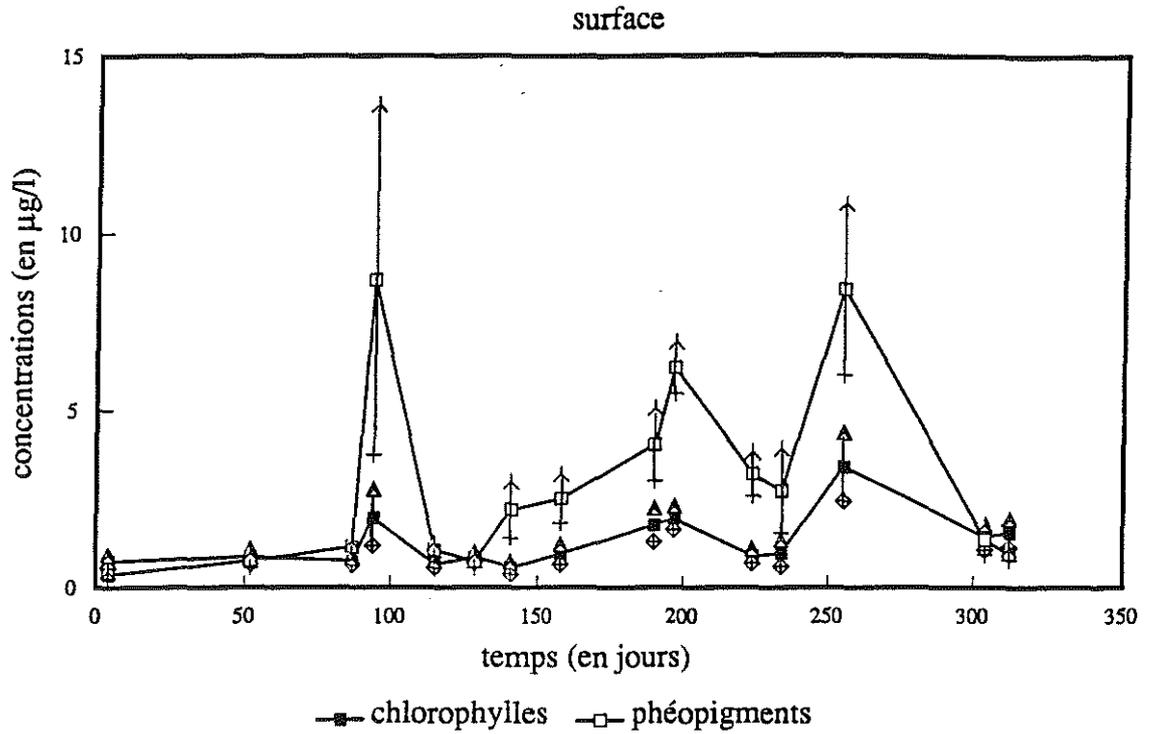


Figure 12 – Evolution temporelle des teneurs en chlorophylles et phéopigments en surface, exprimée en $\mu\text{g/l}$.

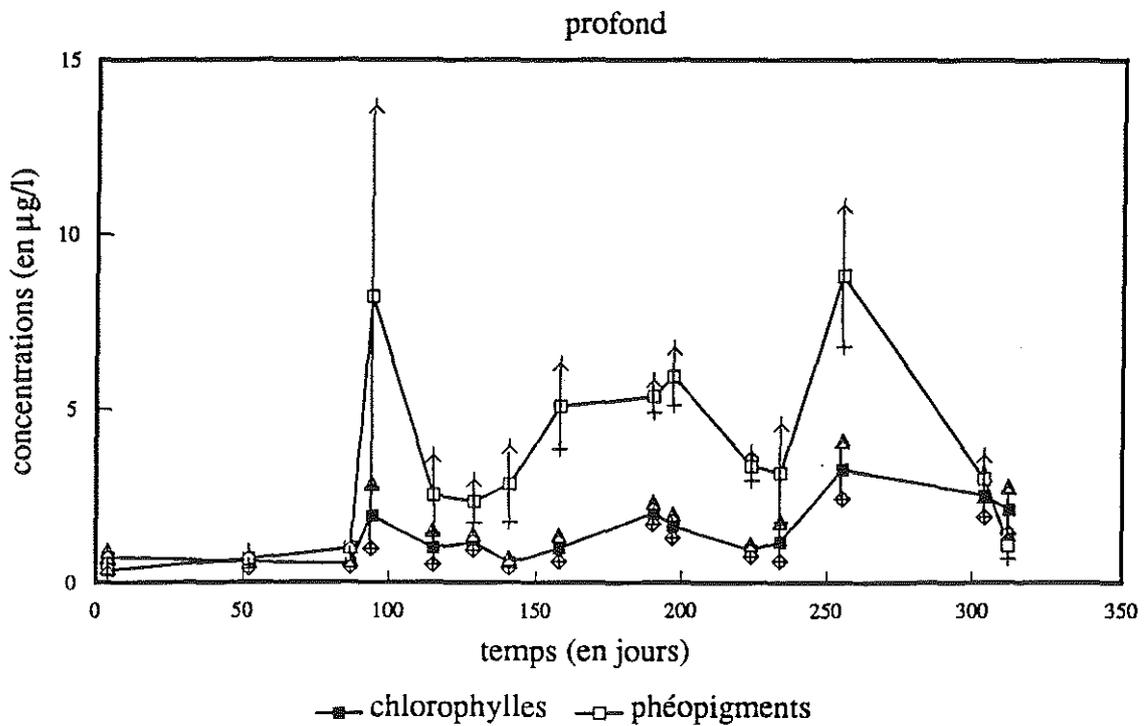


Figure 13 – Evolution temporelle des teneurs en chlorophylles et phéopigments en profondeur, exprimée en $\mu\text{g/l}$.

différences entre la surface et le fond. Toutefois, les valeurs en profondeur semblent légèrement supérieures à celles rencontrées en surface.

4.2. Résultats "moules"

Les dates de prélèvement sont consignées dans le tableau 2.

4.2.1. Le poids total

Il représente, le poids de l'individu vivant (le poids de coquille, plus le poids de chair fraîche et la quantité d'eau contenue dans la cavité palléale) (figure 14).

A partir d'un poids initial de 6,2 g, les moules atteignent 13 g après 9 mois, le naissain atteint le même poids que les moules de bouchots en fin d'expérience.

L'accroissement en poids est plus rapide chez le naissain : (pente de la droite plus forte) et même brutal car en deux mois (du 04/02/92 au 31/03/92 ; prélèvements 3 à 5) le naissain passe de 7,5 à 13 g environ : il a presque doublé son poids.

On observe une stagnation lors des deux derniers prélèvements. Il ne semble pas s'agir d'une erreur de mesure car les écart-types restent sensiblement identiques.

4.2.2. Le poids de coquille

Il représente une proportion relativement stable du poids total. Il suit une évolution très comparable à celle du poids total (figure 15).

Le poids de coquille pour le naissain de filière reste toujours inférieur à celui des moules de bouchots.

La chute observée pour le naissain lors du dernier prélèvement paraît être liée à la variabilité entre les paniers, la variabilité entre les individus restant identique (même écart-type que le prélèvement précédent).

Tableau 2 - Date des sorties de prélèvement du naissain et des moules de bouchots.

N° de sortie	Moules	Naissain
1	17/07/91	18/11/92
2	08/10/91	07/01/92
3	08/11/91	04/02/92
4	03/12/91	06/03/92
5	07/01/92	31/03/92
6	04/02/92	25/04/92
7	06/03/92	
8	31/03/92	
9	25/04/92	

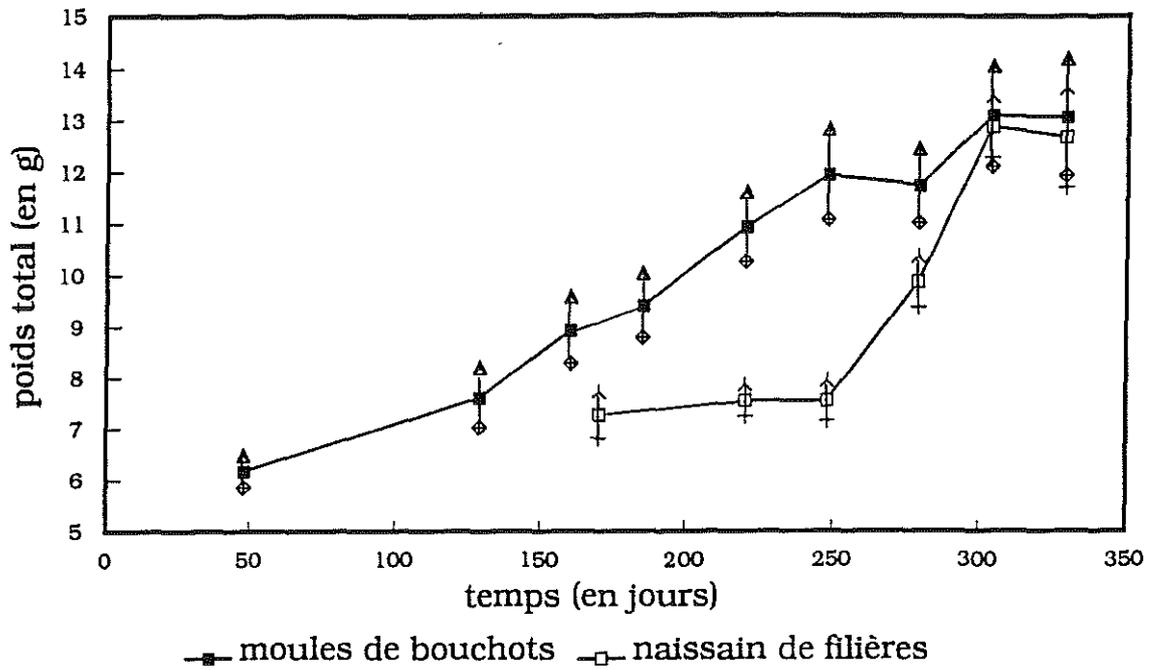


Figure 14 - Evolution du poids total de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole, exprimé en gramme.

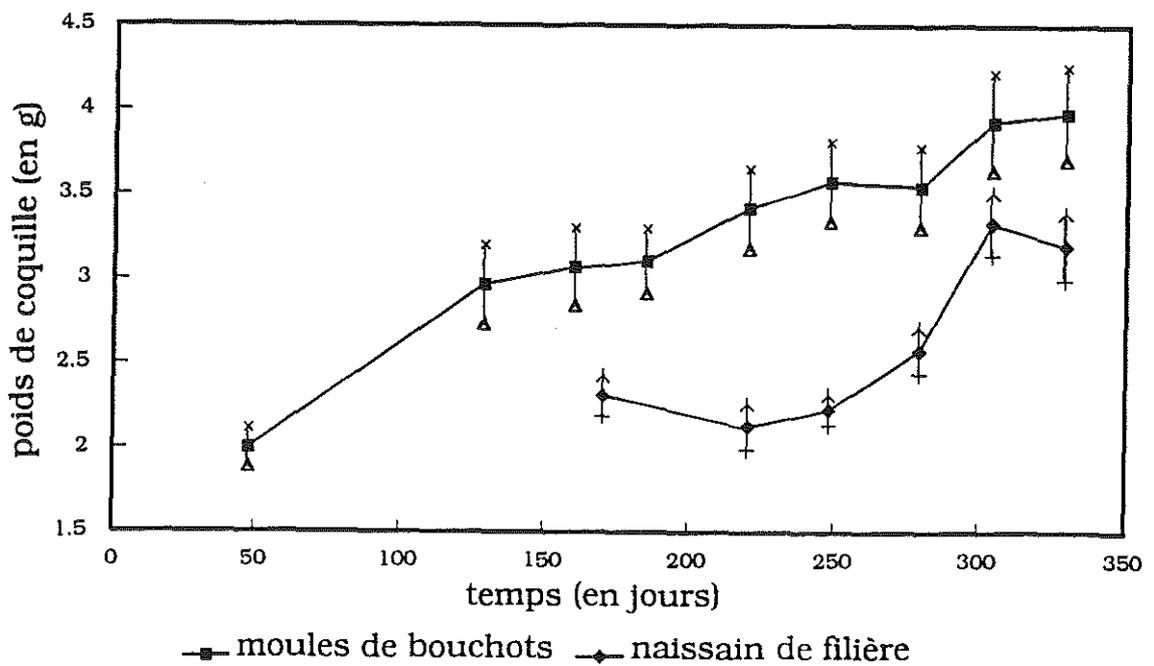


Figure 15 - Evolution du poids de coquille de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole, exprimé en gramme.

4.2.3. La taille

Ce paramètre suit également une évolution semblable à celle du poids total (figure 16), avec une croissance de 40,80 à 54,76 cm en 9 mois et demi. Pour le naissain, la croissance a été de 45,97 à 54,92 cm en 5 mois et demi.

La reprise de croissance pour le naissain paraît plus rapide entre février et début mars 1992 tandis que les moules de bouchots attendent la fin mars pour à nouveau s'accroître en taille.

Le naissain a tout d'abord rattrapé puis dépassé la taille des moules de bouchots.

4.2.4. Le poids sec

L'évolution du poids sec intègre les pertes dues à l'amaigrissement hivernal et à la ponte printanière (figure 17).

Le poids sec fluctue de 0,52 à 1,17 g pour les plus âgées et de 0,47 à 1,18 g pour le naissain.

Chez les moules de bouchots on observe une croissance régulière jusqu'au début mars puis une reprise de croissance en poids sec très marquée : de 0,69 à 1,17 g. De plus on observe un second amaigrissement significatif en avril.

Chez le naissain, l'évolution est similaire : amaigrissement hivernal, toutefois la reprise de croissance a lieu bien plus tôt : dès janvier. Le second amaigrissement est aussi très marqué, et comparable à celui des moules de bouchots.

Bien qu'ayant été installé plus tardivement, le naissain rattrape les moules de bouchots et l'évolution du poids sec est identique dès le mois de mars pour les deux cohortes. Toutefois, lors de la perte en poids sec du mois d'avril, celle du naissain est légèrement inférieure.

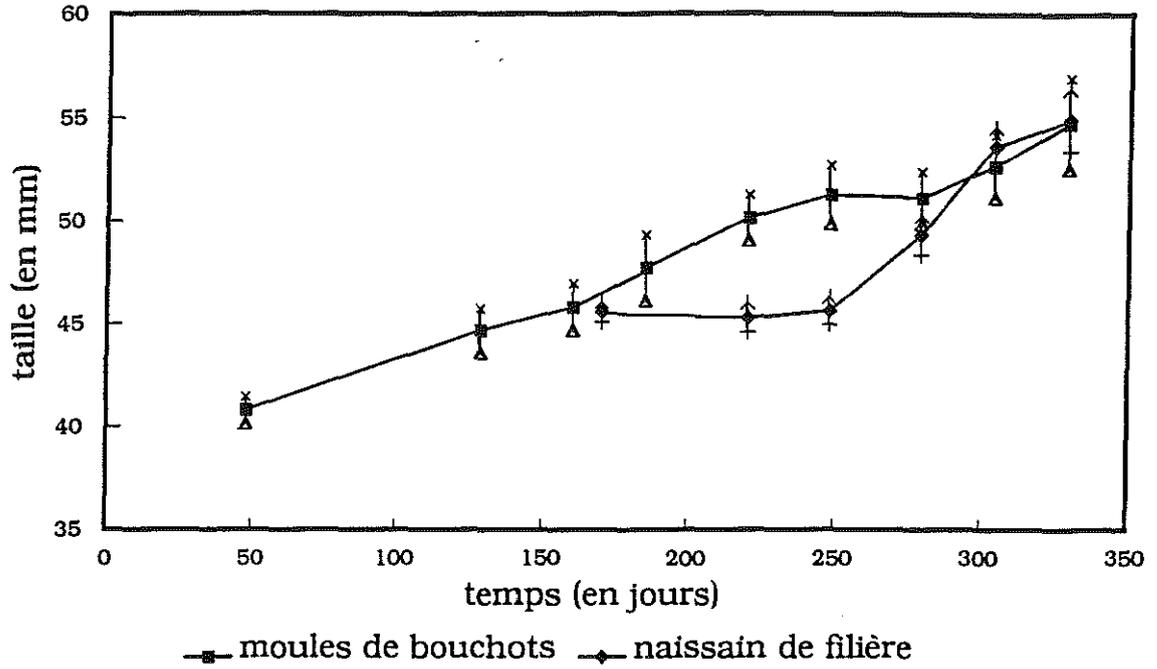


Figure 16 - Evolution de la taille de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole, exprimée en mm.

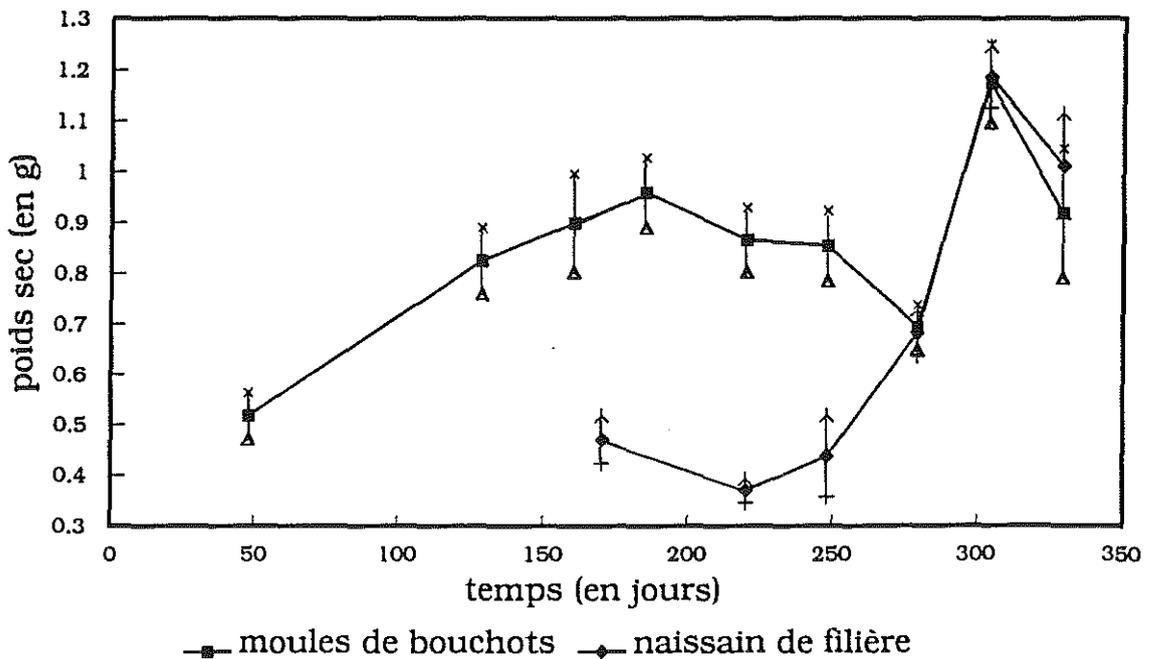


Figure 17 - Evolution du poids sec de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole, exprimé en gramme.

4.2.5. La composition biochimique

Les résultats obtenus sont d'abord exprimés de manière absolue en mg de poids sec. Ils s'inscrivent dans le cadre général de l'évolution des constituants protéiques, lipidiques et glucidiques qui chez les moules s'effectue en liaison avec le cycle de reproduction. Ils ont également été exprimés de manière relative, en pourcentage par rapport au poids sec. Cela s'assimile à la présentation d'un animal standard : on calcule, par exemple pour un animal de 1 g, les valeurs des autres paramètres à chaque prélèvement.

4.2.5.1. Evolution absolue (en mg de poids sec)

4.2.5.1.1. Les protéines

Ce paramètre suit d'assez près l'évolution du poids sec (figure 18) avec des fluctuations allant de 219 à 530 mg de poids sec chez les moules de bouchots et de 205 à 499 mg chez le naissain. On observe une montée régulière automnale, puis une baisse hivernale et un rapide gain en protéines dès le mois de mars. Une perte presque aussi rapide est observée entre fin mars et fin avril.

Pour le naissain, de même que pour le poids sec, la reprise de croissance est observée plus tôt (dès janvier), la quantité de protéines chez le naissain et les moules de bouchots étant sensiblement identique en fin d'expérience (celles en poids sec étant semblables). Toutefois on observe que la quantité de protéines perdues au mois de mars est moins importante pour le naissain que pour les moules de bouchots.

4.2.5.1.2. Les lipides

L'allure de la courbe est sensiblement identique à celle des protéines et du poids sec (figure 19). Toutefois, si la croissance en quantité est régulière en automne, l'on observe bien moins la chute hivernale qui se traduit par une légère stagnation puis régression. La montée rapide du mois de mars est par contre aussi observable ainsi que la chute du mois d'avril.

Chez le naissain, la prise de lipides est plus rapide (dès janvier-février contre début mars), puis le pic dépasse celui des moules de bouchots, la perte en avril étant proportionnellement moins importante.

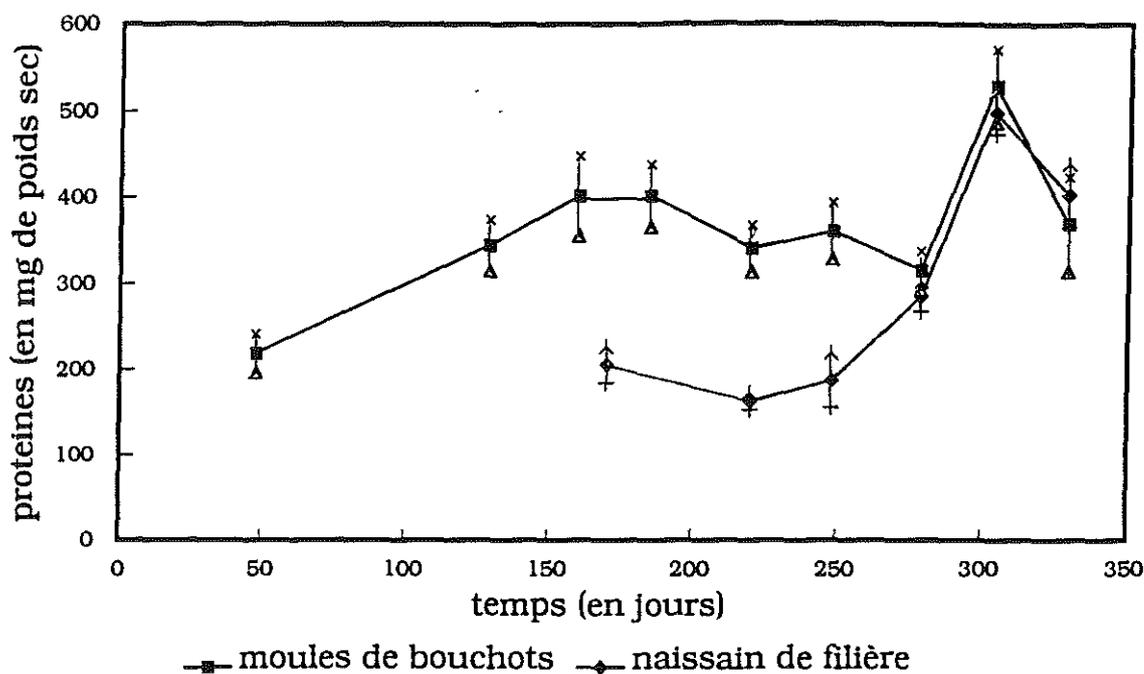


Figure 18 - Evolution de la teneur en protéines de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole, exprimée en mg de poids sec.

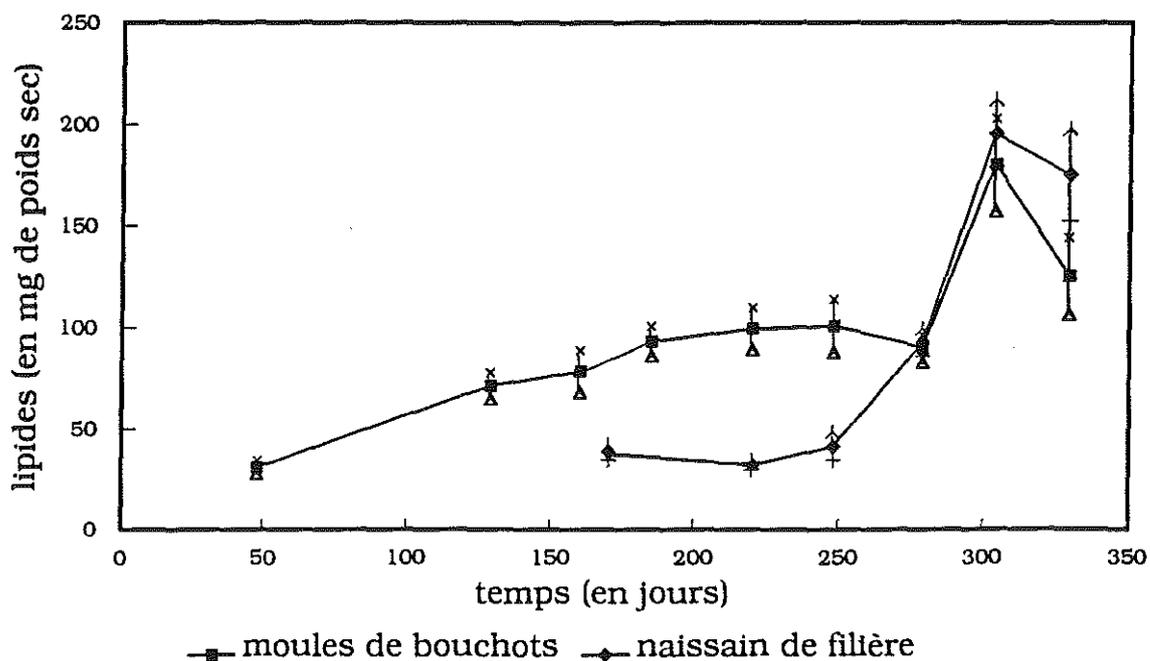


Figure 19 - Evolution de la teneur en lipides de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole, exprimée en mg de poids sec.

4.2.5.1.3. Les sucres totaux et le glycogène

Les courbes des sucres totaux et du glycogène sont tout à fait semblables entre elles, mais diffèrent quelque peu des courbes précédentes (figures 20 et 21). En effet, si l'on observe bien l'accroissement automnal, la chute hivernale est bien plus brutale et se situe en dessous des quantités mesurées en début d'expérience (pertes importantes). La forte reprise de printemps est observée à la même date, mais le pic ne se termine pas par une chute, au contraire des autres courbes, (poids sec, protéines, lipides), la quantité en sucres et en glycogène continue d'augmenter. Comme dans tous les autres paramètres, le naissain a fini par dépasser les moules.

4.2.5.2. *Evolution relative, exprimée en pourcentage par rapport au poids sec*

Les graphes sont représentés avec une même échelle sur l'axe des ordonnées, afin d'en faciliter l'interprétation et de gommer les variations non significatives.

L'évolution du pourcentage en protéines (figure 22) présente des différences significatives qui peuvent être dues à des phénomènes de compensation (c'est-à-dire qu'il y a interdépendance entre les différentes variables représentant les constituants biochimiques, l'animal ayant un poids standard constant) mais pas de tendance claire. Sur une période de 9 mois, le pourcentage reste relativement constant.

Le pourcentage de lipides ne fluctue guère, il est en augmentation lente mais régulière et a été multiplié par 2,5 environ en 9 mois (figure 23).

L'évolution générale pour les sucres totaux comme pour le glycogène comprend une relative constance en automne, une perte hivernale puis à un retour au niveau précédent à la fin du printemps (figures 24 et 25). Lors de la ponte constatée à l'avant-dernier prélèvement le pourcentage en glycogène, substance de réserve, continue de s'accroître. Il y a donc après la ponte, une restauration considérable du glycogène ainsi que des lipides.

Le paramètre glycogène est plus employé que celui des sucres totaux car sauf cas exceptionnel (4ème prélèvement) il représente la quasi totalité du matériel

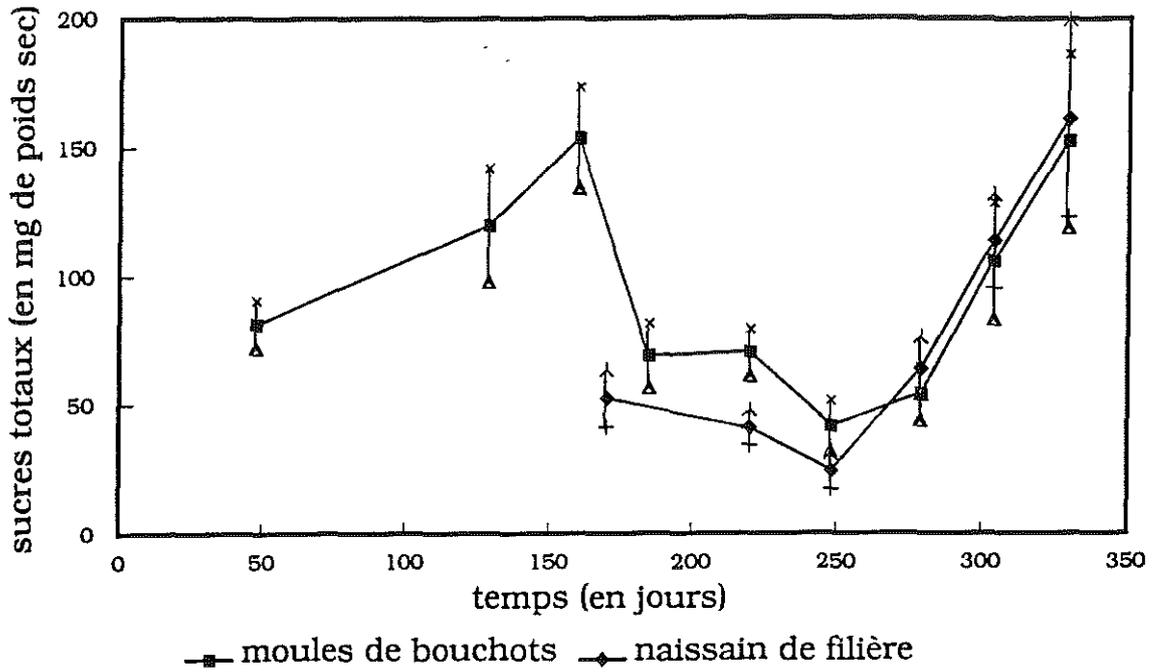


Figure 20 - Evolution de la teneur en sucres totaux de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole, exprimée en mg de poids sec.

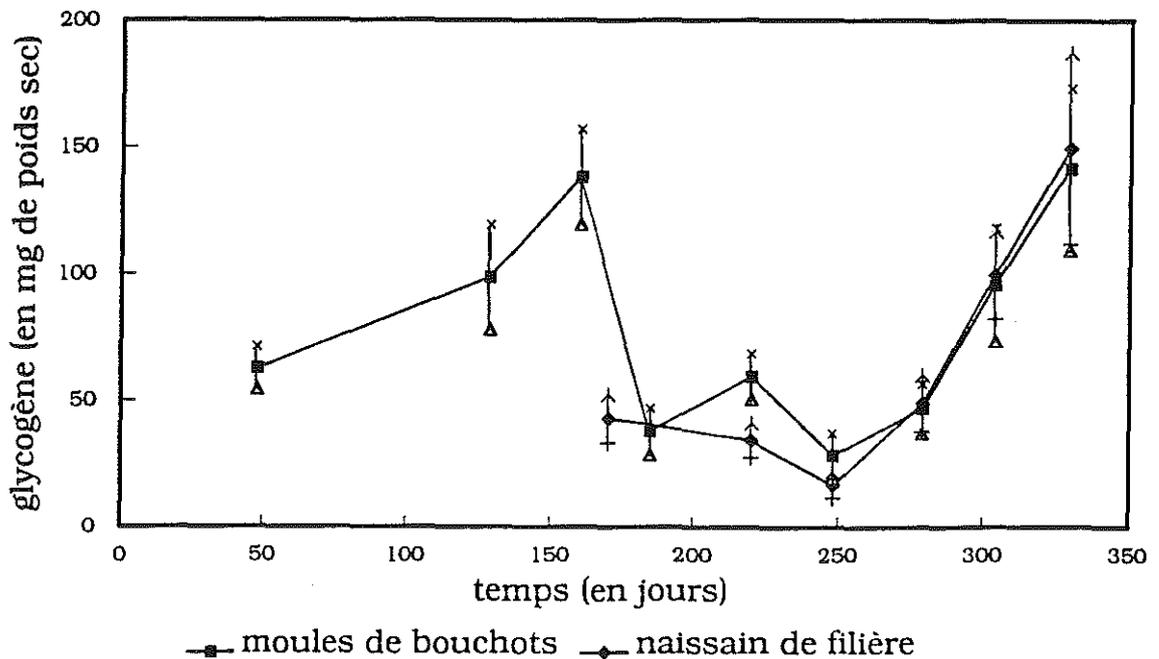


Figure 21 - Evolution de la teneur en glycogène de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole, exprimée en mg de poids sec.

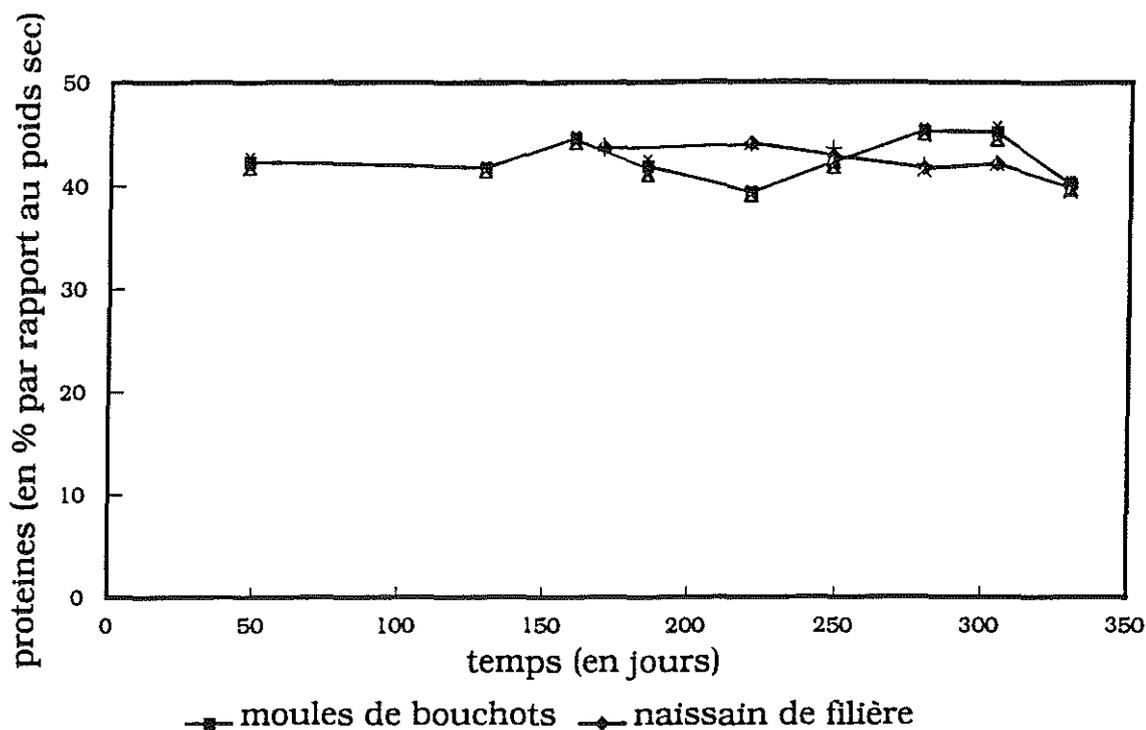


Figure 22 - Evolution du pourcentage en protéines par rapport au poids sec de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole.

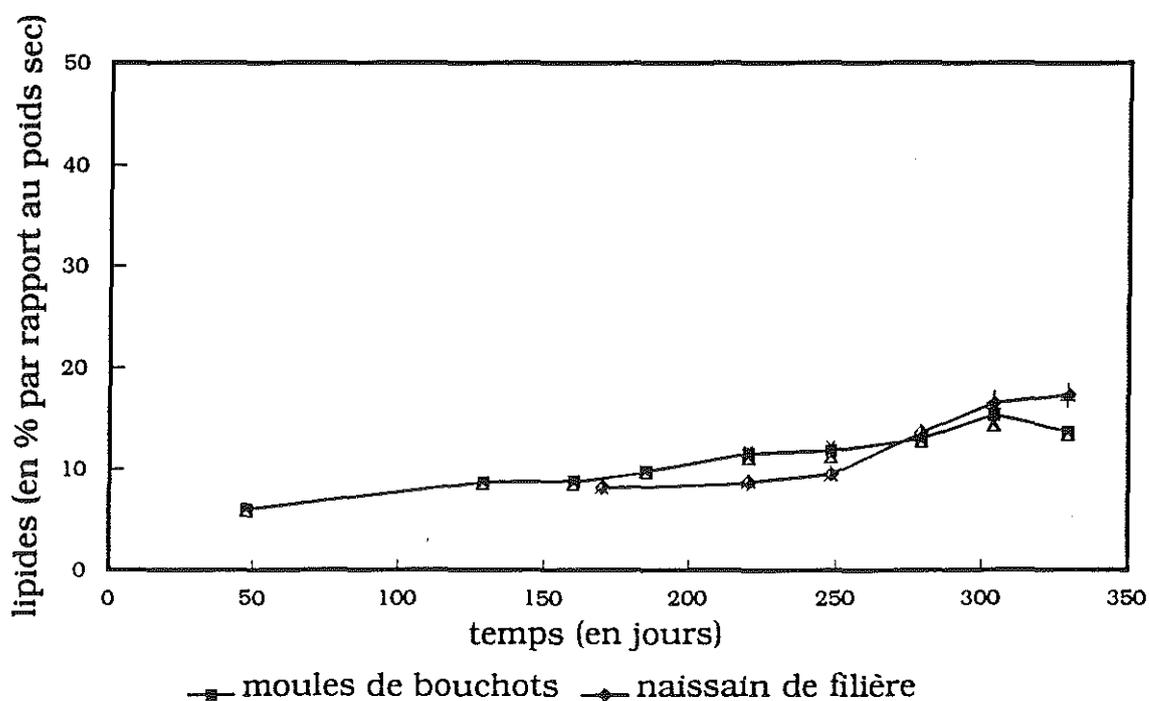


Figure 23 - Evolution du pourcentage en lipides par rapport au poids sec de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole.

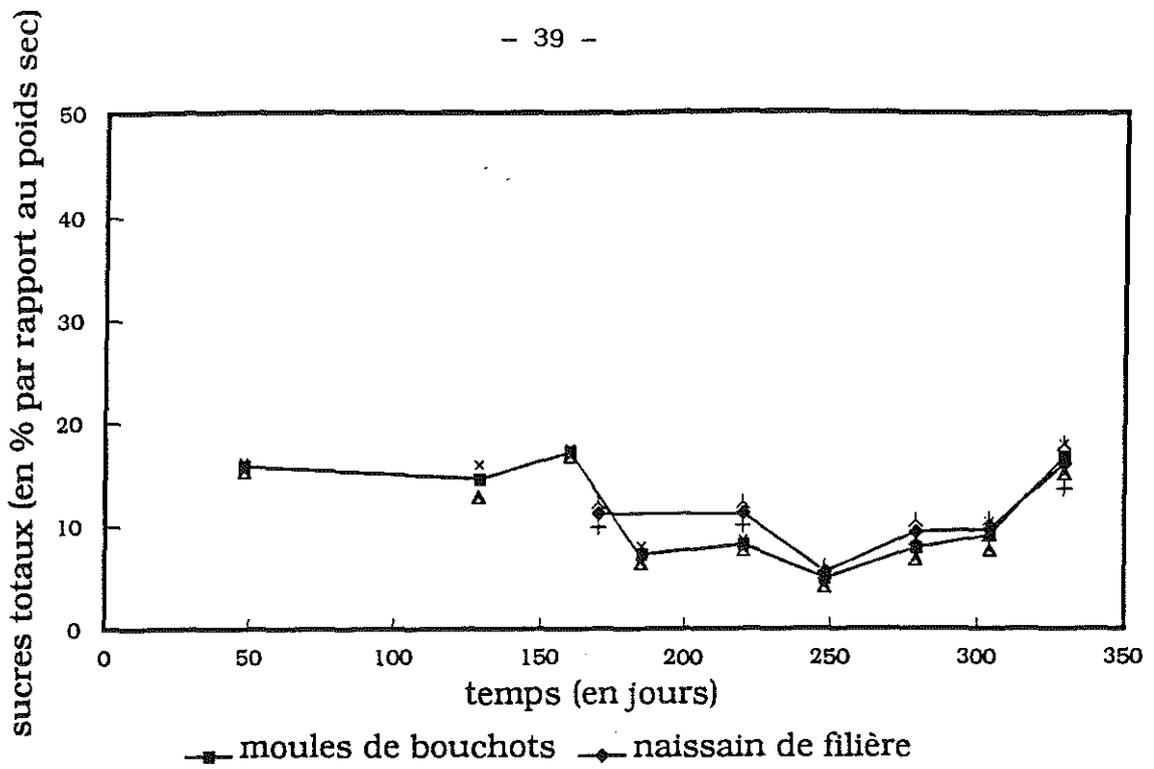


Figure 24 – Evolution du pourcentage en sucres totaux par rapport au poids sec de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole.

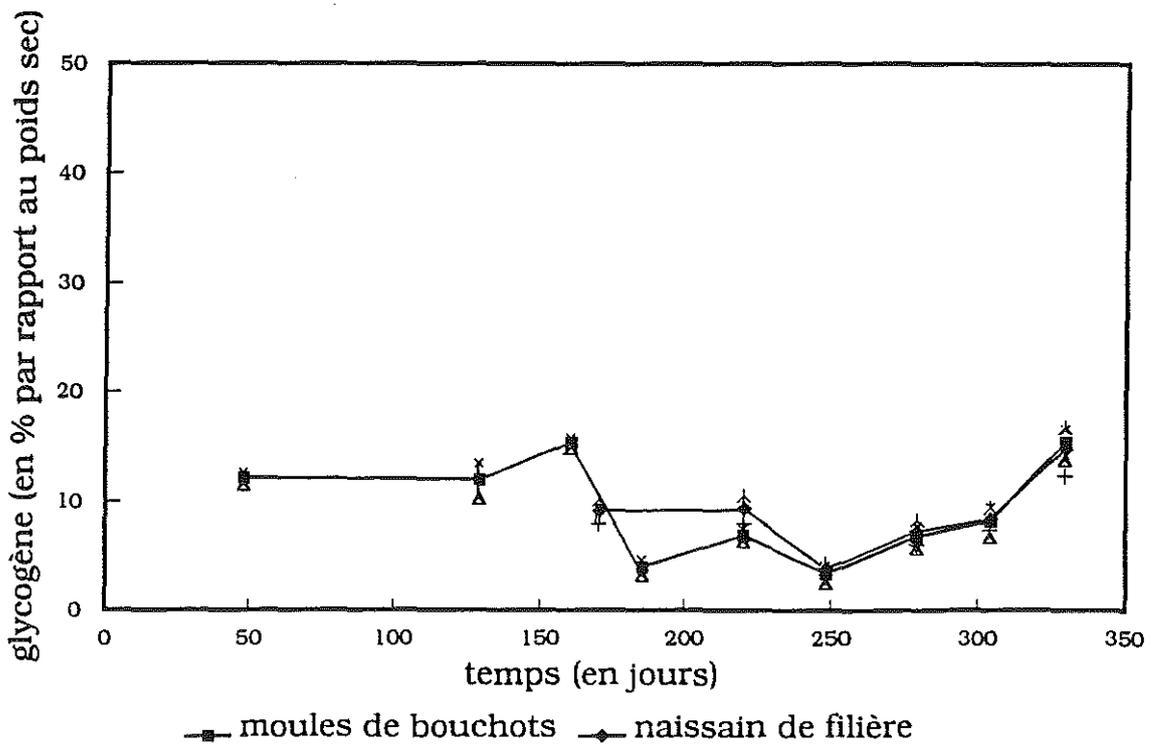


Figure 25 – Evolution du pourcentage en glycogène par rapport au poids sec de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole.

glucidique (figure 26) : de 69 à 92 % pour les moules de bouchots comme pour le naissain de filière.

Toutefois une chute hivernale du glycogène à 55 % des sucres totaux montre des changements dans les divers compartiments glucidiques à cette période.

V. DISCUSSION

5.1. L'hydrologie

5.1.1. *Les variables du milieu*

* Sestons

Les valeurs rencontrées sont assez faibles par rapport à ce qu'a mesuré Boromthanasarat (1984) dans la zone de bouchots de Boyardville mais l'évolution est à peu près similaire, avec des valeurs maximales en automne et hiver lorsque le débit des rivières est élevé. Il faut signaler que la teneur en seston est toujours bien corrélée avec la turbidité (Héral et Razet, 1977) et qu'il existe une stratification nette de ce point de vue, à savoir que la couche près du fond est plus chargée en seston (jusqu'à 7 fois plus quelquefois).

Afin de visualiser la répartition des valeurs, un graphe surface/fond pour la matière organique a été réalisé (figure 27).

On obtient un nuage homogène dans les premières valeurs. Cependant deux valeurs très fortes se détachent :

- une pour la matière organique en surface : 105
- une pour la matière organique en profondeur : 61

Le point n°105 représente la sortie 10 au tour n°5 et le point n°61, la sortie 6 au tour n°1.

Ces deux valeurs ont été obtenues lors d'une forte variabilité journalière. Il pourrait s'agir d'une remise en suspension importante des sédiments par la marée ou les vents au cours de la journée.

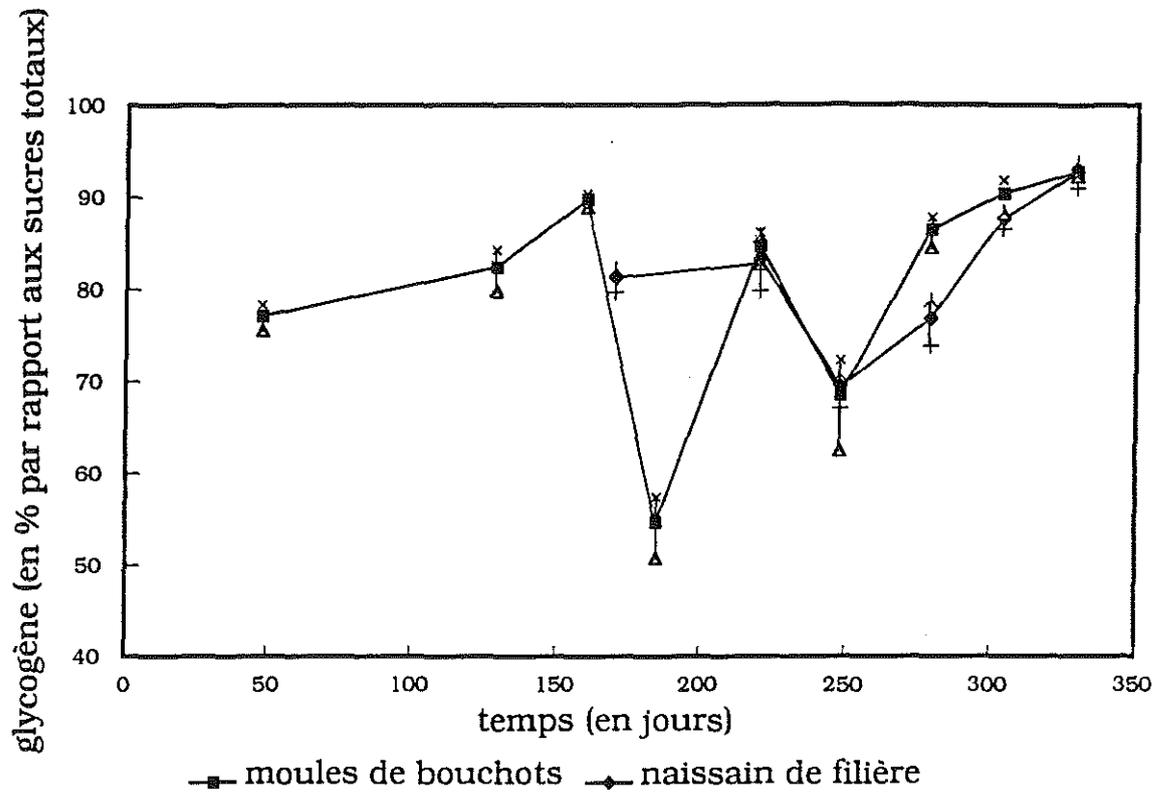


Figure 26 - Evolution du pourcentage en glycogène par rapport aux sucres totaux de moules adultes et de naissain capté sur filières lors d'une période de croissance de 9 mois, sur une filière mytilicole.

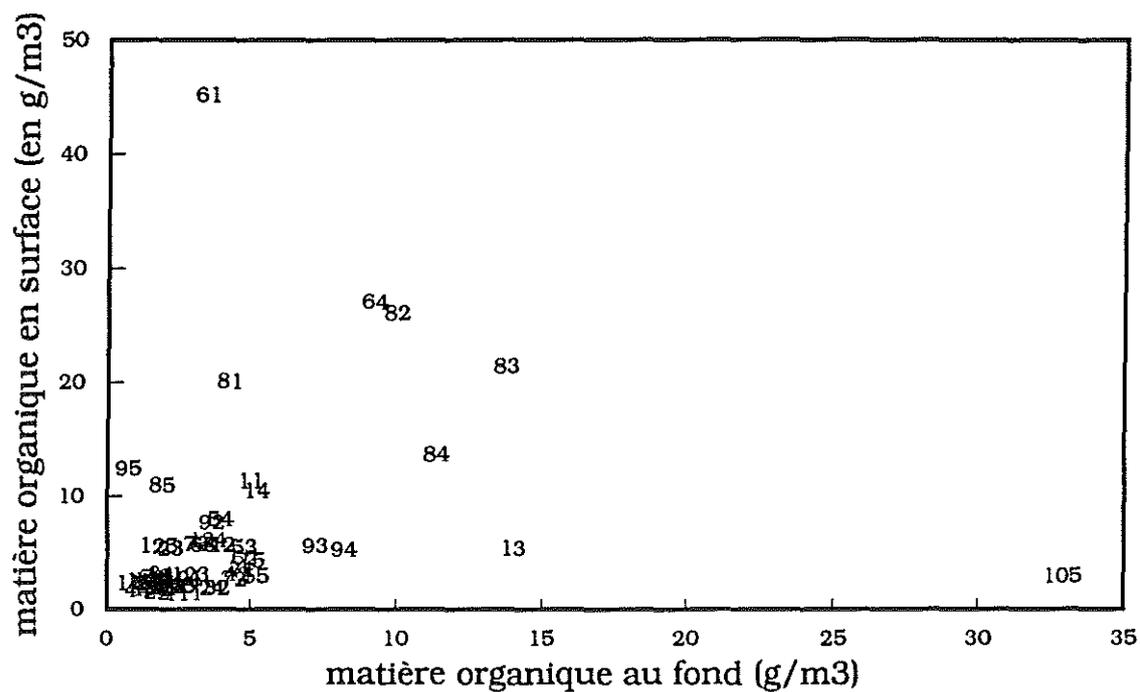


Figure 27 - Visualisation d'une régression effectuée sur la matière organique entre la surface et le fond.

Toutefois lors de la sortie n°10, le coefficient de marée est faible (45) et l'on n'observe pas de variation importante dans le seston minéral, qui permet de visualiser la remise en suspension de la matière particulaire.

De plus, il n'a pas été observé de vents forts ce jour là qui justifieraient une telle variation. En l'absence d'explication logique, cette valeur a été écartée.

A l'opposé, lors de la sortie 6, il y a un fort coefficient de marée : 102, cela pourrait justifier une remise en suspension importante des sédiments organiques. La variabilité journalière est très forte et explicable par les brassages importants provoqués par une marée de forte amplitude.

Cette variabilité journalière est aussi bien observée lors de la sortie 8 (points 81, 82, 83, 84 et 85) avec de fortes quantités en seston organique en fond et en surface, il s'agit également d'un grand coefficient de marée.

La variabilité journalière de ce paramètre peut être expliquée par la remise en suspension de sédiments mais aussi par les mouvements d'eau qui apportent au-dessus de notre point de prélèvement des masses d'eau différentes.

* Sels nutritifs

Sur la figure 28, on observe une grande variabilité caractérisée par un écart-type très fort. A cette sortie et au tour correspondant, une forte concentration (365,68 μ moles/l) est observée, ainsi que lors des heures qui suivent, autour de 150 μ moles/l. Les autres sorties sont aux alentours de 2 à 30 μ moles/l. Ce sont des valeurs ponctuelles et il convient de rechercher des conditions particulières les justifiant.

Sur les autres sites A et B, il y a aussi une augmentation des sels nutritifs jusqu'à 150 μ moles/l environ et ce à une période de basse mer (coefficient normal : 62).

De plus, cette augmentation, notamment de la quantité de nitrates, ne se produit qu'en surface. Les valeurs du fond restent toutefois supérieures à la moyenne.

Sur un histogramme de distribution des valeurs (figure 29), on constate que, la valeur concernée paraît très éloignée par rapport aux autres. L'écart est tel qu'on

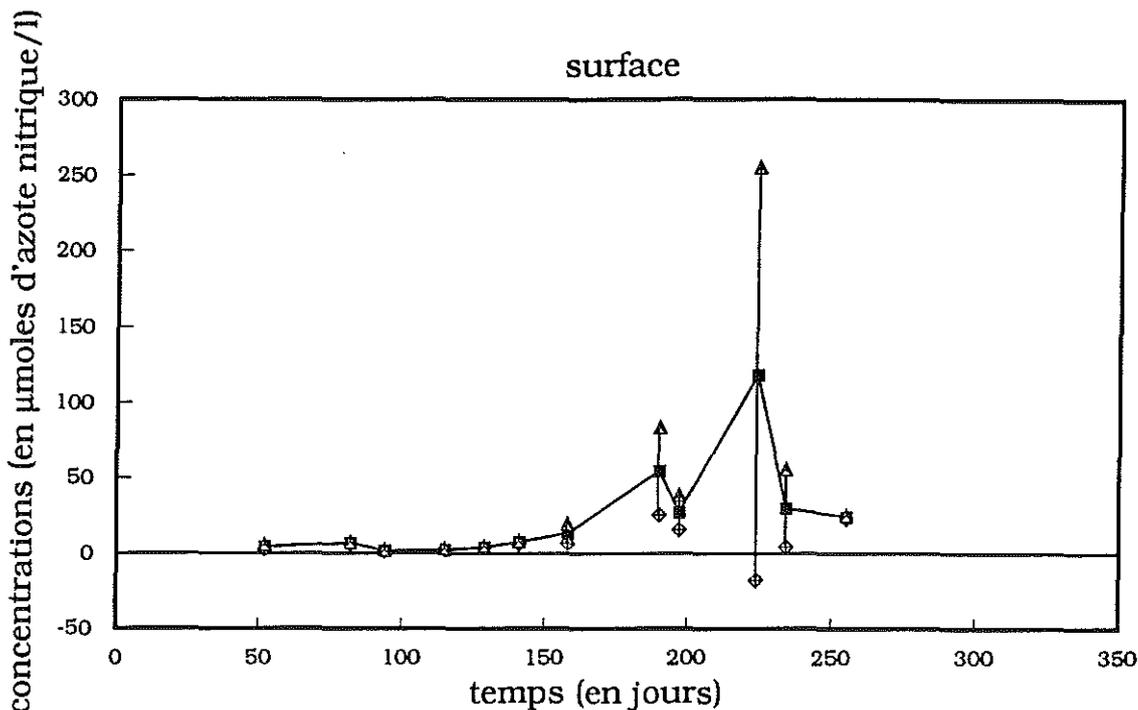


Figure 28 - Evolution temporelle des nitrates + nitrites en surface, exprimée en μ moles d'azote nitrique/l, un écart-type très fort ayant été observé à la sortie n°10.

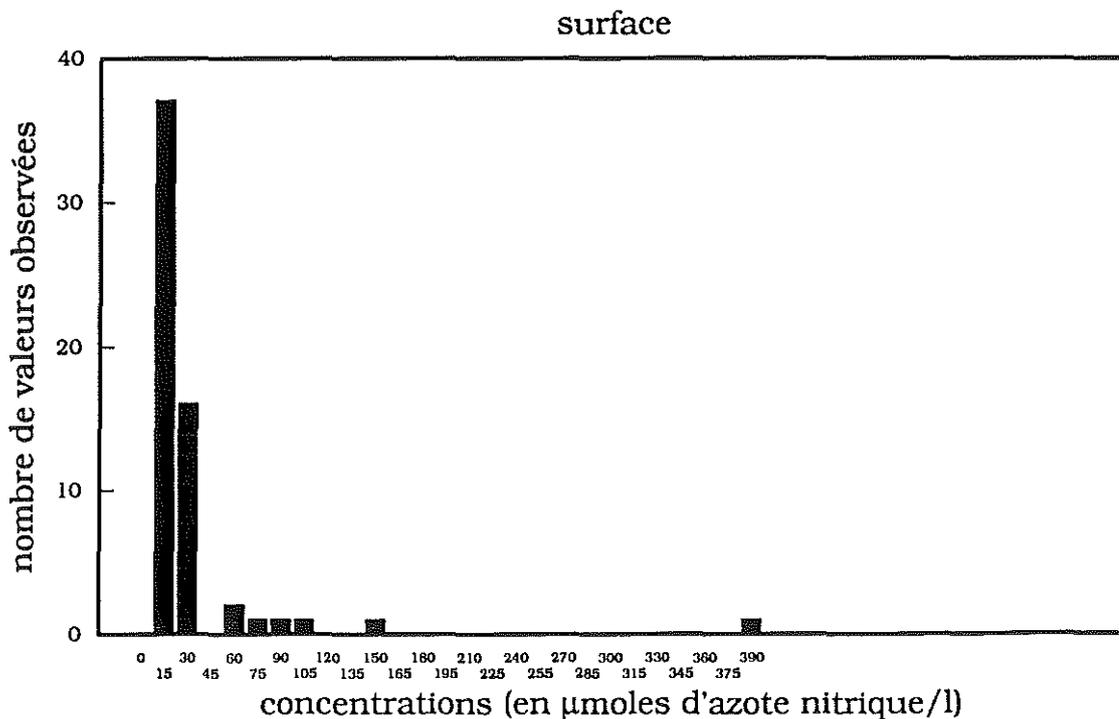


Figure 29 - Histogramme de répartition des valeurs pour les nitrates en surface.

peut penser qu'il s'agit d'une valeur erronée due à l'appareil de mesure par exemple, elle a été écartée. Après avoir refait les calculs, on obtient la courbe de la figure 30 où l'on observe toujours une variabilité assez grande en surface, la même variabilité ayant été observée au fond (figure 10).

Par comparaison avec d'autres sites, comme la baie de Marennes-Oléron, il apparaît qu'une telle variabilité en surface n'est possible que par un apport d'eau douce d'origine continentale, contenant beaucoup de nitrates suite à un lessivage brutal des terrains par de fortes précipitations. En effet, l'eau douce reste en surface du fait de sa faible densité, ce qui explique les différences entre la surface et le fond.

La localisation des filières, à l'embouchure de la Sèvre Niortaise peut expliquer le fait qu'une augmentation brutale de nitrates en surface soit constatée à leur proximité. En effet, en période de basse mer, l'eau douce s'écoule au large. Des précipitations sont observées en fin de la semaine qui précède la sortie du bassin, lors des passages perturbés des 8 et 9 janvier.

Cette valeur est donc finalement conservée car elle peut être due à un apport exceptionnel de la Sèvre Niortaise. De plus, sur le site, on observe une baisse de salinité en surface au cours de la journée et en particulier à l'heure de basse mer, de 33 à 30 ‰, l'apport d'eau douce d'origine continentale semble donc confirmée.

5.1.2. Corrélations entre surface et fond

Afin de visualiser les relations entre la surface et le fond, des régressions surface/fond ont été calculées.

*** Sestons**

La qualité de la corrélation est visualisée par la qualité du nuage de points : resserré et homogène ou bien totalement dispersé. En effet, plus les points sont alignés, plus la corrélation est bonne et plus la relation entre les variables est évidente.

Pour la matière organique, on calcule l'équation $Y = a X + b$ de la droite représentant la quantité de matière organique en surface en fonction de celle au fond, où :

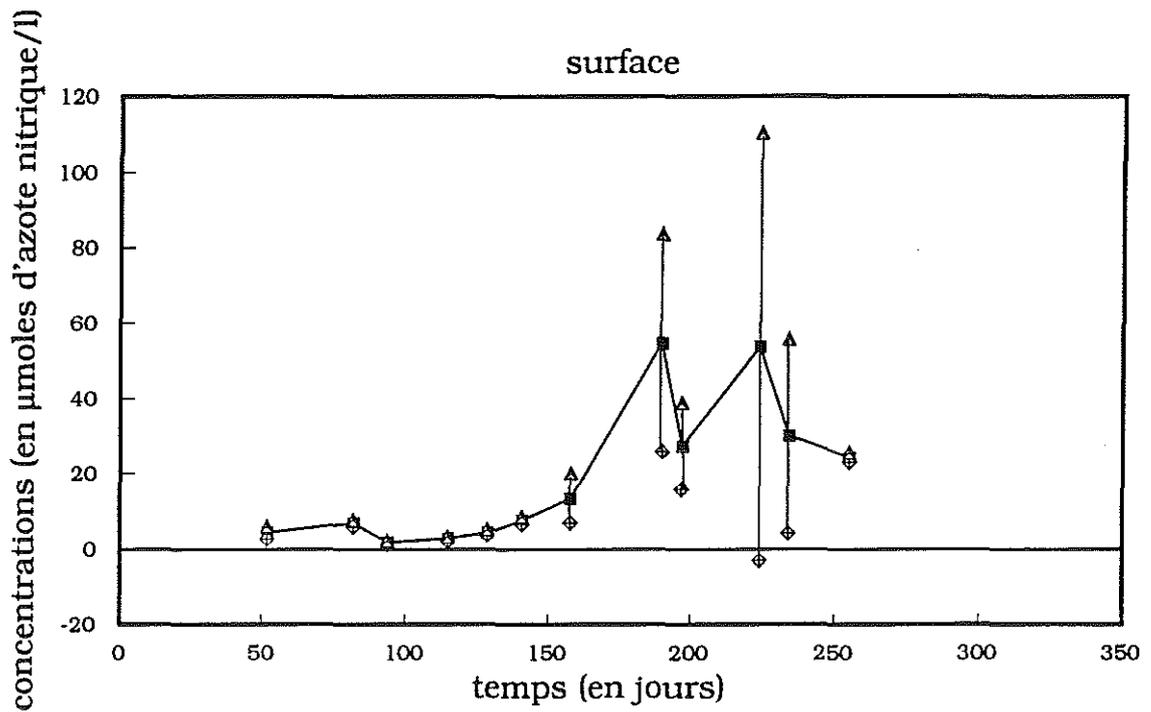


Figure 30 - Evolution temporelle des nitrates + nitrites en surface, la valeur aberrante ayant été éliminée, exprimée en μ moles d'azote nitrique/l.

Y : représente la quantité au fond,
X : représente la quantité en surface,
a : le coefficient directeur de la droite,
b : l'ordonnée à l'origine.

Ce coefficient de corrélation est calculé : proche de 1, il indique une très bonne correspondance entre les points de la régression : ils sont alignés sur une droite.

De même, si la pente de la droite est proche de 1 alors Y est environ = X et il n'y a pas de différence entre la surface et le fond.

Si $Y > X$, alors la surface est plus chargée en matière organique que le fond.

Si $Y < X$, c'est le fond qui contient plus de sestons organiques.

Dans le cas présent, le coefficient de corrélation est $R = 0,2513$, après comparaison avec une table de référence, au seuil de signification 95 %, on observe que la relation entre la surface et le fond est significative : il y a bien corrélation.

Le coefficient a est de + 0,405 donc on en déduit que le fond contient plus de matière organique que la surface. Ce point est à relier au phénomène de sédimentation des particules. Du fait du brassage de l'eau par les marées et les vents, il peut également y avoir remise en suspension des particules et remontée en surface de ces sédiments.

De plus, on peut supposer qu'il y a des apports hivernaux par la Sèvre Niortaise qui charrie des alluvions quand il y a une augmentation de son débit à cause de fortes précipitations.

Par la même méthode, on s'aperçoit qu'il existe une relation significative entre le seston minéral et le seston organique, et ce en surface comme en fond. Le seston minéral reste toujours supérieur au seston organique.

* Chlorophylles et phéopigments

La régression sur les chlorophylles entre surface et fond est très significative, $R = 0,63$ proche de 1. Les quantités en surface et en fond évoluent donc dans le

même sens tout au long de l'année. On constate que le fond est légèrement plus chargé que la surface : $a = + 0,70$, ceci est probablement dû à une sédimentation de la biomasse phytoplanctonique.

Il en est de même pour les phéopigments avec une corrélation meilleure : $R = 0,83$. Les fluctuations en surface et fond sont donc très proches.

La chlorophylle a, considérée comme un bon indicateur de la biomasse phytoplanctonique montre des variations importantes de ses teneurs, toutefois, celles-ci restent très inférieures à celles rencontrées dans le bassin de Marennes-Oléron (Boromthararat, 1984).

Les teneurs en phéopigments reflètent l'état de dégradation du matériel phytoplanctonique (Parsons et al., 1984). Dans un bassin conchylicole où les stocks des différentes espèces en élevage (huîtres et moules) ainsi que les espèces sauvages (crépidules et coques) sont très importants, la dégradation des pigments peut refléter le résultat du broutage des populations phytoplanctoniques par ces organismes filtreurs. Le vieillissement et la dégénérescence naturelle des filtreurs est aussi à prendre en compte.

* Sels nutritifs

Après observation des valeurs, on constate qu'il y a une très bonne corrélation entre la surface et le fond. On en déduit que la matière dissoute est donc répartie de façon homogène dans la colonne d'eau.

5.1.3. Corrélations entre la matière organique et les chlorophylles + phéopigments

Les régressions effectuées montrent des coefficients de corrélation très mauvais aussi bien en surface ($R = 0,0359$) qu'au fond ($R = 0,07$). Il n'existe donc pas au seuil de signification 95 % de relation significative entre la quantité de matière organique et la quantité de chlorophylles + phéopigments.

L'essentiel des particules organiques proviendrait donc des remises en suspension de la matière détritique. Cela semble confirmé par la présence, lors des pics de matière organique, pour de forts coefficients de marée de grandes quantités de matière minérale.

Il faut remarquer que le dosage des protides, glucides et lipides particuliers n'a pas été exploité (trop peu de résultats à l'heure actuelle). Ils pourraient donc constituer une partie non négligeable de la nourriture potentielle.

5.1.4. Chlorophylles et sels nutritifs

Par observation des figures 9, 10, 11, 12 et 13, on s'aperçoit que les deux pics extrêmes des figures 12 et 13 pour les concentrations en chlorophylles ne correspondent pas à la présence de sels nutritifs dans le milieu. En l'absence de données mesurant les flux de sels nutritifs et ceux des chlorophylles, on ne peut pas établir de concordance entre ces deux paramètres. Il est donc actuellement impossible de mettre en relation le développement du phytoplancton (évalué grâce aux chlorophylles) avec les fluctuations des sels nutritifs.

5.2. Les moules

Le faible taux de mortalité constaté sur chaque panier au long de l'année (compris entre 10 et 20 %) a montré que le système d'étude est satisfaisant. De plus, l'isolement relatif de la filière a permis une bonne croissance des moules (doublage du poids sec, multiplication par 1,4 de la taille en 9 mois) et ce durant les mois hivernaux où la croissance est considérablement ralentie.

On obtient les mêmes résultats que Boromthanasat (1984) qui a montré qu'il existe des différences notables entre les taux de croissance des moules cultivées dans différentes régions et selon différents modes de cultures, particulièrement les taux de croissance atteints par les moules cultivées en suspendu par rapport à celles cultivées sur bouchots (figure 31).

De plus la cohérence des mesures est vérifiée par des écart-types faibles exprimant le peu de variabilité entre les individus (il ne semble pas y avoir de concurrence spatiale importante dans les paniers).

Toutefois, si l'on observe la somme des constituants biochimiques en pourcentage et que l'on compare celle-ci au poids sec on s'aperçoit qu'il n'y a que 65 % du poids sec qui est représenté par la biochimie. Cela ne peut être imputé à des erreurs de manipulations mais tout simplement au fait que la méthode de dosage des protéines de Lowry et al. (1951), ne permet pas une quantification complète des protéines, il ne s'agit pas d'un dosage de l'azote total (Kjedhal).

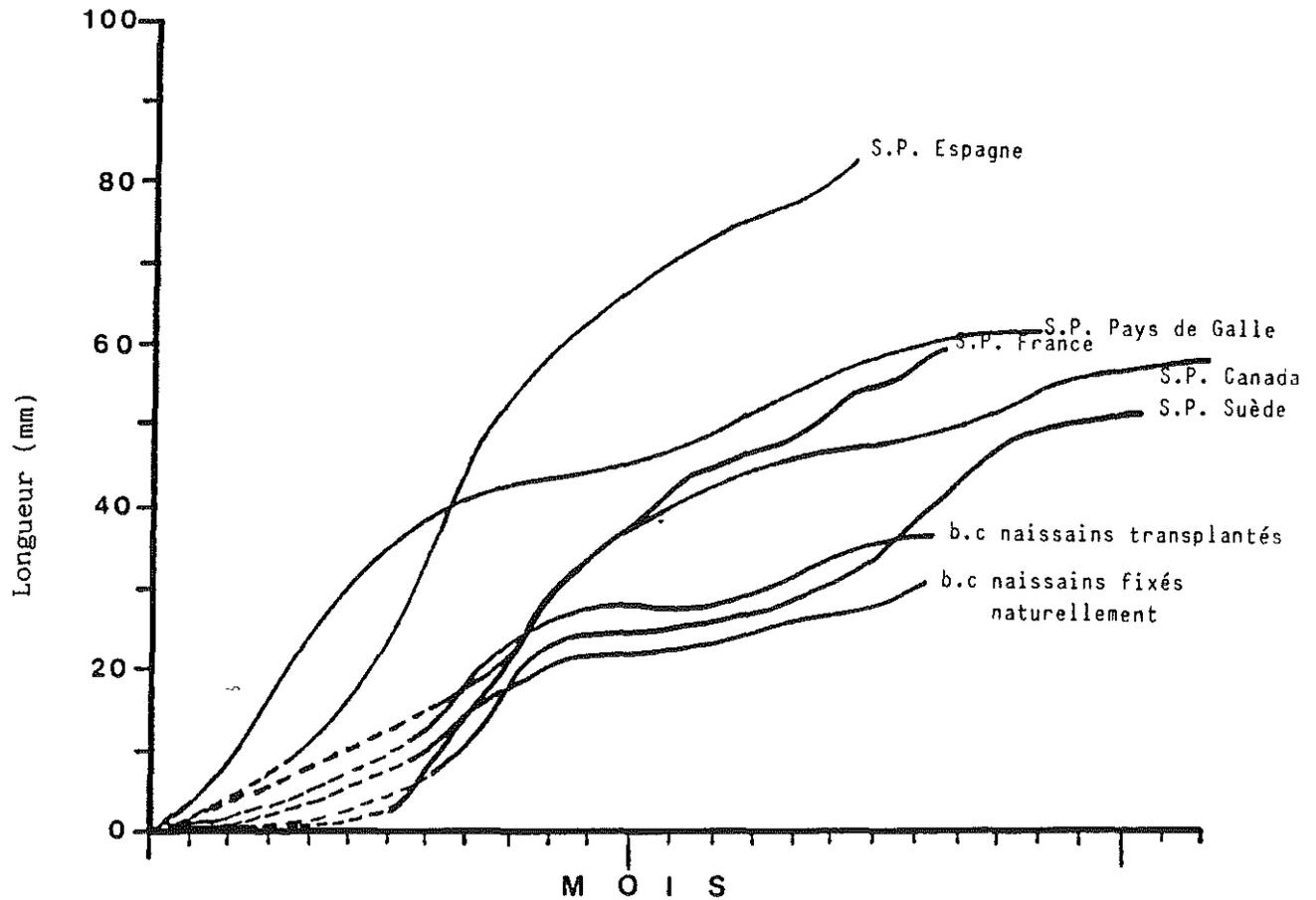


Figure 31 - Comparaison de la croissance de *Mytilus edulis* dans différents secteurs de culture.

S.P. : Culture en suspendu ; b.c : culture sur bouchots. Données de Andren (1968) (Espagne), Dare et Davies (1975) (Pays de Galle), Dewarumez et Blond (1982) (France), Freeman (1974) (Canada), Loo et Rosenberg (1983) (Suède).

La détermination des protéines par cette méthode s'appuie sur l'analyse des acides aminés tyrosines et tryptophanes en solution ou inclus dans des chaînes protéiques. Elle ne dose pas les protéines de structure (Bondu, 1989).

L'observation du parasitisme révèle toujours, autant au niveau interne (*Mytilicola* essentiellement), que pour les épibiontes externes, une infestation supérieure des moules de bouchots par rapport à celles de filière. Il se pourrait donc que ce soit l'apport de moules de bouchots, naturellement très parasitées qui ait contaminé les filières.

Les principaux phénomènes observés sont :

- l'amaigrissement hivernal qui paraît principalement causé par le manque de nourriture planctonique et les températures faibles (à l'origine de l'inhibition du développement de nourriture potentielle).
- la croissance printanière dont l'origine semble être le bloom phytoplanctonique de février et mars 1992.

De plus la perte en poids de début avril semble être due à une ponte de gamètes provoquée par le réchauffement des eaux (un simple choc thermique peut suffire à la déclencher). Cette hypothèse semble confirmée par les faits suivants :

- la perte de poids, de protéines et lipides qui est caractéristique du matériel de reproduction.
- l'état de maturité, constaté lors des expériences : émission des gamètes dans les bacs d'entreposage.

On peut dire que la baisse en poids sec correspond à la quantité minimale de gamètes libérées car lors de la ponte, il y a des phénomènes de reconstitution des réserves glycogéno-lipidiques ainsi que la production de protéines et lipides (la croissance n'est pas totalement stoppée).

Cette reconstitution rapide des stocks en glycogène et en lipides n'est possible que par la présence de grandes quantités de nourriture potentielle. Il pourrait s'agir de phytoplancton mais les mesures de chlorophylles nous indiquant son évolution ne sont pas complètes.

Il y a sûrement des transferts de matières entre les différents compartiments biochimiques. En effet, même en hiver, le pourcentage de lipides continue à augmenter régulièrement, tandis qu'il y a stagnation du taux de protéines, avec une baisse au niveau des sucres, baisse plus spectaculaire encore pour le glycogène. Ces transferts doivent s'effectuer par le biais des phénomènes de glycogénolyse et de lipogénèse en hiver.

Au printemps, la lipogénèse paraît associée à une glycogénogénèse (production de glycogène) très importante. Ces phénomènes d'accumulation puis d'utilisation des réserves permettent donc la survie de l'animal lorsqu'il y a des conditions défavorables (peu de nourriture).

Les régressions effectuées pour les moules comme le naissain :

- taille = a x poids coquille + b
- protéines = a x poids sec + b
- lipides = a x poids sec + b
- glycogène = a x sucres + b

ont montré qu'il existe toujours une relation significative (au niveau de confiance 95 %) entre les variables mesurées.

De plus, dans l'ensemble, le poids sec est bien représentatif de la croissance, les protéines y occupent toujours une place à peu près constante, les lipides et glucides pouvant effectuer des transferts de matière entre eux.

5.3. Les moules et les paramètres du milieu

D'après Héral (1985), il apparaît que les substances organiques dissoutes jouent un rôle important pouvant apporter jusqu'à la moitié de l'énergie nécessaire pour le métabolisme des mollusque. Le matériel particulaire est filtré par les mollusques, en fonction de sa taille, l'optimum de filtration variant selon les espèces.

De ce fait, on peut expliquer les problèmes rencontrés pour corréler la croissance avec les paramètres du milieu. Il apparaît que ce sont les chlorophylles qui décrivent le mieux la croissance (et ce compte-tenu des résultats manquant pour l'exploitation des données).

On a vu que la croissance résulte de l'absorption de nourriture particulière (principalement de phytoplancton) mais aussi de l'absorption de substances dissoutes. Ces substances dissoutes n'ayant pas été dosées actuellement (les échantillons prélevés étant conservés pour une étude ultérieure) en raison du travail et du coût de l'opération, il manque une partie importante des résultats.

De ce fait, il est actuellement très difficile de se prononcer sur la part respective que représentent les différents facteurs nutritifs qui influencent le développement de *Mytilus edulis* sur filière.

5.4. Comparaison moules-naissain

On a observé que le naissain après seulement 3 mois de pousse (de janvier à mars) a rattrapé en taille et en poids sec les moules de bouchots alors que son poids de coquille reste toujours inférieur. Proportionnellement, le naissain possède donc moins de poids de coquille par rapport au poids sec que les moules.

Le naissain a effectué une croissance plus rapide, et la part de substances de structure réservée à la construction de la coquille est moins importante que chez les moules traditionnelles. En effet, les moules de filière, n'étant pas soumises aux découverts successifs que subissent les moules de bouchots lors des marées, ne possèdent pas une carapace épaisse qui permet de résister aux agressions atmosphériques (soleil, pluies, vents...) et marines (vagues...). Ceci leur donne un aspect lisse et régulier que n'ont pas les moules de bouchots (trapues et plus irrégulières.).

Ce phénomène a été confirmé, lors des expériences, par l'observation de la coquille des moules de bouchots. Celle-ci révèle une partie épaisse, dure, irrégulière, pendant l'élevage sur bouchots, puis lors de la mise sur filières, le développement d'une partie bien plus lisse et "propre". La différence notable de croissance entre les moules cultivées en suspension et celles cultivées sur bouchots puis sur filière peut être expliquée aussi par le fait que les moules cultivées en suspendu sont continuellement immergées et ont donc la possibilité de se nourrir plus ou moins continuellement, alors que les moules cultivées sur bouchots doivent s'adapter à l'émersion due à la marée et à l'impossibilité de s'alimenter pendant cette période. De nombreux auteurs ont signalé l'influence de l'émersion sur la croissance des moules (Coulthard, 1929 ; Warren, 1936 ; Baird et Drinnan, 1956 ; Baird, 1966 ; Rodhouse et al., 1984). Ils mettent en évidence

une nette corrélation négative entre la croissance de "*Mytilus edulis*" et la durée de la période d'émersion (baisse de la croissance en fonction de l'accroissement du temps d'émersion).

VI. CONCLUSION

L'état actuel de nos connaissances concernant les performances de croissance et les relations trophiques de *Mytilus edulis* avec le milieu sur les filières du Pertuis Breton nous conduit aux conclusions suivantes :

- les performances de croissance sont bonnes, meilleures que sur les cultures traditionnelles (faible mortalité, rapide prise de taille et de poids),
- le naissain issu de filières pousse bien plus vite que les moules cultivées tout d'abord sur bouchots, au point qu'il a rattrapé la taille et le poids sec de moules pourtant de 1 an plus âgées,
- la composition des moules montre une évolution des constituants biochimiques, et en particulier, des transferts entre le glycogène et les lipides. Ceux-ci semblent concomitants de la quantité de nourriture présente dans le milieu.

Cette relation entre *Mytilus edulis* et le milieu ne pourra être complétée que lorsque toutes les données hydrobiologiques auront été exploitées, et en particulier, la matière organique dissoute qui semble représenter une part importante de la nourriture potentielle.

Cette étude a montré que les conditions de croissance de *Mytilus edulis* sont bonnes, sans que l'on puisse savoir quelle est la part entre l'emploi de cette nouvelle technique de filières et la qualité nutritionnelle du milieu.

Afin de trancher la question, il faudrait, entre autres mesures, faire une comparaison avec les paramètres hydrobiologiques disponibles sur le secteur de bouchots.

Quant à l'impact des filières au sein du Pertuis Breton, seule l'étude des flux au sein de l'écosystème permettra d'effectuer une modélisation de son fonctionnement. Un tel outil aura le mérite non seulement d'améliorer la connaissance du fonctionnement de cet écosystème, mais il autorisera également la mise en place de prévisions de productions, dans les divers secteurs

conchylicoles, en fonction de choix d'aménagements. Cette modélisation est actuellement en cours de réalisation.

VII. BIBLIOGRAPHIE

- BAIRD R.H. and DRINNAN R.E., 1956. The ratio of shell to meat in *Mytilus* as a function of tidal exposure to air. *J. Cons. Int. Explor. Mer* I 22 : 329-336.
- BAIRD R.H., 1966. Factors affecting the growth and condition of mussels (*Mytilus edulis* L.). *Fish. Invest. Lond.* (Ser. 2), 25 : 1-33.
- BLIGHT E.G. and DYER W.F., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 : 911-917.
- BOMPAIS X., DARDIGNAC-CORBEIL M.J., PICLET G., 1991. Les filières pour l'élevage des moules. Guide pratique IFREMER : 1 - 249 p.
- BONDU C., 1989. Etude de la relation entre la composition biochimique de l'hémolymphe et les réserves énergétiques chez *Crassostrea gigas* en fonction de la température. Rapport de stage : 40 p.
- BOROMTHANARAT S., 1984. Les bouchots à *Mytilus edulis* linnaeus dans l'écosystème estuarien du bassin de Marennes-Oléron (France). Aspects biologiques et bioénergétiques. Thèse université d'Aix-Marseille II : 142 p.
- COULTHARD H.S., 1929. Growth of sea mussels. *Contr. Canadian Biol.* 4 : 121-136.
- DARDIGNAC-CORBEIL M.J., 1975. La culture des moules sur bouchots. *Science et Pêche* n° 244, 10 p.
- DARDIGNAC-CORBEIL M.J., 1989. La mytiliculture traditionnelle. *Aquaculture*, vol. 1 : 287-345.
- DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBECS P.A. and SMITH F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28 : 350-356.

- HERAL M., 1985. Evaluation of carrying capacity of molluscan shellfish ecosystems. In *Aquaculture : Shellfish culture development and management*. La Rochelle, March 1985, edit. ; IFREMER : 297-318.
- HERAL M. et RAZET D., 1977. Premières approches de la composition de la nourriture organique particulière de *Crassostrea gigas* dans les eaux du bassin de Marennes-Oléron. *CIEM*, C.M. 1977/K : 21, 12 p.
- KORRINGA P., 1976. Economic aspects of mussel farming. Conference technique de la FAO sur l'Aquaculture, Kyoto, Japon. Fir : Ag/Conf/76/R.5, 15 p.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.I., FARRAND A.L. and RANDALL R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275.
- MARSH J.B. and WEINSTEIN D.B., 1966. Single charring method for determination of lipids. *J. Lipids Research*, Vol 7.
- MASON J., 1976. Cultivation, p. 385-410. In B.L. Bayne (ed.). *Marine mussels : their ecology and physiology*. IBP 10. Cambridge University Press, Cambridge.
- PARSONS T.R., TAKAHASHI M. and HARGRAVE B., 1984. *Biological oceanographic processes*. 3rd ed. Pergamon Press, Oxford, 330 p.
- RODHOUSE P.G., RODEN C.M., BARNELL G.M., HENSEY M.P., McMAHON T., OHWAY B. and RYAN T.H., 1984. Food resource, gametogenesis and growth of *Mytilus edulis* on the shore and in suspended culture : killary harbour, Ireland. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 64 : 513-529.
- VAHL O., 1972. Efficiency of particle retention in *Mytilus edulis* L. of different sizes. *Ophelia* 12 : 45-52.
- WARREN A.E., 1936. An ecological study of the sea mussel *Mytilus edulis* L.. *J. Biol. Board Can.*, 2 : 89-94.

ANNEXE 1

Illustrations photographiques.

Crédits photographiques :

- BARNABE (1989) : photos n° 1, 5, 6.
- BOMPAIS et al. (1991) : photos n° 2, 3, 4.



Photo n°1 - Principe de la culture sur bouchots.

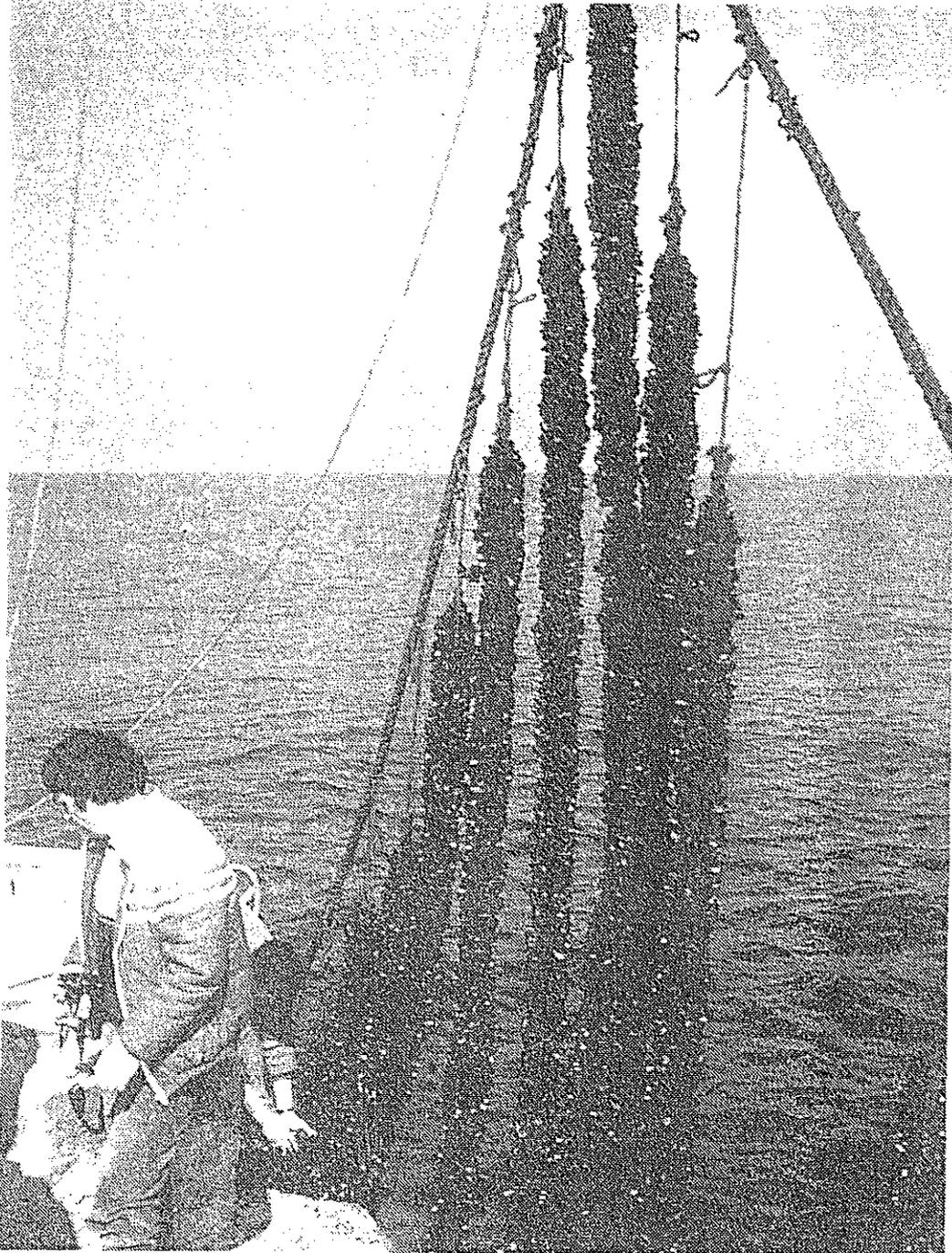


Photo n°2 - Filière flottante du Pertuis Breton.

Les exploitants contrôlent une suspension. La filière, longue de 100 m, est couverte de jeunes moules.

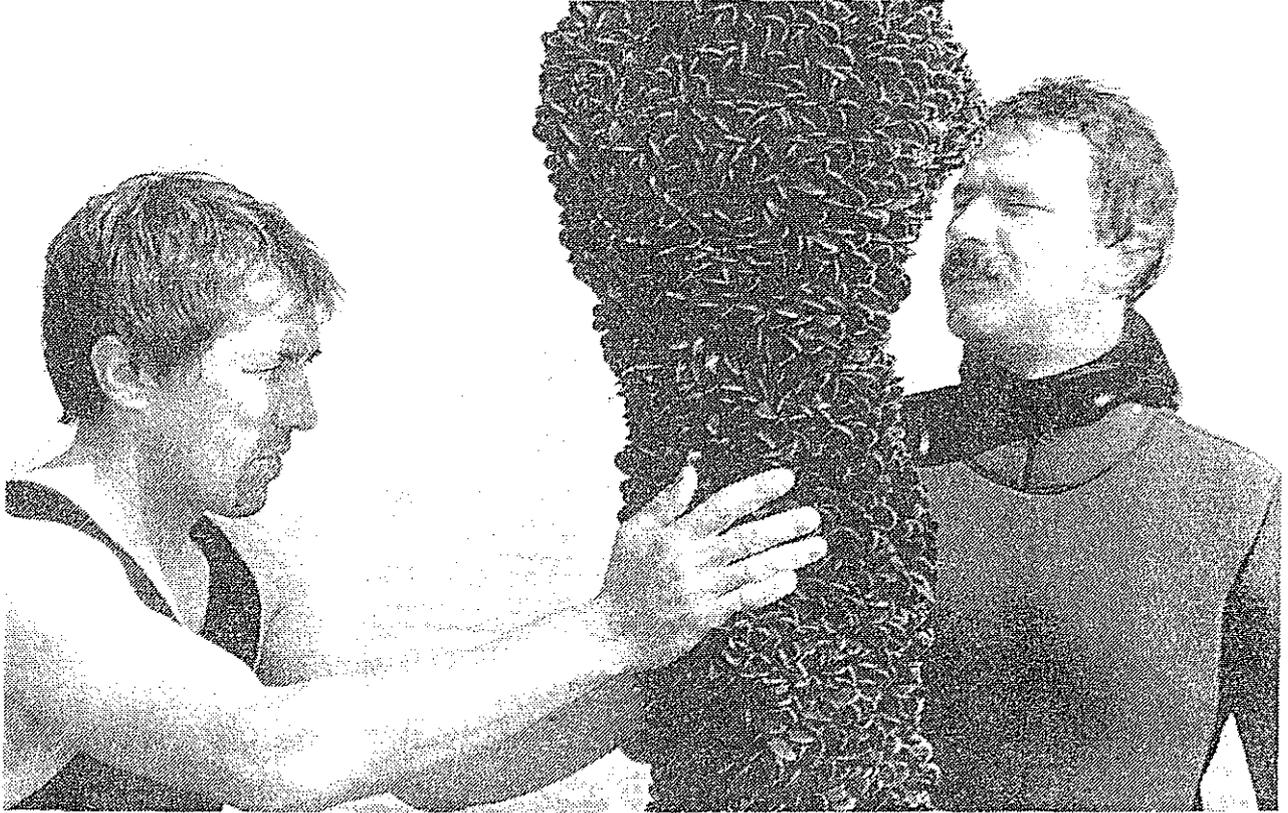


Photo n°3 - Filière ramenée à la surface pour contrôle.

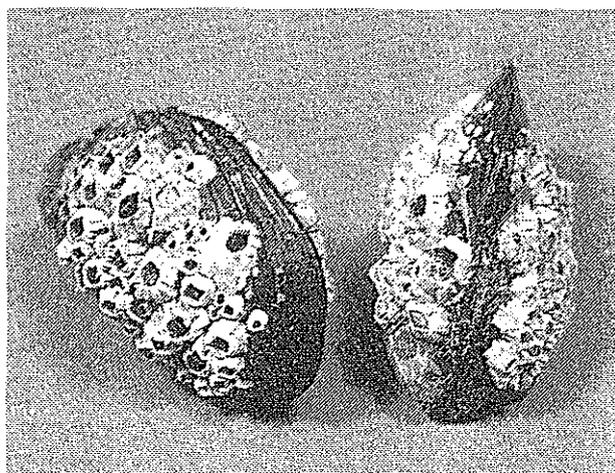


photo C. Marie

Photo n°4 – Un compétiteur : les balanes, elles peuvent gâcher l'aspect des moules.

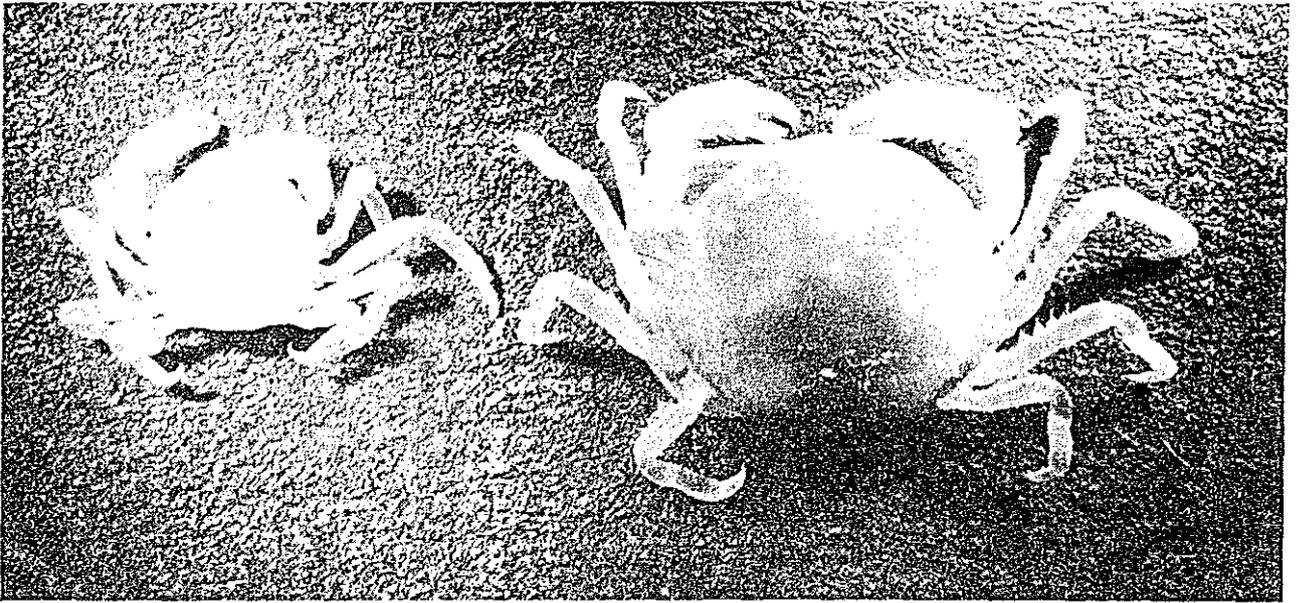


Photo n°5 - Petits crabes : Pinnothères.

Ils se logent dans les moules et sont peu appréciés du consommateur ! (à gauche un mâle ; à droite une femelle).

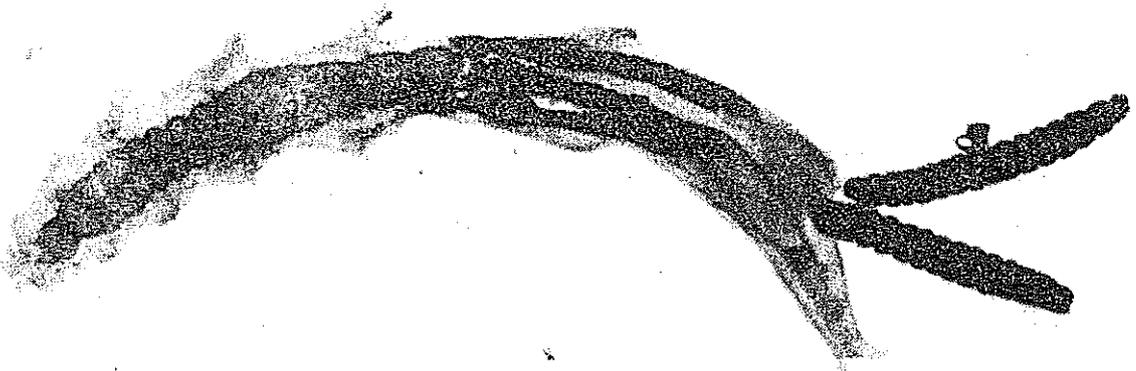


Photo n°6 - *Mytilicola intestinalis* (Femelle avec sacs ovigères).

ANNEXE 2

Dosage de la chlorophylle a et de ses phéopigments

I. Principe

La chlorophylle a et ses phéopigments ont la propriété de réémettre une radiation rouge (680 nm) lorsqu'ils sont excités par une lumière bleue (420 nm). L'intensité de la radiation réémise est proportionnelle à la concentration en pigments photosynthétiques.

Cette propriété d'émission fluorescente permet donc de réaliser le dosage de ces pigments par fluorimétrie. La méthode consiste à mesurer la fluorescence avant (Fa) et après (Fb) acidification d'un extrait acétonique de pigments, sur un fluorimètre à filtre TURNER A112. La diminution de la fluorescence observée, due à l'acidification, est en relation avec le pourcentage de chlorophylle a par rapport à la somme chlorophylle a + phéopigments a ; l'acidification entraînant la dégradation de la chlorophylle en phéopigments.

II. Echantillonnage et réactifs

2.1. Echantillonnage

L'échantillonnage est aussitôt réalisé après le prélèvement, par filtration sur filtre Whatman GFC diamètre 25 mm, et préfiltration à 250 μ m. Le filtre est conservé dans un tube en verre bouché, à l'abri de la lumière et à -18°C. Le dosage doit être cependant effectué dans un délai maximum de 2 mois.

2.2. Réactifs

2.2.1. Acétone à 90 %

L'extraction des pigments photosynthétiques se fait dans de l'acétone à 90 %. La quantité préparée ne doit pas être importante compte tenu de l'évaporation de l'acétone.

2.2.2. Acide chlorhydrique à 1M

Les solutions concentrées du commerce doivent être diluées 12 fois, soit 8,3 cm³ d'HCl pour 100 cm³ de solution.

III. Mode opératoire

3.1. Extraction

Dans le tube contenant le filtre, introduire 5 cm³ d'acétone à 90 % et broyer complètement le filtre avec une spatule sur un agitateur de type vortex. On obtient un extrait acétonique après 4 heures d'extraction à +4°C pour éviter l'évaporation.

3.2. Lecture des fluorescences

A partir de l'extrait obtenu ci-dessus, réaliser les opérations suivantes :

- Centrifugation du tube à 3 000 tr/minute pendant 10 minutes,
- Transvaser le surnageant dans un tube à hémolyse propre,
- Lire la fluorescence Fa, en intégrant si nécessaire des filtres dont on connaît le pouvoir absorbant afin de ne pas saturer l'appareil,
- Ajouter 50 µl d'HCl à 1M et agiter,
- Lire a nouveau la fluorescence (Fb).

IV. Etalonnage et calculs

Un étalonnage de l'appareil est nécessaire et il se fait par dosage spectrophotométrique d'une solution. On en tire les valeurs des constantes F et r permettant de connaître la concentration en chlorophylle a et phéopigments a, selon les équations suivantes :

$$C \text{ chl.a} = \{(F.r)/(r - 1)\}(F_a - F_b) \times (V_a/V_f) \text{ en } \mu\text{g/cm}^3 \text{ d'eau de mer.}$$

$$C \text{ phéo. a} = \{(F.r)/(r - 1)\}(r.F_b - F_a) \times (V_a/V_f) \text{ en } \mu\text{g/cm}^3 \text{ d'eau de mer.}$$

Avec : Va = Volume d'acétone en cm³ utilisée pour l'extraction,

Vf = Volume d'eau filtrée en cm³.

4.1 Exemple d'étalonnage du fluorimètre

L'étalonnage du fluorimètre en vue de la détermination de la teneur en pigments chlorophylliens se fait par spectrophotométrie.

Pour ce faire, il est nécessaire de réaliser une solution acétonique de chlorophylle a par filtration d'une quantité d'eau telle que l'absorbance à 665 nm, après broyage du filtre dans 20 cm³ d'acétone à 90 % et centrifugation à 3 000 tours/minute pendant 10 minutes, soit de l'ordre de 0,300 à 0,400 pour un trajet optique de 5 cm.

Il est alors possible de connaître les concentrations en chlorophylle a et phéopigments a, par l'intermédiaire de la relation de Lorenzen. On a ainsi :

$$C \text{ chl.a} = 26,7/l \{(A665a - A750) - (A665b - A750)\}$$

$$C \text{ phéo.a} = 26,7/l \{1,7(A665b - A750) - (A665 - A750)\}$$

A750 = Absorbance de l'extrait à 750 nm avant acidification correspondant à la turbidité,

A665a = Absorbance de l'extrait avant acidification à 665 nm,

A665b = Absorbance de l'extrait à 665 nm après acidification,

l = Longueur du trajet optique, ici 5 cm.

On mesure de la même façon la fluorescence de cette solution avant (Fa) et (Fb) acidification. De même que pour l'absorbance des relations lient les valeurs des fluorescences à celles des concentrations en chlorophylle et phéopigments. On a ainsi :

$$C \text{ chl.a} = \frac{F.r}{r-1} (Fa - Fb) \text{ en } \mu\text{g/cm}^3 \text{ d'acétone}$$

$$C \text{ phéo.a} = \frac{F.r}{r-1} (r.Fb - Fa) \text{ en } \mu\text{g/cm}^3 \text{ d'acétone}$$

Dans ces équations, F est la constante du photomultiplicateur et r une constante de dosage liée à la lampe du fluorimètre.

4.2 Détermination de F et r

Si l'on note Q le rapport C chl.a/C phéo.a que l'on considère constant quelque soit la dilution d effectuée pour passer du spectrophotomètre au fluorimètre (ici d=1/13,5), on obtient alors un système de deux équations à deux inconnus F et r, tel que :

$$(1) : Q = \frac{26,7/lx\{(A665a - A750) - (A665b - A750)\}}{26,7/lx\{1,7(A665b - A750) - (A665a - A750)\}}$$

$$(2) : Q = \frac{F.r/(r - 1)x\{Fa - Fb\}}{F.r/(r - 1)x\{r.Fb - Fa\}}$$

Considérons l'équation (2), on a alors :

$$(2) : F.r/(r - 1)\{Fa - Fb\} = Q.\{F.r/(r - 1)\}\{r.Fb - Fa\}$$

$$(2) : Fa - Fb = Q.rFb - Q.Fa$$

$$(2) : r = (Fa + Q.Fa - Fb)/(Q.Fb)$$

D'après l'équation de Lorenzen la chaleur de Q peut être aisément calculée. La valeur obtenue permet de calculer r en intégrant Q dans l'équation (2). On peut alors en déduire F en remplaçant r par sa valeur dans une des équations initiales concernant la fluométrie, en tenant compte de la dilution d effectuée et en ayant au préalable calculé, par exemple, la concentration en chlorophylle a par l'équation de Lorenzen.

4.3. Etalonnage et calculs

* Tableau des résultats

A750 = 0,009	
A665a = 0,162	Fa = 104,0
A665b = 0,121	Fb = 89,0

* Détermination des constantes.

$$Q = (0,162 - 0,121)/(1,7.0,121 - 0,162 - 0,7.0,009)$$

$$Q = 1,096$$

$$r = (104,0 + 1,096.104,0 - 89,0)/(1,096.89,0)$$

$$r = 1,3223$$

La concentration en chlorophylle a est déterminée par l'équation de Lorenzen et on obtient :

$$C \text{ chl.a} = 0,219 \mu\text{g/cm}^3 \text{ d'acétone.}$$

Or pour mesurer la fluorescence de la solution, une dilution $d = 1/13,5$ a été réalisée. Il est donc nécessaire de tenir compte de cette dilution en divisant la valeur obtenue par spectrophotométrie par d .

On a ainsi :

$$C \text{ chl.}/13,5 = \{(1,3223.F)/(1 - 1,3223)\}(104,0 - 89,0)$$

$$F = 2,636 \cdot 10^{-4}$$

Les valeurs de F et r ainsi déterminées sont ensuite mémorisées dans une procédure de calcul informatique, où seules les valeurs de F_a et F_b seront saisies pour chaque prélèvement ainsi que le volume d'eau filtré. Le calcul de la concentration ramenée au $\mu\text{g/dm}^3$ d'eau de mer se fait automatiquement aussi bien la chlorophylle a que pour les phéopigments.

ANNEXE 3

Dosage colorimétrique des Lipides par la méthode de Marsh et Weinstein (1959).

Principe

La méthode de Marsh et Weinstein repose sur l'oxydation de la matière organique en milieu acide, et n'est pas spécifique des lipides, mais de l'ensemble du matériel liposoluble. L'obtention d'un extrait lipidique sans contaminants est donc essentielle à une bonne estimation des lipides. Bligh et Dyer (1959) ont développé une méthode d'extraction et de purification qui utilise un mélange ternaire monophasique (chloroforme/méthanol absolu/eau) suivi d'un mélange ternaire biphasique par addition d'eau.

Extraction et purification (Bligh et Dyer, 1959)

- La chair est congelée puis lyophilisée
- Broyer jusqu'à l'obtention d'une poudre fine
- Peser environ 10 mg de chair sèche dans un tube en verre de 10 ml
- Ajouter 1 ml de chloroforme et 2 ml de méthanol absolu
- Homogénéiser
- Centrifuger les 2 phases par adjonction de 4 ml d'H₂O distillée
- Soutirer le surnageant dans un tube en verre de 10 ml
- Répéter l'opération une seconde fois
- Séparer les 2 phases par adjonction de 4 ml d'H₂O distillée
- Centrifuger 10 mn à 2 000 tr/mn
- Soutirer et jeter la phase supérieure (la mousse blanche à l'interface des 2 phases est due aux phospholipides)
- Evaporer le chloroforme à 40°C sous azote ou à l'étuve à 40°C pendant 48 heures.

Courbe étalon

- Faire une courbe étalon dans du chloroforme avec du tripalmitate, de 0 à 1 500 μ g/ml. Evaporer le chloroforme. Les résultats sont exprimés en mg équivalent albumine de boeuf.

Solutions de dosage

- H₂SO₄ concentré
- H₂O distillée

Mode opératoire

- Ajouter sur le culot après séchage, 10 ml H₂SO₄ concentré
- Développer la coloration 20mn à 200°C
- Refroidir rapidement dans un bain de glace
- Transvaser 2ml de la solution obtenue dans un tube à hémolyse en verre
- Ajouter rapidement 3 ml d'H₂O distillée
- Refroidir
- Homogénéiser
- Lire la densité optique à 360 nm

ANNEXE 4

Dosage colorimétrique des Sucres par la méthode de Dubois et al. (1959).

Principe

Le dosage de Dubois s'appuie sur la formation de furfural ou d'hydroxyméthyl furfural en présence d'un acide minéral fort (H₂SO₄). Ces composés réagissent avec le phénol pour donner un complexe coloré (apparition d'une coloration jaune orangée).

Extraction

- La chair est congelée puis lyophilisée,
- Broyer jusqu'à l'obtention d'une poudre fine,
- Peser environ 10 mg de chair sèche dans un tube à hémolyse en verre
- Délipider (méthode de Bligh et Dyer, cf. dosage des lipides),
- Effectuer une extraction du culot de chair délipidée et séchée avec 3 ml d'acide trichloroacétique à 15 % pendant 1 h à 4°C,
- Homogénéiser, puis centrifuger 10 mn à 2 000 tr/mn,
- Pipetter 0,5 ml de surnageant dans un tube en verre ou en polypropylène pour le dosage des sucres totaux,
- Pipetter 0,5 ml du surnageant dans un tube en verre ou en polypropylène, ajouter 4 ml d'éthanol absolu pour précipiter le glycogène, centrifuger 10 mn à 2 000 tr/mn, jeter le surnageant, ajouter 0,5 ml d'H₂O distillée bouillante.

Courbe étalon

Faire une courbe étalon dans H₂O distillée (ou TCA à 15 %) avec du glucose, de 0 à 500 µg/ml. En prendre 0,5 ml. Les résultats sont exprimés en mg équivalent glucose.

Solutions de dosage

- Phénol à 5 %,
- H₂SO₄ concentré.

Mode opératoire

- Sur les 0,5 ml de solution à doser, ajouter 1 ml de phénol,
- Laisser reposer 40 mn à température ambiante,
- Ajouter 5 ml d'H₂SO₄ concentré,
- Homogénéiser aussitôt,
- Laisser reposer 10 mn à température ambiante,
- Centrifuger 10 mn à 2 000 tr/mn s'il y a un précipité,
- Lire la densité optique à 490 nm.

La teneur en sucres libres (sucres réducteurs non glycogène) est la différence entre les sucres totaux et le glycogène.

ANNEXE 5

Dosage colorimétrique des Protéines par la méthode de Lowry et al. (1951).

Principe

La méthode de Lowry permet de doser les liaisons amides des protéines et les acides aminés : tyrosine et tryptophane.

Cette méthode (10 fois plus sensible que le Biuret) se caractérise par la formation d'un complexe cuivrique des protéines qui réduit le phosphomolybdate en milieu basique (apparition d'une coloration bleu violacée).

Extraction

- La chair est congelée puis lyophilisée,
- Broyer jusqu'à l'obtention d'une poudre fine,
- Peser environ 10 mg de chair sèche dans un tube cristal de 10 ml,
- Ajouter 10 ml de NaOH 1N, boucher le tube,
- Mettre 30 mn à 60°C, ou une nuit à température ambiante.

Courbe étalon

- Faire une courbe étalon dans NaOH 1N avec de l'albumine de boeuf, de 0 à 500 $\mu\text{g/ml}$. En prendre 0,5 ml. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de boeuf.

Solutions de dosages

- Solution A : Na_2CO_3 à 2 % dans NaOH 0,1N
- Solution B : CuSO_4 à 0,5 % dans H_2O distillée
- Solution C : Tartrate de sodium et potassium à 1 % dans H_2O distillée
- Solution D : 100 ml de solution A + 2 ml de solution B + 2 ml de solution C
- Solution E : Réactif de Folin-Ciocalteu dilué 2 fois (0,5N)

Mode opératoire

Mettre dans un tube cristal de 10 ml :

- 0,5 ml de la dilution échantillon ou étalon
- 0,5 ml de H₂SO₄ N pour ramener à pH neutre
- 5 ml de la solution D
- Après 10 mn à température ambiante, ajouter 0,5 ml de la solution E et homogénéiser aussitôt
- Laisser 1 h 30 mn à température ambiante afin que la coloration atteigne son maximum
- S'il se produit un précipité blanc, le faire disparaître soit par addition de 1 ml de tricitrate de sodium (280 g/l) ou de EDTA à 0,05N (en tenir compte pour le calcul final) soit par centrifugation à 3 000 tr/mn
- Mesurer la densité optique à 750 nm