

Direction des Opérations^[1] Laboratoire Environnement Littoral & Ressources Aquacoles, Ifremer^[2] Laboratoire Ressources Halieutiques, Pôle de Sclérochronologie, Ifremer^[3] Laboratoire Biominéralisation & Environnements Sédimentaires, Université Pierre et Marie Curie, Paris VIBellamy Elise^[1]Lefebvre Alain^[1]Mahé Kélig^[2]De Rafélis Marc^[3]

Juin 2009 //Ifremer/RST/LER.BL/09.04

Croissance de la coque (*Cerastoderma edule*) en baie de Somme

Morphométrie et Marquage



Observation d'une coque marquée à la calcéine (E. Bellamy, Ifremer).

Croissance de la coque (*Cerastoderma edule*) en baie de Somme

Morphométrie et Marquage

Fiche documentaire

Numéro d'identification du rapport : Diffusion : libre : <input checked="" type="checkbox"/> restreinte : <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/>		date de publication : 06/2009 nombre de pages : 54 bibliographie : oui illustration(s) : oui langue du rapport : français
Validé par : Alain Lefebvre, Kélig Mahé, Marc De Rafélis		
Titre de l'article : Croissance de la coque (<i>Cerastoderma edule</i>) en baie de Somme : morphométrie et marquage.		
Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/> Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/>		
Auteur(s) principal(aux) : Elise Bellamy ^[1] Alain Lefebvre ^[1] Kélig Mahé ^[2] Marc de Rafélis ^[3] Collaborateurs : J.M. Petit ^[4] P. Desmaret ^[4] A. Meirland ^[5]	Organisme / Direction / Service, laboratoire ^[1] Ifremer-Laboratoire Environnement & Ressources Aquacoles de Boulogne sur mer ^[2] Ifremer-Laboratoire Ressources Halieutiques de Boulogne sur Mer ^[3] Laboratoire de Biominéralisations & Paléoenvironnements, Université Pierre & Marie Curie ^[4] Comité Régional des Pêches Maritimes et des Elevages Marins (CRPMEM), Nord-Pas-de-Calais ^[5] Groupe d'Etude du Milieu Estuarien et du Littoral (GEMEL) Picardie ^[6] Section Régionale Conchylicole (SRC) ^[7] Direction Départementale de l'Équipement (DDE)	
Destinataires : Ifremer, Affaires Maritimes, CRPMEM ^[4] , SRC ^[6] , GEMEL ^[5] , DDE ^[7] .		
Résumé : La baie de Somme est le premier site français de production de coques (<i>Cerastoderma edule</i>) avec une moyenne de 3000 tonnes par an. Afin de mieux gérer cette exploitation, il est nécessaire de mieux comprendre la biologie de cette espèce. L'objet de cette étude est la croissance de la coque. Dans un premier temps, une analyse morphométrique comparative des valves gauche et droite a permis de mettre en évidence une symétrie parfaite des valves et d'établir de fortes corrélations entre les différents paramètres morphométriques. Dans un deuxième temps, une étude de marquage à la calcéine et au manganèse a été réalisée afin d'obtenir la croissance avec exactitude. Le marquage à la calcéine a montré une strie fluorescente pour un temps de baignade de seulement 30 minutes à 150 mg.L ⁻¹ . De même pour le manganèse, où le marquage est révélé pour un temps de baignade d'1 heure à 120 mg.L ⁻¹ . Néanmoins, l'analyse numérique effectuée sur 4 coques marquées a permis de dénombrer en moyenne 23 stries entre le marquage et le bord ventral des valves, correspondant aux 12 jours de l'expérience pendant lesquels se sont produites 23 marées. La périodicité de formation des incréments est validée et est par conséquent de rythme tidal.		
Abstract : The bay of Somme is the first French field of cockles (<i>Cerastoderma edule</i>) with a production amounting to 3000 tons per year on average. In order to improve the stock management, it is necessary to increase our knowledge of this species. This study is looking at the growth of the common cockle. First, was carried out a morphometric analysis of the two left and right valves, which has revealed a perfect symmetry of the shell and has allowed us to establish strong correlations among the morphometric parameters. Then, a chemical marking study has been realized with calcein and manganese in order to obtain the exact growth. Calcein marking has showed a fluorescent stria only for an half hour immersion time at 150 mg.L ⁻¹ . Likewise, the manganese marking has worked for one hour immersion time at 120 mg.L ⁻¹ . Nevertheless, a numerical analysis performed on 4 marked cockles permitted to count 23 striae on average between the mark and the ventral margin, corresponding to the 12 days of experience during which 23 tides happened. The periodicity of increments formation is validated for a tidal frequency.		
Mots-clés : coque, <i>Cerastoderma edule</i> , croissance, baie de Somme, marquage, calcéine, manganèse, fluorescence, cathodoluminescence.		
Words keys : cockle, <i>Cerastoderma edule</i> , growth, bay of Somme, marker, calcein, manganese, fluorescence, cathodoluminescence .		

INTRODUCTION	6
1. PRESENTATION DE L'ESPECE	7
1.1. Systématique.....	7
1.2. Localisation.....	7
1.3. Anatomie générale.....	8
1.3.1. La coquille.....	8
1.3.2. Le corps.....	8
1.4. Alimentation	9
1.5. Reproduction	9
1.6. Recrutement.....	10
1.7. La croissance	12
1.7.1. Etude de la structure externe	12
1.7.2. Etude de la structure interne.....	13
1.8. Biominéralisation de la coquille	14
1.9. Pêche.....	16
2. METHODOLOGIE DU MARQUAGE	17
2.1. Types de marquages.....	17
2.2. Choix des marqueurs	17
2.3. La cathodoluminescence	19
3. MATERIELS ET METHODES	20
3.1. Symétrie des valves	20
3.1.1. Site d'étude.....	20
3.1.2. Plan d'échantillonnage	21
3.1.3. Mesures et pesées	22
3.2. Marquage de coques	22
3.2.1. Site expérimental.....	22
3.2.2. Structure expérimentale	23
3.2.3. Marquage.....	25
3.2.4. Marqueurs utilisés	26
3.2.5. Analyse des échantillons	29
3.2.5.1. Préparation des échantillons.....	29
3.2.5.2. Traitement chimique : solution de Mutvei.....	30
3.2.5.3. Analyse par fluorescence	31

Sommaire

3.2.5.4. Analyse par cathodoluminescence	31
4. RESULTATS	32
4.1. Morphologie des valves.....	32
4.1.1. Relation entre la Longueur, la Largeur, le Poids et la Surface	32
4.1.2. Symétrie des valves.....	34
4.1.2.1. Test de la normalité de distribution (Q-Q Plot)	34
4.1.2.2. Test de rang de Spearman	35
4.2. Marquage.....	36
4.2.1. Temps et concentrations des marqueurs	36
4.2.1.1. Calcéine.....	36
4.2.1.2. Manganèse.....	38
4.2.2. Validation de la périodicité des incréments	40
4.2.3. Croissance de la coque	42
5. DISCUSSION.....	43
6. PERSPECTIVES	44
BIBLIOGRAPHIE	45
ANNEXE 1	53
ANNEXE 2.....	54

Introduction

En France, la baie de Somme est la première zone d'exploitation de la coque commune. Cette production a connu de fortes variabilités inter-annuelles, avec des années de crise comme en 1976 et 1984 (Desprez *et al.*, 1987).

Afin de mieux appréhender ces évènements et d'améliorer la gestion de cette ressource, il convient d'approfondir nos connaissances sur la biologie et l'écologie de cette espèce. Ainsi, une synthèse bibliographique, qui se veut exhaustive, a été réalisée révélant des manques de connaissances, notamment concernant la croissance de la coque.

Pourtant, l'âge est un paramètre primordial pour caractériser une population, suivre son évolution, mais aussi pour étudier sa dynamique à travers le recrutement, la reproduction... Pour l'estimer, la coquille, structure calcifiée, est utilisée. De ce fait, cette étude présente plusieurs objectifs :

- ❖ Une analyse morphométrique comparative entre les valves droite et gauche permettant d'identifier si la croissance peut être suivie indifféremment sur l'une ou l'autre valve
- ❖ Une étude de marquage permettant de connaître avec exactitude l'âge des coques :
 - La faisabilité d'une telle expérimentation *in situ*
 - La validation de la périodicité de formation des incréments de croissance

Les expériences de marquages étant peu courantes et jamais réalisées sur la coque, ni en baie de Somme, il fallut un lourd travail préliminaire afin d'élaborer une structure pouvant accueillir les coques marquées dans leur milieu naturel sans les perturber, ni modifier les conditions environnementales dans lesquelles elles évoluent habituellement.

L'ensemble de ces résultats devrait contribuer à la connaissance de la croissance de la coque commune et plus précisément en baie de Somme.

1. Présentation de l'espèce

1.1. Systématique

La coque, *Cerastoderma edule*, reçoit selon les régions, diverses dénominations telles que hénon, bucarde, rigardeau, sourdon ou bien encore demoiselle.

Dans la classification, elle appartient à l'embranchement des Mollusques, décliné dans le tableau 1.

Tableau 1 : Systématique de la coque *Cerastoderma edule* (Linné 1758).

Embranchement	Mollusques
Classe	Bivalves
Ordre	<i>Veneroïda</i>
Famille	<i>Cardiidae</i>
Sous-famille	<i>Laevicardiinae</i>
Genre	<i>Cerastoderma</i>
Espèce	<i>edule</i>

1.2. Localisation

L'aire de répartition de la coque, indiquée en rouge sur la figure 1, s'étend de la mer de Barents au Nord jusqu'aux côtes mauritaniennes au Sud. De même, elle est présente de la Russie à l'Est jusqu'à la Mauritanie.



Figure 1 : Distribution mondiale de la coque commune (source : FAO, 2008).

Cette espèce est dite "estuarienne" car elle se trouve majoritairement à l'embouchure d'estuaires ou en baies protégées. Son habitat est caractérisé par un milieu intertidal sur un sol sableux plus ou moins vaseux dont la granulométrie peut varier entre 100 et 400 μm (Guillou *et al.*, 1989). La coque, euryhaline, peut vivre dans des eaux de salinité s'échelonnant entre 18 et 40 (MarLIN, 2008).

1.3. Anatomie générale

1.3.1. La coquille

La coque présente deux valves identiques légèrement dissymétriques, ce qui permet de distinguer la valve gauche de la valve droite (Fig. 2), dont l'ouverture est contrôlée par un ligament externe ainsi que deux muscles adducteurs internes.

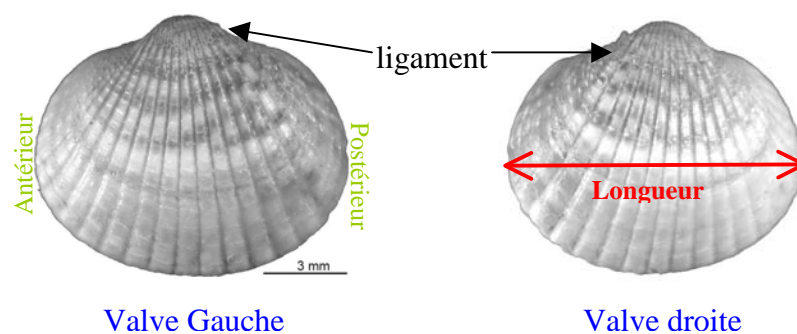


Figure 2 : Anatomie comparée des valves gauche et droite de la coque.

La longueur d'une coque est définie comme étant la distance antéro-postérieure de la coquille (Fig. 2).

1.3.2. Le corps

Le corps est délimité par le manteau qui se soude dans la région postéro-ventrale pour former deux siphons dirigés vers l'arrière, d'un centimètre de long environ chez l'adulte (Fig. 3). Le siphon ventral permet le passage de l'eau dans la cavité palléale. Il est pourvu de nombreux petits tentacules et est ouvert en permanence. Le siphon dorsal, un peu plus court, est le siphon exhalant qui permet le rejet de l'eau et des excréments. Il s'ouvre périodiquement (Hennebelle, 1975 ; FAO, 2008).

Le pied, organe locomoteur, est long et coudé en son milieu. A sa base, se trouve un rudiment de glande à byssus (plus fonctionnel à l'état larvaire). Il peut être ramené en arrière par deux muscles rétracteurs qui s'insèrent au dessus des deux muscles adducteurs.

Les branchies sont reliées à la base de la masse viscérale par l'axe brachial.

L'appareil reproducteur n'est constitué que d'une gonade, en forme de grappe, située à la surface et à la base du pied, s'étendant dans le corps par de multiples ramifications ciliées débouchant sur de nombreux sacs, les follicules, contenant les cellules germinales, lieux de formation des gamètes.

Anatomiquement parlant, la gonade ne forme pas un organe dissociable du reste de la masse viscérale, ce qui induit un dimorphisme sexuel quasi inexistant.

En période de repos sexuel, les gonades peu volumineuses sont indiscernables à l'œil nu ; une légère différence de couleur peut être distinguée à maturation, au travers du pied, où les ramifications oranges ou blanches tuméfiées indiqueront le sexe de l'animal, respectivement femelle ou mâle. Outre ce stade particulier, la différenciation sexuelle nécessite une coupe histologique ou un frottis gonadique (Hennebelle, 1975 ; FAO, 2008).

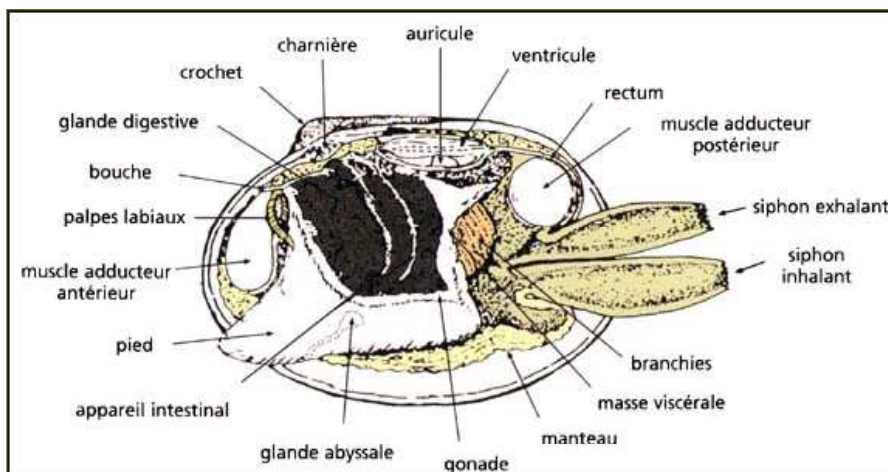


Figure 3 : Anatomie interne d'un bivalve (FAO, 2008).

1.4. Alimentation

La coque vit continuellement enfouit dans le sable à quelques centimètres sous la surface. Dès que la marée la recouvre, elle lance ses deux siphons à la surface et filtre l'eau de mer. Elle est filtreur suspensivore ; elle se nourrit en captant l'eau de mer chargée en matière en suspension par son siphon ventral tout en rejetant eau et excréments par son siphon dorsal.

Son alimentation est constituée principalement de phytoplancton (dinoflagellés, diatomées), de zooplancton (ciliés, gamètes et larves), de zoospores, de bactéries et de débris organiques ou non. Des particules fines telles que du sable ou des débris coquilliers peuvent venir se mêler à cet ensemble (Hennebelle, 1975 ; FAO, 2008).

1.5. Reproduction

La coque est une espèce méroplanctonique, gonochorique dont la fécondation externe s'effectue par pontes.

La coque a un cycle sexuel composé d'une phase de repos pendant l'hiver et d'une phase d'activité sexuelle (gamétogenèse et ponte) de mars à octobre selon le site étudié (Desprez *et al.*, 1987 ; Guillou *et al.*, 1989 ; Guillou & Tartu, 1992 ; Honkoop & Meer, 1997 ; Cardoso *et al.*, 2006).

Au début du printemps, la reprise de l'activité sexuelle consiste à une maturation gonadique progressive, dont l'initiation et la vitesse sont principalement conditionnées par une hausse significative de la température de l'eau de mer (Gimazane & Lubet, 1972 ; Desprez *et al.*, 1987 ; Guillou & Tartu, 1992). Par ailleurs, des températures hivernales basses se traduisent par une phase de repos sexuel favorable à une bonne reprise du cycle gonadique, contrairement à un hiver doux qui retarde et ralentit la gamétogenèse par absence de phase de repos sexuel efficace (Guillou *et al.*, 1989 ; Guillou & Tartu, 1992 ; Honkoop & Meer, 1997 ; Dare *et al.*, 2004). En effet, de basses températures réduisent la consommation énergétique de *C. edule* pendant l'hiver, ce qui réduit aussi sa perte de masse viscérale, et offre donc plus d'énergie disponible pour le développement gonadique (Honkoop *et al.*, 1995 ; Honkoop & Meer, 1997). De plus, un hiver rigoureux influe

positivement sur la fertilité en permettant un meilleur synchronisme lors des émissions de gamètes de chaque sexe (Hancock, 1973 ; Desprez *et al.*, 1987).

Le niveau de maturation gonadique peut être reconnaissable au travers différents stades (Desprez *et al.*, 1987 ; Guillou *et al.*, 1989 ; Guillou & Tartu, 1992) :

- **Stade A** : glande génitale non discernable. Trois états possibles chez l'adulte : repos sexuel, prévitellogenèse ou régression gonadique.
- **Stade B** : glande génitale observable, mais sexe difficilement discernable à l'œil nu. Peu d'éléments mûrs.
- **Stade C** : glande génitale bien évidente et sexe déterminable à l'œil nu : pied du mâle rose saumon, pied blanc nacré chez la femelle. Il existe deux sous-stades :
 - **C₁** : éléments génitaux abondants. Spermatozoïdes peu mobiles et ovocytes encore pédonculés en majorité.
 - **C₂** : spermatozoïdes très mobiles, ovocytes sphériques et libres dans les follicules.
- **Stade D** : phase de « restauration » post-ponte : coexistence d'acini vides et d'acini présentant des poussées ovocytaires rapides.

Plusieurs pontes d'intensité différente peuvent avoir lieu pendant la phase d'activité sexuelle. On distingue des pontes partielles ou massives en fonction des réserves énergétiques de l'animal et de l'intensité de la ponte précédente (Guillou *et al.*, 1989). Cet étalement de la période de reproduction est aussi une stratégie à caractère opportuniste, en réduisant le risque de décalage avec la production primaire et en supprimant celui de surpopulation d'une ponte trop importante (Mileikovsky, 1971 *In* Guillou & Tartu, 1992).

1.6. Recrutement

Fécondation faite, l'œuf se segmente jusqu'à devenir, en moins de 48 heures, une larve trocophore pélagique, s'alimentant par ses réserves lipidiques initialement contenues dans l'œuf. Celle-ci évolue vers un autre stade larvaire, formant une larve véligère en stade D, due à sa forme caractéristique, toujours planctonique, mais capable de s'alimenter par elle-même en captant le phytoplancton sur son velum. Pendant 3 à 4 semaines, la larve D croît jusqu'à devenir une larve mature umbonée (FAO, 2008). Des températures hivernales basses, allouant une économie d'énergie aux adultes, ont pour conséquence d'augmenter les réserves lipidiques des œufs. Ceci permet un meilleur développement larvaire, et favorise donc la survie des larves dans cette étape où la mortalité est importante (Honkoop *et al.*, 1995, 1998 ; Honkoop & Meer, 1997 ; Dare *et al.*, 2004). Par ailleurs, la température de l'eau au moment du développement larvaire joue aussi un rôle essentiel, présentant une corrélation positive avec la vitesse de maturation des larves ainsi que la production primaire dont les larves se nourrissent (Guillou & Tartu, 1992 ; Honkoop *et al.*, 1995 ; Honkoop & Meer, 1997 ; Chicharo & Chicharo, 2001). Cette phase larvaire est marquée par une sédentarisation de la véligère, qui se métamorphose et devient une coque juvénile. La survie à cette sédentarisation ainsi qu'aux premiers temps de la vie benthique marque le recrutement car la mortalité y est conséquente (Guillou & Tartu, 1994 ; Strässer & Günther, 2001 ; Dare *et al.*, 2004). En effet, les juvéniles de coques représentent une source d'alimentation pour nombreux prédateurs tels que les juvéniles de crabes, de crevettes ou de poissons plats. Selon la période de reprise de l'activité sexuelle et les conditions hydroclimatiques, la sédentarisation est plus ou moins concomitante avec la production des juvéniles des prédateurs, ce qui influence principalement le recrutement (Jensen & Jensen, 1985 ; Sanchez-Salazar *et al.*, 1987 ; Guillou & Tartu, 1994 ; Honkoop

et al., 1995 ; Honkoop & Meer, 1998 ; Strässer & Günther, 2001 ; Strässer *et al.*, 2002 ; Flach, 2003 ; Dare *et al.*, 2004). De plus, de fortes densités de coques adultes peuvent accentuer la mortalité par ingestion des larves en cours de sédentarisation ou par compétition alimentaire intra-spécifique (André & Rosenberg, 1991 ; Honkoop & Meer, 1997 ; Flach, 2003 ; Dare *et al.*, 2004)

Les facteurs influençant chaque étape du cycle de la vie de la coque sont synthétisés sur la figure 4.

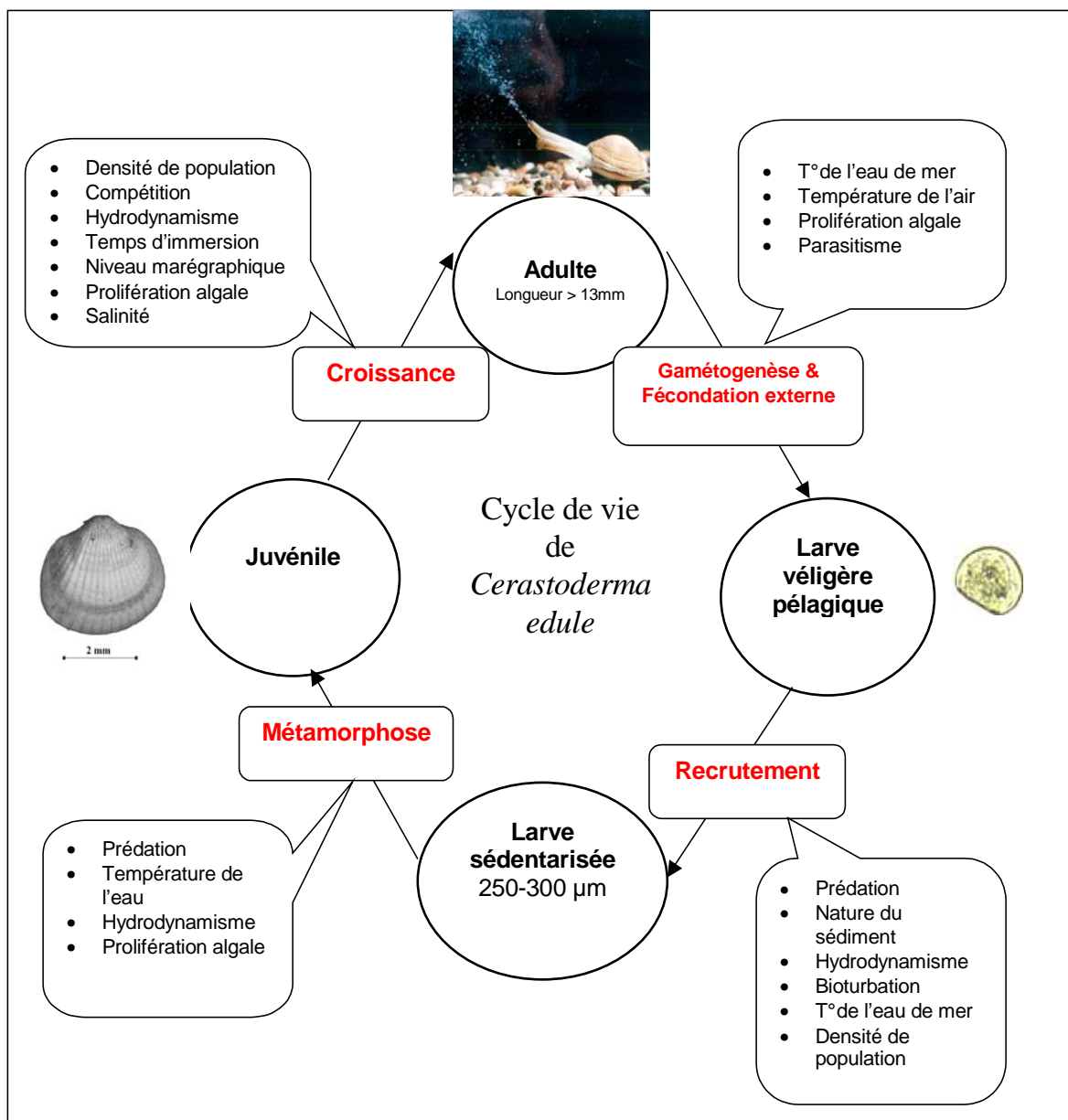


Figure 4 : Facteurs influençant les différentes étapes du cycle de vie de la coque, *Cerastoderma edule* (d'après : Gimazane & Lubet, 1972 ; Hennebelle, 1975 ; Desprez *et al.*, 1987 ; Guillou *et al.*, 1989 ; Guillou & Tartu, 1992 ; Honkoop *et al.*, 1995, 1998 ; Honkoop & van der Meer, 1997 ; Dare *et al.*, 2004 ; Cardoso *et al.*, 2006 ; FAO, 2008 ; MarLIN, 2008).

1.7. La croissance

La croissance est un paramètre nécessaire pour suivre la dynamique des populations marines. Celle-ci est étudiée à partir des pièces calcifiées (Sclérochronologie). Chez les poissons, les pièces calcifiées utilisables sont les otolithes, les écailles, les vertèbres (Panfili *et al.*, 2002).

Secor et ses collaborateurs (1995) ont indiqué que le suivi de la croissance chez les bivalves est similaire à celui chez les poissons avec l'analyse des pièces calcifiées. Chez les bivalves, la seule pièce calcifiée disponible est la coquille. L'estimation de l'âge peut être réalisée soit à partir de l'observation de la structure externe, soit à partir de la structure interne. Chez la coque (*Cerastoderma edule*), si les 2 méthodes ont été employées, l'analyse de la structure interne permet d'obtenir une plus grande précision dans l'estimation de l'âge.

1.7.1. Etude de la structure externe

Chez de nombreux bivalves, la surface de la coquille présente une succession de stries, qui peut permettre d'estimer l'âge. Selon l'espèce étudiée, la formation des stries externes peut avoir une périodicité journalière (famille des Pectinidés, Clark, 1975) ou annuelle (*Clinocardium ciliatum*, Tallqvist & Sundet, 2000). Cependant, les stries observables peuvent être des marques de croissance ou de traits de vie. Ainsi, pour *Pecten irradians*, il a été établi que l'activité reproductrice prend le pas sur la croissance ce qui donne lieu, annuellement, à un anneau visible sur la face externe de la coquille (Gutsell, 1930).

Chez *Cerastoderma edule*, la striation viendrait du fait que l'hiver, la nourriture étant moins disponible et les températures basses, la croissance est très faible, et se traduirait par une strie épaisse, résultant de la succession d'incrémentes très petits (non visibles sur la face externe ; Fig. 5). Ainsi, une étude concernant l'estimation de l'âge, a été réalisée en mesurant des épaisseurs par interpolation des plus petites stries se situant entre deux zones hivernales permettant d'identifier le nombre d'hivers écoulés (Monfort, 1967 ; Fig. 1).

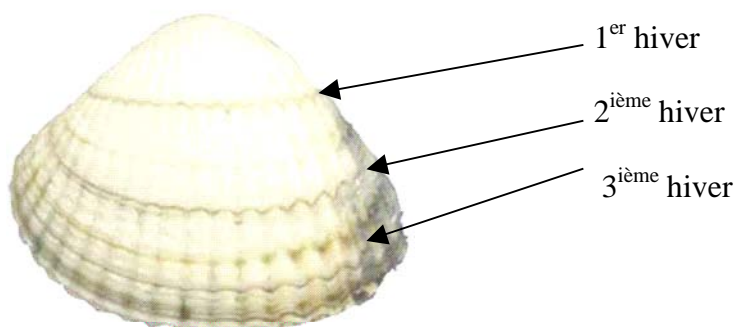


Figure 5 : Surface externe d'une coquille de coque, présentant de larges stries qui seraient associées à des chutes de croissance hivernales (In Dabouineau & Ponsero 2004, Monfort, 1967).

Des études menées sur le suivi des coques en Angleterre (Franklin, 1972), en Irlande (Fahy *et al.*, 2005) et en mer des Wadden (Cardoso *et al.*, 2007) se sont basées sur l'analyse externe de la coquille. Cependant, les auteurs indiquent que les stries de croissance

annuelles ne sont pas toujours visibles et qu'à l'inverse, beaucoup de stries visibles ne sont pas des marques de croissance (Franklin, 1972 ; Cardoso *et al.*, 2007). De plus, Cole (1956) note que le premier anneau est souvent très peu visible voir absent. Ainsi, l'étude de la croissance des coques par l'observation de la coquille externe peut être difficile. Les résultats en baie de Somme n'ont pas permis d'obtenir des résultats satisfaisants.

1.7.2. Etude de la structure interne

Depuis quelques années, l'étude de la croissance chez de nombreux bivalves est réalisée en analysant les structures internes. Celles-ci sont observables à partir de coupes sagittales de coquilles (Fig. 6).

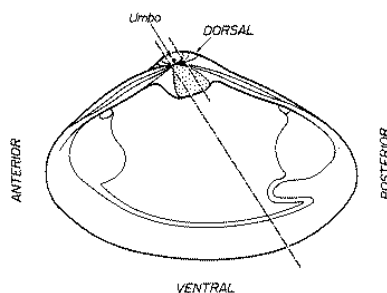


Figure 6 : Axe de coupe (ligne en pointillée) chez *Spisula solida* (Almeida & Sheehan, 1997).

Selon les espèces, l'analyse des structures internes permet soit de valider l'estimation de l'âge observé sur la coquille externe (Fig. 7) soit d'estimer l'âge car les structures externes ne le permettent pas.

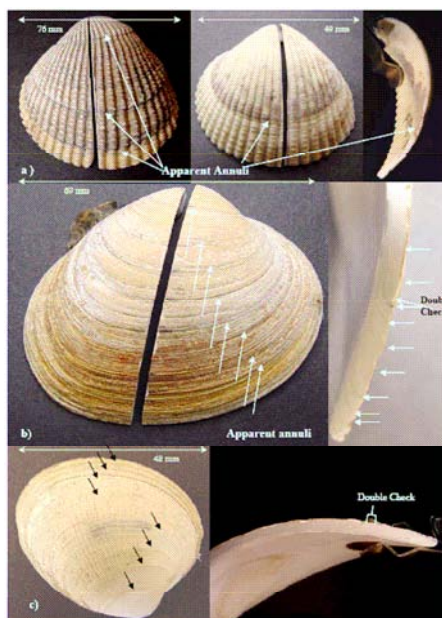


Figure 7 : Exemple d'estimation d'âge de bivalves par l'observation des structures externes validées par les structures internes (a : *Clinocardium nuttallii*, b : *Saxidomus giganteus*, c : *Protothaca staminea*) (In Brooks, 2001).

Les études réalisées sur la structure externe des coques (Montfort, 1967 ; Franklin, 1972 ; Fahy *et al.*, 2005, Cardoso *et al.*, 2007) présentent des estimations d'âge avec une précision

d'1 an. Des études réalisées sur les microstructure internes (Fig. 8) permettent d'obtenir une précision à la journée (House & Farow, 1968). Les incréments observables chez les bivalves sont similaires à ceux observés chez les otolithes (Kalish *et al.*, 1995). Cependant, si chez les poissons les incréments sont journaliers dus à l'alternance du jour et de la nuit (Campana & Neilson, 1985), chez les bivalves intertidaux, la marée a une influence sur la formation des incréments (Evans, 1972; Richardson *et al.*, 1979, 1980, 1981; Richardson, 1987a, b, 1988a, b, 1989; Cerrato *et al.*, 1991 ; Cerrato, 2000).

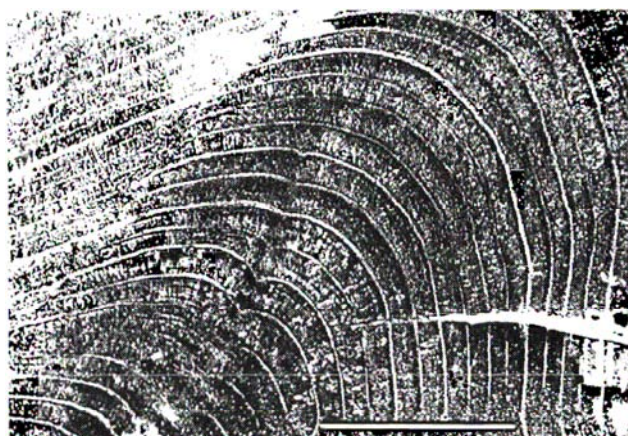


Figure 8 : Exemple de microstructures observées sur une coque (ligne d'échelle de 100 μm) (Lonne & Gray, 1988).

Différentes études menées sur l'estimation de l'âge des coques à partir des structures internes montrent que les incréments seraient plutôt dus à la marée (stress d'émersion irrégulière) qu'à l'alternance jour/nuit (Cole, 1956 ; Richardson *et al.*, 1979, 1980 et 1981 ; Bourget & Brock, 1990).

1.8. Biominéralisation de la coquille

La coquille des bivalves est composée d'une fraction minérale comptant pour plus de 95 % du poids de la coquille et d'une fraction organique inférieure à 5 % (Hennebelle, 1975 ; Marin & Luquet, 2004 ; Lartaud, 2005 ; Jacob *et al.*, 2008). La fraction minérale est essentiellement constituée de carbonate de calcium. Polymorphe, il peut cristalliser sous diverses formes selon le système cristallin : la plupart du temps, il formera de la calcite en système rhomboédrique et/ou de l'aragonite en système orthorhombique. La coquille de la coque est exclusivement aragonitique (Bubel, 1973 ; Neri *et al.*, 1978 ; Richardson *et al.*, 1991). Elle s'organise en trois principales couches : le périostracum, l'ostracum et l'hypostracum élaborés à différentes régions du manteau (Timmermans, 1969 ; Neri *et al.*, 1978 ; Richardson *et al.*, 1981 ; Wilbur and Saleuddin, 1983 & Wheeler, 1992 *In*. Mc Connaughey & Gillikin, 2008) (Fig. 9).

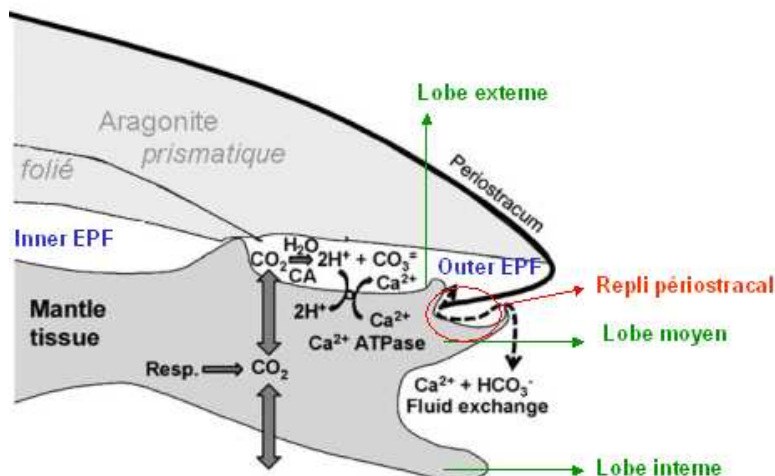


Figure 9 : Biominéralisation de la coquille (modifié d'après : Mc Connaughey & Gillikin, 2008).

De l'extérieur vers l'intérieur, on trouve :

- Le périostacum : organique, composé de protéines, glycoprotéines et polysaccharides, il prend naissance au niveau des cellules basales du repli périostacal situé entre les lobes externe et moyen du manteau. Il recouvre entièrement la coquille et participe donc, avec le manteau et la coquille, à la délimitation de la cavité extra-palléale contenant le fluide extra-palléal. Outre cette compartimentation, le périostacum fournit une protection imperméable à l'ensemble de la coquille et joue un rôle essentiel lors de la biominéralisation de la coquille en servant à la fois de trame (nucléation, orientation) et de stabilisateur lors de l'agencement des microcristaux (Bubel, 1973 ; Richardson *et al.*, 1981 ; Chateigner *et al.*, 2000 ; Tong *et al.*, 2001 ; Marin & Luquet, 2004 ; Kobayashi & Samata, 2006 ; Carré *et al.*, 2006).
- L'ostracum : couche prismatique constituée, comme son nom l'indique, de prismes aragonitiques hexagonaux empilés, perpendiculaires à la surface de la coquille et enrobés par une matrice protéique de conchyoline (Timmermans, 1969 ; Hennebelle, 1975). La précipitation des minéraux de cette couche s'effectuerait dans la cavité extra-palléale externe (Wilbur and Saleuddin, 1983 & Wheeler, 1992 *In*. Mc Connaughey & Gillikin, 2008).
- L'hypostracum : dite couche foliée. Elle présente un enchevêtrement régulier de feuillets parallèles d'aragonite et de conchyoline (Timmermans, 1969 ; Hennebelle, 1975). La précipitation des minéraux de cette couche s'effectuerait dans la cavité extra-palléale interne (Wilbur and Saleuddin, 1983 & Wheeler, 1992 *In*. Mc Connaughey & Gillikin, 2008).

Le calcium utilisé pour la sécrétion de la coquille, n'étant retrouvé ni dans la glande digestive, ni dans le manteau de *Cerastoderma edule*, proviendrait directement de l'environnement et ne serait pas d'origine alimentaire. Si aucune rétention de calcium ne se fait dans les tissus, cela suggère que les micro-incréments calciques de la structure interne de la coquille correspondraient aux temps d'immersion de la coque (Richardson *et al.*, 1981).

Par ailleurs, d'après Néri *et al.*(1978), il semblerait que l'épaisseur de la coquille soit inversement proportionnelle à la salinité.

1.9. Pêche

La France est le troisième producteur mondial de coques (Fig. 10) après les Pays-Bas et le Royaume-Uni. En France, les gisements sont répartis le long du littoral Atlantique de la frontière belge à l'Espagne. La baie de Somme est la première zone de production française (Fig. 11).

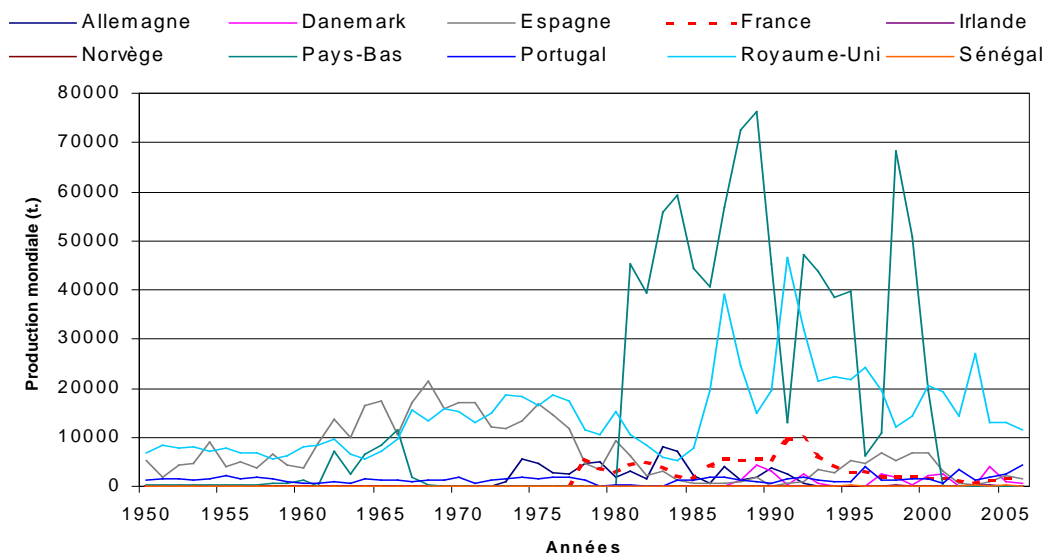


Figure 10 : Production mondiale de coques par pays entre 1950 et 2006 (FishStat ; FAO, 2008).

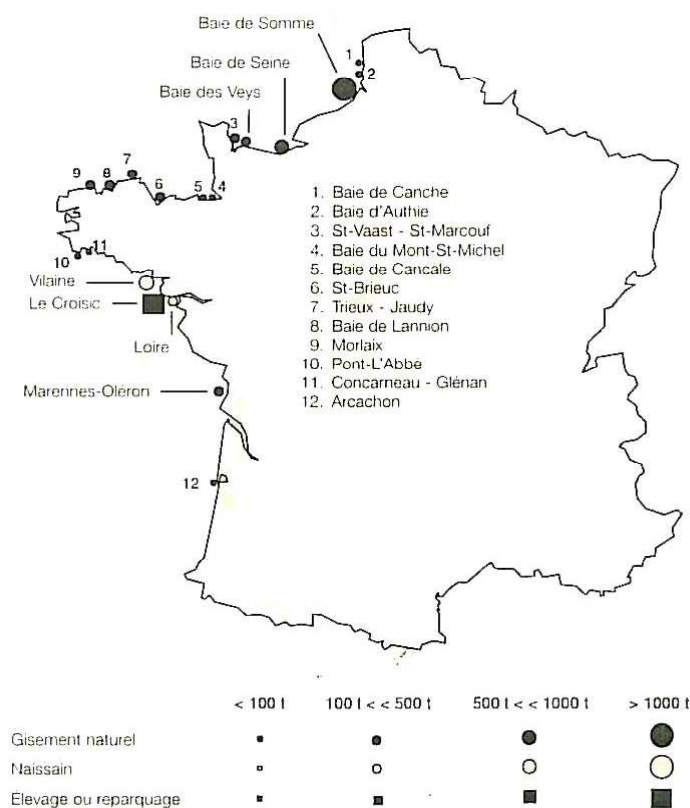


Figure 11 : Zones françaises de production de coques (Quéro & Vayne, 1998).

2. Méthodologie du marquage

2.1. Types de marquages

Plusieurs types de marquage ont été effectués pour étudier la croissance d'un bivalve. Il existe 2 grands types de marquage de la coquille :

- ❖ le marquage externe physique : par un simple coup de scie au bord ventral de la coquille (Henocque, 1977 ; Ropes, 1985 ; Sejr *et al.*, 2002) , par une tâche colorée à l'extrémité des valves en utilisant diverses peintures, des encres spéciales ou de l'époxy-résine (O'Keeffe, 1985 ; Kracuter *et al.*, 1989 ; Cain *et al.*, 1990 ; Brooks, 1991 ; Boulding & van Alstyne, 1993 ; Tablado *et al.*, 1994)
- ❖ le marquage interne :
 - 1) physique, par « choc de froid », où les bivalves sont maintenus pendant trois jours à 4°C en air humide (Richardson *et al.*, 1979 & 1980),
 - 2) ou chimique, en immergeant l'animal dans une solution enrichie en calcium en vue d'obtenir un incrément anormalement épais (Bourget & Crisp, 1975b ; Crisp & Richardson, 1975), en immergeant les mollusques dans divers fluorochromes (Day *et al.*, 1995 ; Kaehler & McQuaid, 1999 ; Moran & Marko, 2005), en utilisant des isotopes du carbone et de l'oxygène ou autres (Witbaard *et al.*, 1994 ; Kilada *et al.*, 2006) ou par marquage au manganèse (Langlet *et al.*, 2006 ; Lartaud, 2007).

Les méthodes physiques présentent des désavantages, tout d'abord en terme de stress de l'animal lors du marquage ce qui influence négativement la croissance, mais aussi en terme d'indice de condition et de prédation, où le poids du marqueur dans le cas de la résine par exemple, peut engendrer une plus grande dépense énergétique de l'animal ou gêner le bivalve lors de son enfouissement pour échapper à un prédateur. De plus, les méthodes physiques ne sont généralement pas applicables à des bivalves de trop petite taille ou lors de périodes sensibles de leur vie. Enfin, il existe une grande variabilité dans l'efficacité et la durabilité de ces types de marquage (Brooks, 2001 ; Henry & Jarne, 2007), c'est pourquoi cette étude en baie de Somme a été réalisée à partir de marquages chimiques internes.

2.2. Choix des marqueurs

L'usage de fluorochromes est la méthode la plus répandue pour le marquage chimique de pièces calcifiées de nombreuses espèces (Panfili *et al.*, 2001) : adultes et larves de poissons (Monaghan, 1993 ; Bashey, 2004), échinodermes (Purcell *et al.*, 2008), brachiopodes (Rowley & MacKinnon, 1995), cnidaires (Marshall *et al.*, 2004), adultes, juvéniles et larves de mollusques (Day *et al.* 1995 ; Moran, 2000 ; Moran & Marko, 2005 ; Thébault *et al.*, 2006 ; Riascos *et al.*, 2007 ; Lucas *et al.*, 2008). Couramment employés, les fluorochromes de type tétracycline, alizarin et calcéine ont démontré une certaine efficacité dans les études de marquages de mollusques (Pirker & Schiel, 1993 ; Kaehler & McQuaid, 1998 ; Bashey, 2004 ; Moran & Marko, 2005 ; Purcell *et al.*, 2006 ; Lucas *et al.*, 2008 ;

Herrmann, *In Press*). Cependant dans la littérature, il est possible de trouver des avis divergents quant à la fiabilité de ceux-ci (Monaghan, 1993 ; Day *et al.*, 1995 ; Carré, 2005 ; Riascos *et al.*, 2007). Un marqueur chimique fiable doit présenter certaines caractéristiques, comme d'être facilement détectable dans la structure calcique, ne pas altérer la viabilité des individus marqués, être conservé pendant une durée suffisante pour l'expérience (Riascos *et al.*, 2007)... La calcéine (Fig. 12), parmi les fluorochromes cités, a été retenue dans cette étude car elle semble réunir un plus grand nombre d'avantages : elle produit des marques nettes et durables, pendant un temps d'exposition relativement court (3 heures) (Thébault *et al.*, 2006 ; Riascos *et al.*, 2007). Elle est applicable à tous les stades du cycle de vie de nombreuses espèces, elle est non toxique pour l'environnement, et n'engendre ni mortalité, ni variation du taux de croissance (Monaghan, 1993 ; Day *et al.*, 1995 ; Kaehler & MacQuaid, 1998 ; Moran, 2000 ; Moran & Marko, 2005 ; Thébault *et al.*, 2006 ; Riascos *et al.*, 2007 ; Herrmann, *In. Press*).

Plus récemment, des études de croissance sur des mollusques ont été menées avec succès par marquage au manganèse (Fig. 13) (Barbin, 1991 ; Barbin & Gaspard, 1995 ; Hawkes *et al.*, 1996 ; Bettiol *et al.*, 1999 ; Habermann *et al.*, 2001 ; Tomasovych & Farkas, 2005 ; England *et al.*, 2006 ; Langlet *et al.*, 2006 ; Lartaud *et al.*, 2006 ; Cardoso *et al.*, 2007 ; Lartaud, 2007). Cette technique met en jeu de très faibles concentrations de marqueurs comparées à celles dont nécessite le marquage par fluorochromes ainsi que des temps de baignation courts, et ce, sans affecter la survie des bivalves marqués. De plus, l'étude de la cathodoluminescence naturelle et induite par le marquage, permet une analyse plus fine de la croissance coquillière tant en terme de sclérochronologie, de suivi de la croissance, mais aussi de compréhension des processus de biominéralisation et du contexte environnemental dans lequel elle s'effectue. En effet, la cathodoluminescence peut présenter différents niveaux de cyclicités, liées au taux d'incorporation et à la biodisponibilité du manganèse, ce en fonction de la température et du taux d'oxygène dissous de l'eau de mer (Langlet *et al.*, 2006 ; Lartaud *et al.*, 2006 ; Lartaud, 2007). Ainsi, cette seconde méthode a également été retenue dans le cadre de cette étude.



Figure 12 : Poudre de calcéine.



Figure 13 : Poudre de chlorure de manganèse ($MnCl_2$).

2.3. La cathodoluminescence

La cathodoluminescence correspond à l'émission de photons dans le domaine visible d'un ion activateur (impureté) au sein d'un cristal, excité par un bombardement électronique. Ainsi, la longueur d'onde de la luminescence est caractéristique du minéral et de l'ion activateur (Amieux, 1982 ; Machel *et al.*, 1991 ; de Rafélis *et al.*, 2000).

Un activateur est un ion (ou atome) dont la différence énergétique entre la couche de valence et les orbitales de niveaux supérieurs est suffisante pour permettre l'émission d'un photon dans le domaine visible après excitation, tels que les métaux de transition (Machel *et al.*, 1991). Pour les carbonates, le principal ion activateur de la luminescence est le manganèse : Mn^{2+} (Barbin *et al.*, 1991 ; Barbin *et al.*, 1995 ; Bettiol *et al.*, 1999 ; Barbin, 2000 ; Götte & Richter, 2009). Pour les deux polymorphes du $CaCO_3$, on obtient une bande d'émission de luminescence activée par le manganèse à 600-620 nm pour la calcite (couleur rouge/orangée) et à 540-620 nm pour l'aragonite (couleur rouge/orangée) et à 540-575 nm pour l'aragonite (couleur jaune/verte ; Fig.14). Par ailleurs, alors qu'un cristal pur de $CaCO_3$ est optiquement inerte, il existe une luminescence naturelle bleutée, toujours très faible, de ces biominéraux, dite intrinsèque, essentiellement due aux défauts du réseau cristallin (déformations, interstices...), de bande d'émission à 350-400 nm pour la calcite et à 440-520 nm pour l'aragonite (Machel *et al.*, 1991 ; El Ali *et al.*, 1993 ; Barbin, 2000 ; Götte & Richter, 2009).

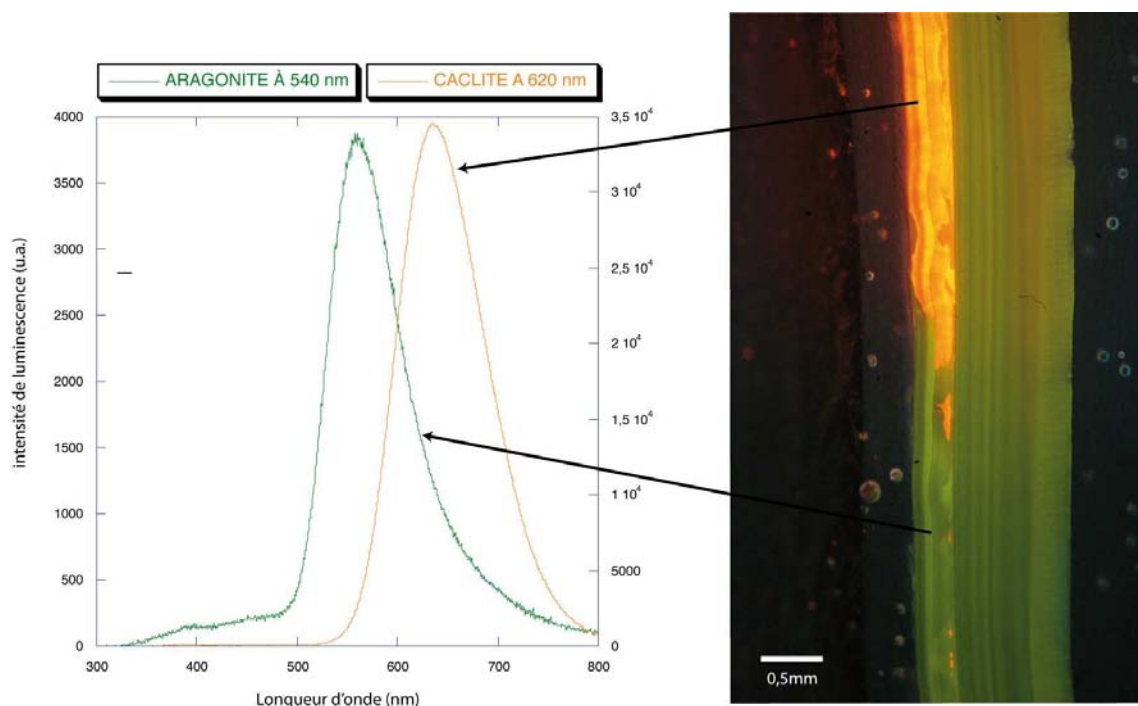


Figure 14 : Observation en cathodoluminescence d'une section de coquille d'Anondonte. A droite, cathodoluminescence (CL)-optique montrant l'aragonite (verte) et la calcite (orange) de la structure lamellaire de la coquille. A gauche, les spectres-CL correspondants acquis au microscope électronique à balayage (clichés M. de Rafélis, UPMC).

Cependant, d'autres phénomènes influencent la cathodoluminescence. La « sensitization » tout d'abord : des ions tels que le fer III (Fe^{3+}), le chrome (Cr^{3+}) ainsi que les Terres rares (Rare Earth Elements, $REE^{2+/3+}$) peuvent co-activer la luminescence en absorbant l'énergie disponible et en la transférant à un activateur, ce qui induit une luminescence plus élevée

que celle liée à la seule concentration en activateur. Plus encore, un sensitizer peut absorber une radiation à laquelle une impureté serait restée en dormance, et activer celle-ci en lui transférant l'énergie sous forme disponible. A l'inverse le « quenching » ou inhibition, impliquant principalement le fer II (Fe^{2+}) pour les carbonates, mais aussi le cobalt (Co^{2+}), le nickel (Ni^{2+}) consiste en une atténuation du signal, parfois jusqu'à extinction du signal de luminescence, par réabsorption de l'énergie d'émission de l'activateur. Un inhibiteur étant caractérisé par de faibles différences énergétiques entre l'état fondamental et les niveaux supérieurs, il ré-émet l'énergie dans l'infrarouge (Machel *et al.*, 1991 ; Bettiol *et al.*, 1999 ; Habermann *et al.*, 1999 ; Götte & Richter, 2009) et ne sera donc pas observé.

La concentration en activateur conditionne l'intensité lumineuse, dans la mesure où une quantité minimum est nécessaire à la détection, mais aussi dans le fait qu'une trop forte concentration induirait un « selfquenching » par résonance électromagnétique (Machel *et al.*, 1991). Dans l'aragonite, la cathodoluminescence semble corrélée de façon linéaire avec la concentration en manganèse, pour autant que celle-ci n'excède pas 1500 ppm et que la concentration en Fe^{2+} , principal quencher, ne dépasse pas 2000 ppm (Götte & Richter, 2009).

3. Matériels et méthodes

3.1. Symétrie des valves

3.1.1. Site d'étude

Cette étude a été réalisée en baie de Somme située en Manche orientale. La baie de Somme constitue une vaste zone intertidale de 72 km² (Duhamel, 1994) entre le Pays de Caux et le détroit du Pas-de-Calais. La Somme draine un bassin versant de 5560 km² et son débit moyen est de $33,5 \pm 11,7 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (moyenne de 1963 à 1997). D'autres cours d'eau alimentent la baie mais leurs débits sont négligeables par rapport à celui de la Somme. Le bassin versant est occupé par des activités agricoles de culture (65 % du territoire est occupé par les céréales) et aussi par des activités industrielles (secteur agro-alimentaire).

Les courants de marée affectant la zone d'estuaire sont légèrement giratoires avec des intensités maximales en surface orientées nord-est au flot et sud-ouest à ouest au jusant. L'orientation est la même sur toute la colonne d'eau mais l'intensité est plus faible au fond.

En ce qui concerne la circulation des masses d'eau, on peut mettre en évidence un courant résiduel au jusant orienté vers l'ouest pour la surface et vers le nord-ouest au fond (Loquet, 2001). La salinité peut varier de 18 à 35 en fonction de la zone (Rybarczyk, 1993). Les sédiments sont du type sables fins et vases.

Cette zone comprend 4 gisements de coques, deux principaux au nord du chenal et deux au sud de celui-ci (Fig. 15).



Figure 15 : Localisation des gisements de coques de la baie de Somme ; en mauve les secteurs Nord, en rouge les secteurs Sud.

3.1.2. Plan d'échantillonnage

524 coques ont été échantillonnées aléatoirement sur les différents gisements de la baie de Somme à une fréquence bimensuelle entre le 26 mars et le 26 juin 2008 (Tab. 2).

Tableau 2 : Calendrier d'échantillonnage des coques de baie de Somme.

Date	Secteur	Nombre de coques
26 mars	nord	29
28 mars	sud	40
09 avril	nord	27
10 avril	sud	118
22 avril	nord	24
23 avril	sud	133
06 mai	nord	10
07 mai	sud	54
22 mai	sud	6
24 juin	nord	51
26 juin	nord	32

3.1.3. Mesures et pesées

Les coquilles ont été soigneusement lavées, séchées, puis chacune des valves a été identifiée et répertoriée. Chaque valve a été pesée à l'aide d'une balance de précision au dixième de milligramme (Fig. 16) et analysée avec le logiciel TNPC (Traitement Numérique des Pièces Calcifiées) développé par l'Ifremer, nécessitant l'utilisation d'une loupe binoculaire associée à une caméra numérique, permettant d'obtenir la longueur, la largeur et la surface avec une précision de 0,01mm (Fig. 17).



Figure 16 : Pesée de la valve à l'aide d'une balance de précision.

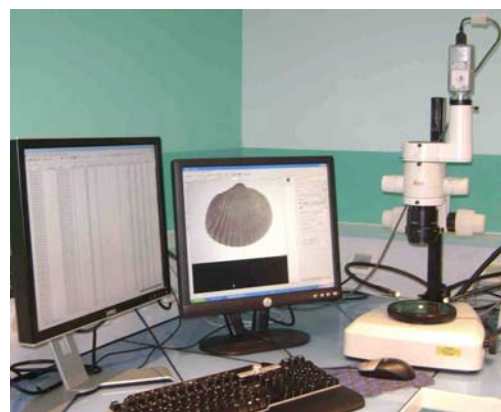


Figure 17 : Analyse numérique des paramètres morphométriques d'une valve à partir du logiciel TNPC.

3.2. Marquage de coques

3.2.1. Site expérimental

Le site expérimental est situé dans la partie nord de la baie de Somme où sont présents 2 gisements exploités de coques (Fig. 18). Le gisement appelé CH4 a été retenu pour implanter le site expérimental car il présente toutes les classes de taille de coques.



Figure 18 : Localisation du dispositif expérimental pour le marquage des coques.

3.2.2. Structure expérimentale

La structure expérimentale consiste en un quadrillage de 9 cubes de 50 cm d'arête, fermé sur le haut et les côtés afin d'isoler les différents lots de coques (Fig. 19). Le bas des cubes reste ouvert car les coques ne s'enfouissent pas au-delà de 10 cm. La structure est enfouie sur 30 cm pour ne pas que les coques ne s'échappent par le fond et émerge de 20 cm pour garder une marge en cas d'ensablement.

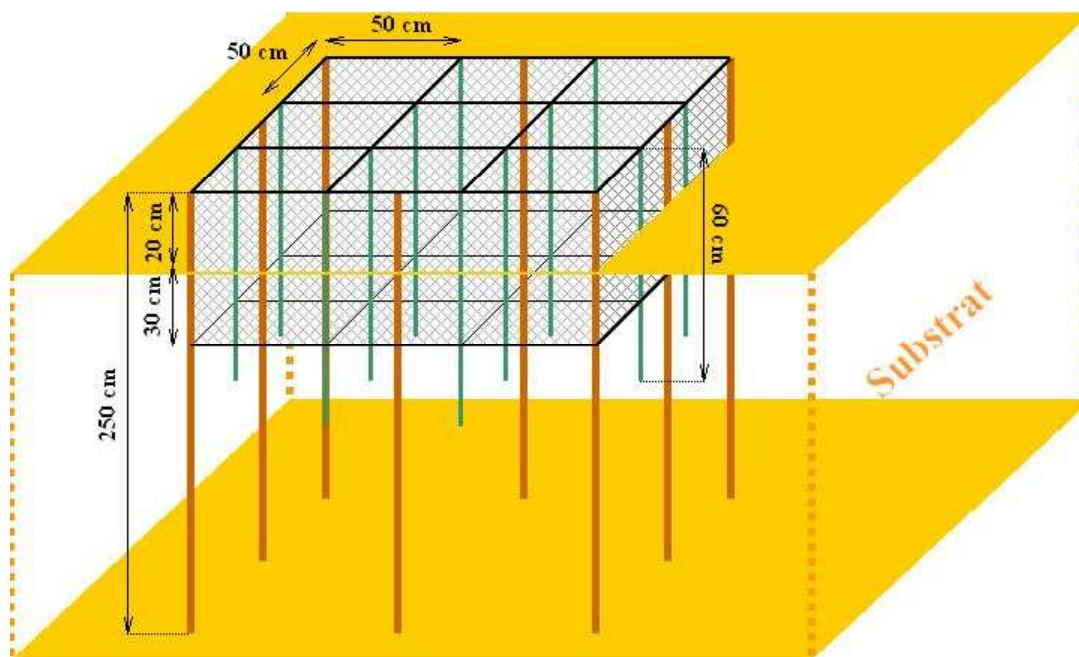


Figure 19 : Schéma de la structure expérimentale.

Préalablement, des réunions ont été effectuées avec les professionnels et une fiche d'information (Annexe 1) a été envoyée à tous les acteurs de la baie de Somme. La réalisation s'est effectuée en plusieurs étapes. Tout d'abord, grâce à la contribution des professionnels (Charles Derosière et sa famille ; Michel Nicolay) et des garde-jurés (Philippe Desmaret, Jean-Michel Petit) du CRPMEM (Comité Régional des Pêches Maritimes et des Elevages Marins), huit pieux de 2,50 m ont ainsi pu être installés à l'aide d'une grue afin de faire le cadre de la structure externe (Fig. 20).



Figure 20 : Mise en place des pieux de mytiliculture à l'aide d'une grue.

Puis, l'intérieur de la zone a été creusée, d'une part pour enlever les coques, d'autre part pour installer le grillage galvanisé à maille carrée de 6,4 mm, cloué sur les pieux, qui délimite le périmètre du cadre extérieur (Fig. 21).



Figure 21 : Mise en place du grillage pour délimiter le périmètre extérieur de la zone.

Dans un deuxième temps, neuf pieux biseautés de 60 cm ont été plantés, reliés aux pieux de 2,50 m par du grillage galvanisé afin de réaliser neuf compartiments distincts de 50 cm² (Fig. 22). La zone a été remblayée et soigneusement inspectée pour ôter toute coque de la structure.



Figure 22 : Réalisation des 9 compartiments au sein de la structure.

Enfin, une fois le marquage effectué à St Valéry sur Somme dans les locaux du GEMEL (Groupe d'Etude du Milieu Estuarien et du Littoral) et les coques replacées dans les différents compartiments de la zone d'étude, la structure a été recouverte par le même grillage à maille carrée sur sa totalité (Fig. 23).



Figure 23 : Fermeture de la structure par du grillage galvanisé à maille carrée.

3.2.3. Marquage

Le marquage a été effectué le 8 avril 2009. 900 coques ont été prélevées aléatoirement autour de la structure expérimentale puis amenées au GEMEL où elles ont été séparées en 9 lots de 100 coques (Fig. 24).



Figure 24 : Sélection des 9 lots de 100 coques réalisés au GEMEL.

Chaque lot a été identifié selon le traitement chimique qu'il allait subir et toutes les coques du lot ont été préalablement mesurées en longueur et en largeur à l'aide d'un pied à coulisse d'une précision au 0,5 mm (Fig. 25).



Figure 25 : Mesures des coques d'un lot au pied à coulisse.

3.2.4. Marqueurs utilisés

Aucune étude de marquage ayant été réalisée sur la coque, le comportement des marqueurs vis à vis de cette espèce, et inversement, reste incertain. Ainsi, différentes concentrations ont été testées selon plusieurs temps de balnéation, en accord avec la littérature, afin de mieux appréhender cette technique sur la coque. Sur les 9 lots, 3 ont été marqués à la calcéine (Tab. 3), 4 au manganèse (Tab. 4) et 2 sont des lots témoins.

Tableau 3 : Marquages à la calcéine selon la concentration et le temps d'exposition.

Concentration (mg.L ⁻¹)	Temps de balnéation	
50	03h00	
150	00h30	06h00

Tableau 4 : Marquages au manganèse selon la concentration et le temps d'exposition.

Concentration (mg.L ⁻¹)	Temps de balnéation	
90	00h30	04h00
120	00h30	01h00

Les 9 lots de coques sont donc immergés dans une solution d'eau de mer prélevée aux abords de la zone d'étude, dans laquelle ont été ajoutées les différentes quantités de marqueurs chimiques, et ce, pendant la durée de balnéation (Fig. 26).

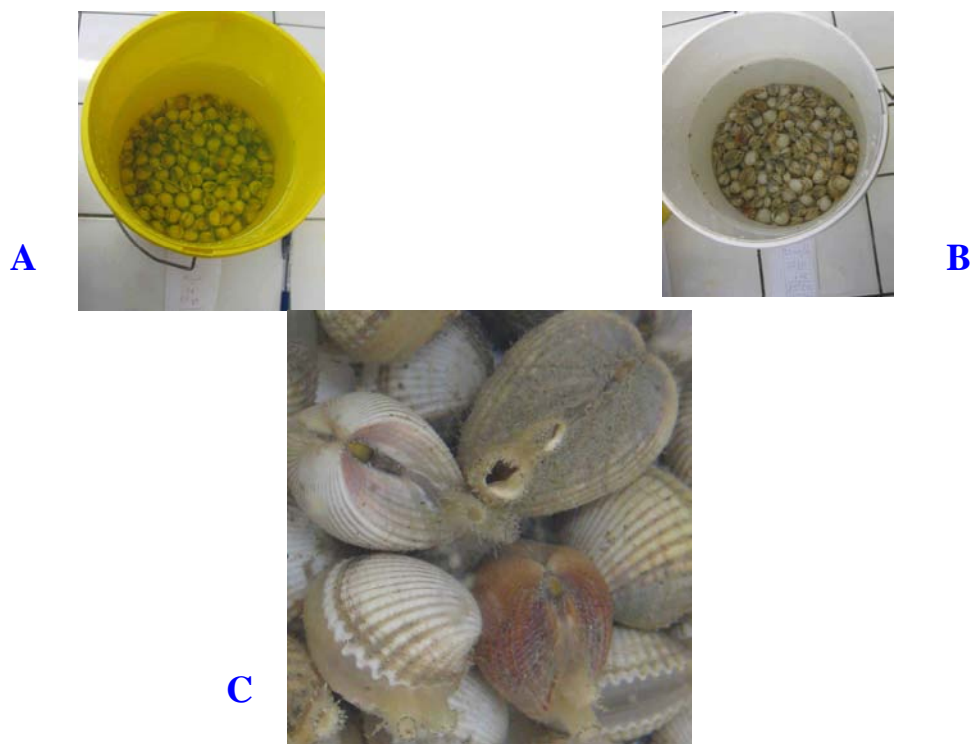


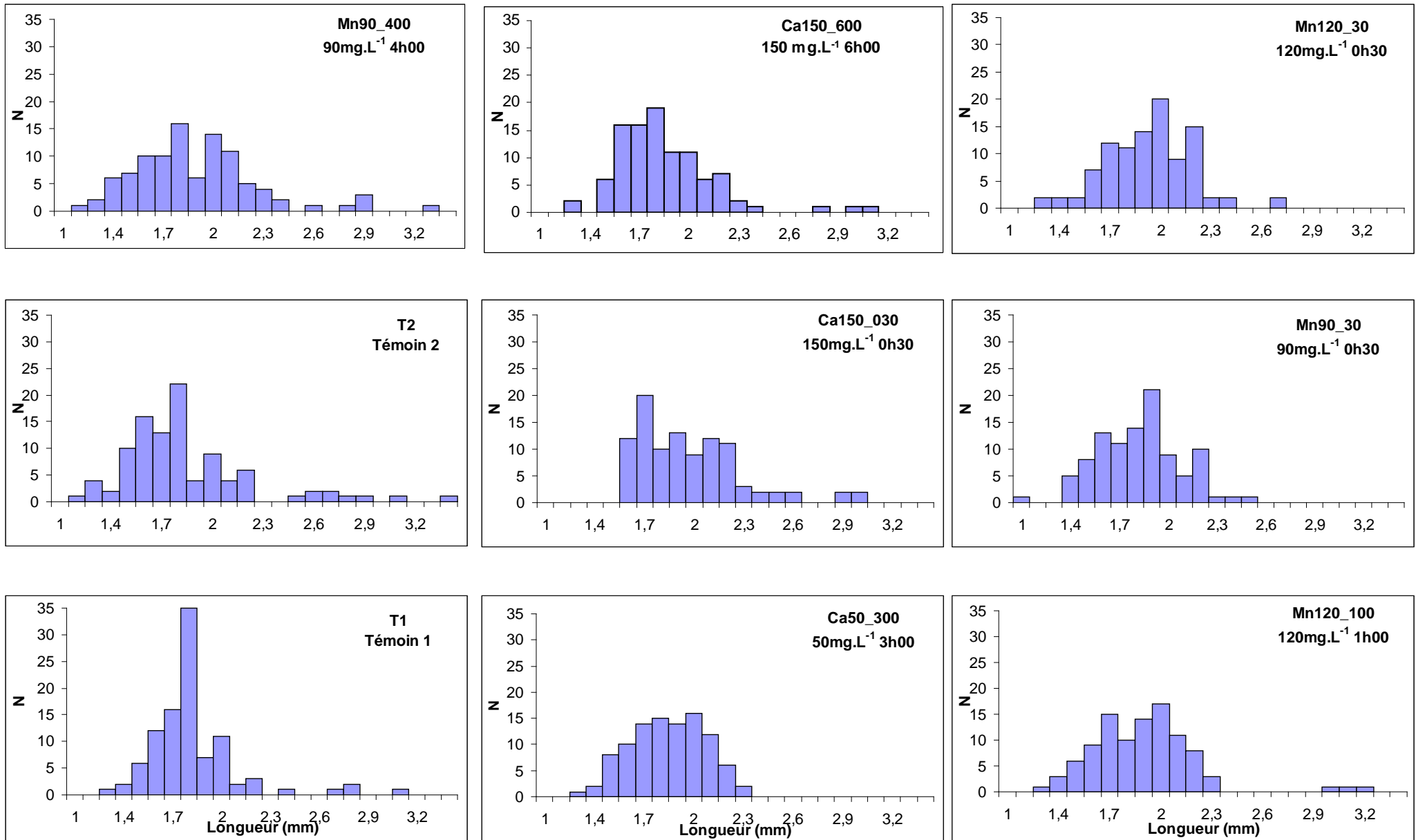
Figure 26 : Marquages de coques à la calcéine (A) et au manganèse (B). Quelques instants après l'immersion des coques dans l'eau de mer contenant le marqueur, elles commencent à filtrer (C).

Les différents lots de coques sont réintégré dans leur milieu naturel au sein de la structure expérimentale et identifiés dans les 9 compartiments (Fig. 27 & 28).



Figure 27 : Implantation des coques marquées dans la structure expérimentale.

Figure 28 : Répartition des lots de coques marquées dans la structure expérimentale avec leur numéro d'identifiant (MarqueurConcentration_Temps de balnéation).



3.2.5. Analyse des échantillons

3.2.5.1. Préparation des échantillons

Chaque coque de chaque lot est identifiée ainsi que ses valves gauche et droite. L'analyse morphométrique est la même que celle présentée dans le paragraphe 3.1.3. Par la suite, une valve est préparée pour analyser la croissance. Elle est coulée dans une résine époxy avant d'être découpée en lame mince grâce à une tronçonneuse de précision (Fig. 29).

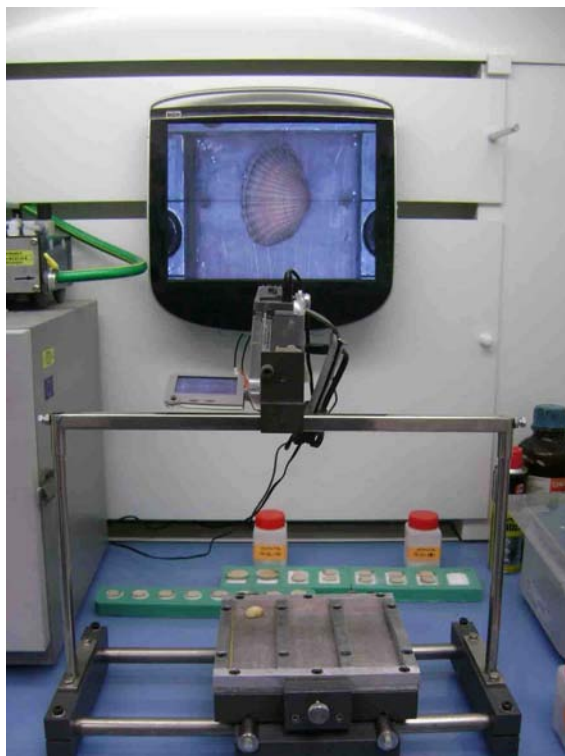


Figure 29 : Mise en résine des valves.

Un polissage préalable est réalisé pour obtenir des lames minces exploitables en utilisant une granulométrie décroissante de 600 à 4000, afin d'enlever les rayures résultant du tronçonnage. Dans le cas du polissage de précision, les 2 faces de la lame sont polies jusqu'au quart de micron et l'épaisseur finale de celle-ci est inférieure à 100 microns.

3.2.5.2. Traitement chimique : solution de Mutvei

La solution de Mutvei, du nom de son inventeur Harry Mutvei, est une technique chimique permettant la visualisation des microstructures par coloration. Elle se compose d'acide acétique, de glutéraldéhyde et de bleu d'alcian (Fig. 30)



Figure 30 : Composants de la solution de Mutvei.

Le principe consiste à effectuer une attaque acide ménagée des carbonates de calcium tout en fixant la matrice organique et colorant les mucopolysaccharides qui la composent (Schöne *et al.*, 2005). Ainsi, il est possible d'observer, sous lumière réfléchie, le squelette teinté bleu des incréments de croissance. D'une manière générale, l'observation d'une coquille traitée à la solution Mutvei sera une sorte de « négatif » de l'observation faite par cathodoluminescence (marquage de la trame organique vs squelette minéral).

Ces analyses ont été effectuées en collaboration avec Franck Lartaud à l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM). Pour 200 mL de solution de Mutvei, 100 mL d'acide acétique à 1%, 100 mL de glutéraldéhyde à 25% et 1,0 g de bleu d'alcian ont été associés. Des lames de coques ont été préalablement préparées, polies jusqu'au quart de micron à l'aide d'une solution d'alumine, puis plongées dans la solution de Mutvei maintenue à 40°C (Fig. 31).

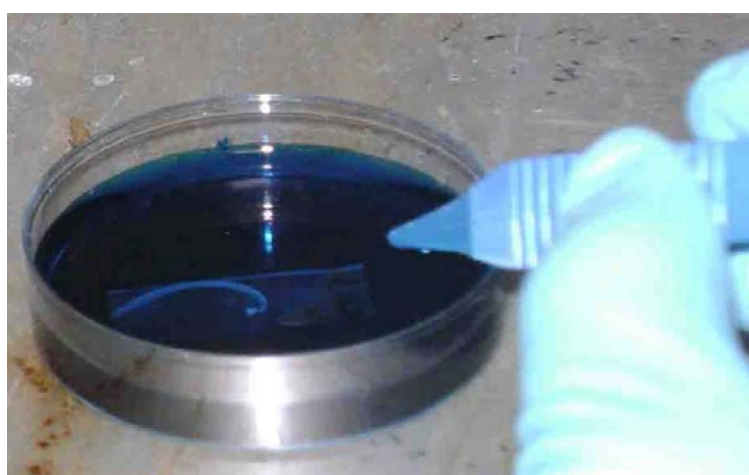


Figure 31 : Balnéation d'une lame de coque dans la solution de Mutvei.

3.2.5.3. Analyse par fluorescence

La calcéine (CAS 1461-15-0) est un fluorochrome qui se lie au calcium et s'incorpore donc dans la coquille. Elle est révélée sous microscopie à épifluorescence par excitation en lumière bleue (460-490 nm) et ré-émission à 520 nm (Fig. 32) de couleur verte (Kaehler & MacQuaid, 1998 ; Moran & Marko, 2005 ; Riascos *et al.*, 2007 ; Herrmann, *In. Press.*).



Figure 32 : observation d'un échantillon sous microscopie à épifluorescence.

3.2.5.4. Analyse par cathodoluminescence

L'analyse par cathodoluminescence s'est effectuée en collaboration avec Marc de Rafélis au laboratoire « Biominéralisations et Paléoenvironnements » de l'université de Pierre & Marie Curie. Le dispositif utilisé a été développé avec la société OPEA (Fig. 33). Il s'agit d'une cathodyne (cathode froide) associée à un microscope optique Nikon (objectifs x3.5, x5 et x20). L'acquisition d'image est numérique (boîtier Réflex Nikon D70). Le système de pompage est assuré par une pompe à palette.

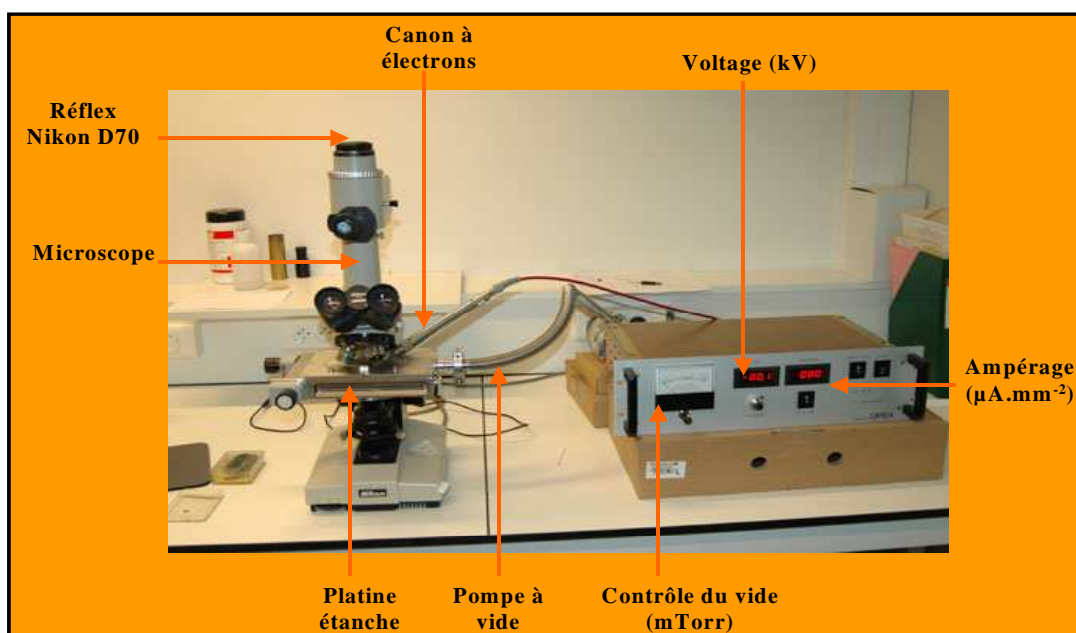


Figure 33 : Cathodoluminescence d'un échantillon par bombardement électronique contrôlé.

L'échantillon préalablement poli est placé au sein de la platine étanche, puis une fois un vide suffisant obtenu (60 milliTorrs), le canon à électrons peut être démarré. Afin d'obtenir une cathodoluminescence optimale, le voltage doit atteindre 12 à 20 kV et 200 à 400 $\mu\text{A}\cdot\text{mm}^{-2}$. Il est possible de modifier la vitesse d'obturation afin de capter au mieux le signal lumineux.

4. Résultats

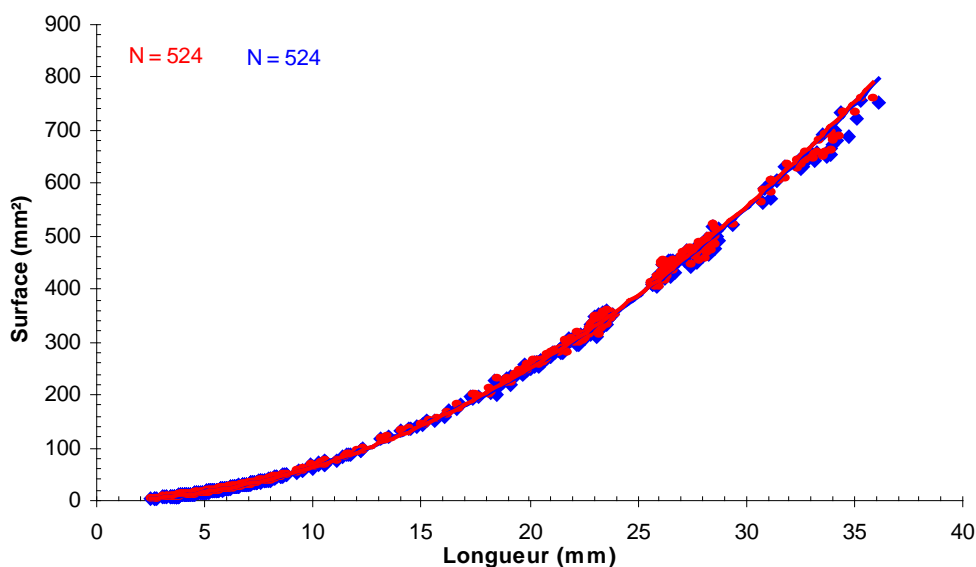
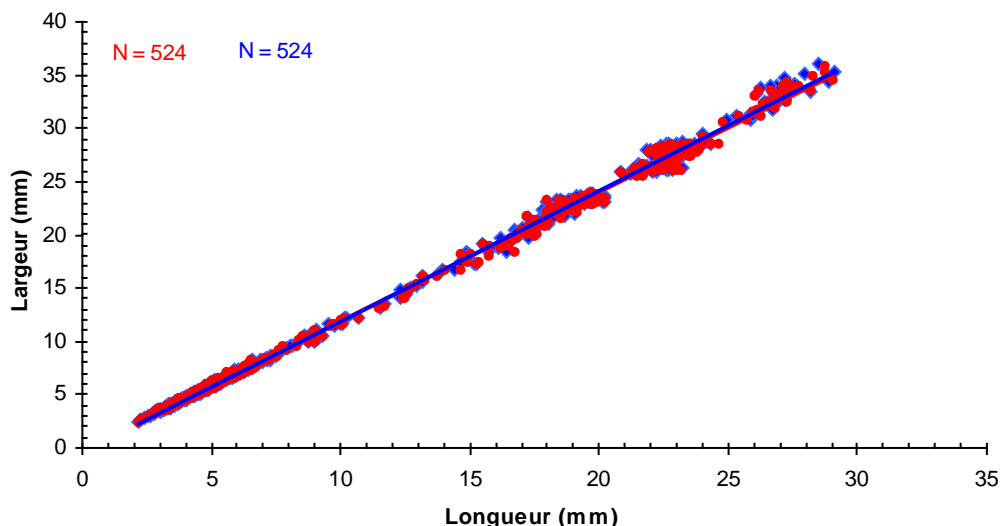
4.1. Morphologie des valves

4.1.1. Relation entre la Longueur, la Largeur, le Poids et la Surface

La longueur étant le paramètre morphométrique déterminant la taille commerciale des coques, celle-ci a été choisie en abscisse dans cette étude comparative.

Pour comparer les valves gauche et droite, 524 coques, prélevées en 2008, ont été étudiées.

L'analyse des relations longueur/largeur, longueur/poids et longueur/surface montrent qu'elles sont comparables entre la valve gauche et la valve droite (Fig.34). De plus, il est à remarquer que les courbes longueur/largeur montrent des relations linéaires, alors que celles des courbes longueur/surface et longueur/poids sont de forme exponentielles.



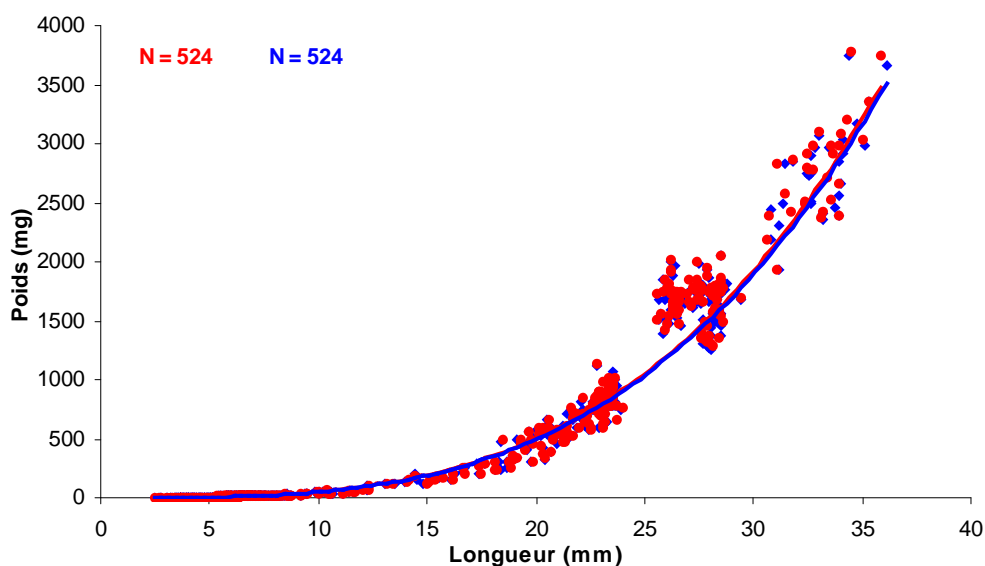


Figure 34 : Relation entre la longueur et les autres paramètres morphométriques (largeur, poids, surface) des valves gauche (bleu) et droite (rouge).

Les relations longueur/largeur, longueur/surface et longueur/poids présentent des coefficients de corrélations proches de 1 avec un nombre d'échantillons important (N=524) ce qui traduit de fortes relations entre ces différents paramètres (Tab. 5).

Tableau 5 : Relations entre la longueur et la largeur, la surface et le poids (R² : coefficient de corrélation, N : nombre d'échantillons) pour les valves gauche et droite.

	Relation Longueur/Largeur	R ²	Relation Longueur/Surface	R ²	Relation Longueur/Poids	R ²	N
Valve Gauche	$y = 1,2203x - 0,2729$	0,9981	$y = 0,6829x^{1,969}$	0,9997	$y = 0,0236x^{3,320}$	0,993	524
Valve Droite	$y = 1,2131x - 0,2214$	0,9979	$y = 0,6821x^{1,971}$	0,9997	$y = 0,0237x^{3,323}$	0,993	524

Par ailleurs, si la relation longueur/poids présente un coefficient d'allométrie « b » proche de 3 ce qui indique une croissance de type isométrique ce qui signifie que le poids de la valve s'accroît proportionnellement au cube de sa longueur. Dans cette étude, le coefficient d'allométrie est majorant car supérieure à 3 pour les valves droite et gauche (b = 3,32), indiquant une croissance légèrement plus rapide en poids qu'en longueur.

4.1.2. Symétrie des valves

Des analyses statistiques ont été utilisées pour tester la symétrie des 2 valves d'une même coquille à partir de 4 descripteurs que sont le poids, la longueur, la largeur et la surface.

4.1.2.1. Test de la normalité de distribution (Q-Q Plot)

Le Quantile-Quantile plot (Q-Q plot ; Fig.35) est le traçage des quantiles d'une distribution versus les quantiles d'une autre distribution. Il permet de comparer la distribution d'un même descripteur entre la valve gauche et la valve droite.

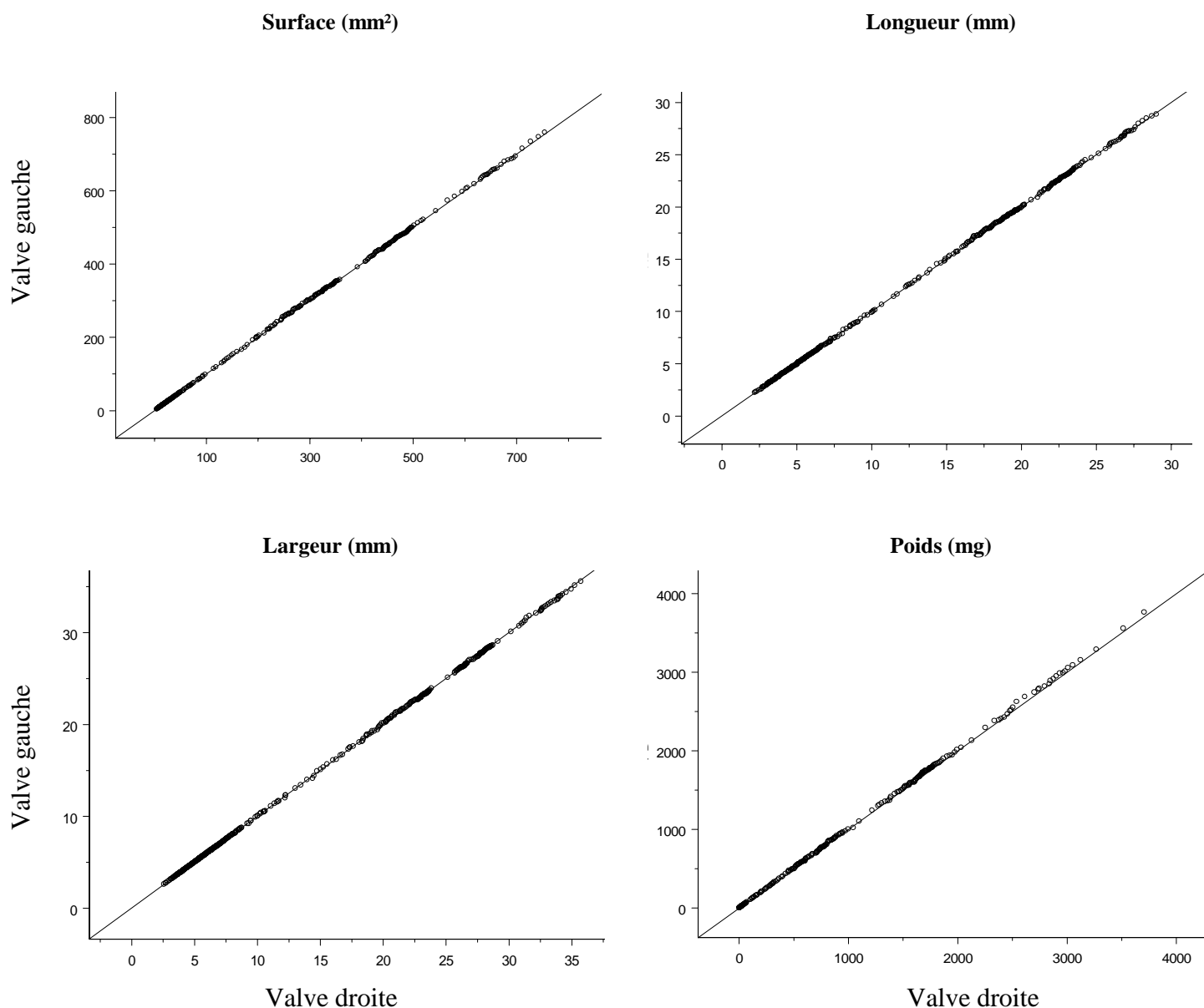


Figure 35 : Test de normalité de distribution entre les valves gauche (axe des abscisses) et droite (axe des ordonnées) pour les 4 paramètres morphométriques testés.

4.1.2.2. Test de rang de Spearman

Ce test analyse l'existence de liens entre deux variables X et Y quantitatives mesurées sur une même série d'individus.

Le coefficient de corrélation r' est ainsi calculé et une matrice de corrélation est obtenue pour les 4 descripteurs de la valve gauche et de la valve droite (Tab.6).

Tableau 6 : Matrice de corrélation du test de rang de Spearman.

		Valve droite			
		SURFACE	HAUTEUR	LONGUEUR	POIDS
valve gauche	SURFACE	1,000	0,999	0,999	0,993
	LONGUEUR	0,999	0,998	1,000	0,992
	HAUTEUR	0,999	0,999	0,998	0,994
	POIDS	0,993	0,994	0,992	1,000

Le test de normalité de distribution (Fig. 36) et la matrice de corrélation du test de rang de Spearman (Tab. 6) montrent qu'il existe une symétrie significative entre la valve gauche et la valve droite d'une coque.

Ces résultats ont fait l'objet d'un poster présenté lors d'un colloque international Physiomar en septembre 2008 (Annexe 2).

4.2. Marquage

Avant la recapture finale des coques marquées du 4 mai, un premier prélèvement de 10 coques par type de marquage a été réalisé au bout de 12 jours. La structure expérimentale était alors intacte, sans creusement, ensablement ou accumulation d'algues. Cependant, entre le 13^{ième} et le 30^{ième} jour (recapture finale), le sédiment s'est progressivement creusé autour de la structure, découvrant le grillage par le fond. Par conséquent, les lots de coques témoins sont inutilisables. Néanmoins, tout au long de l'expérience, aucune mortalité particulière n'a été constatée parmi les différents lots.

Les résultats présentés ci-dessous concernent les coques issues du premier prélèvement.

4.2.1. Temps et concentrations des marqueurs

4.2.1.1. Calcéine

L'observation sous microscopie à épifluorescence montre que les différents marquages à la calcéine ont tous été concluants, sans variation d'intensité, et ce, quelque soit le temps de baignation (6, 3 et 0,5 heures) et la concentration (respectivement 150, 50 et 150 mg.L⁻¹) (Fig. 36-38).

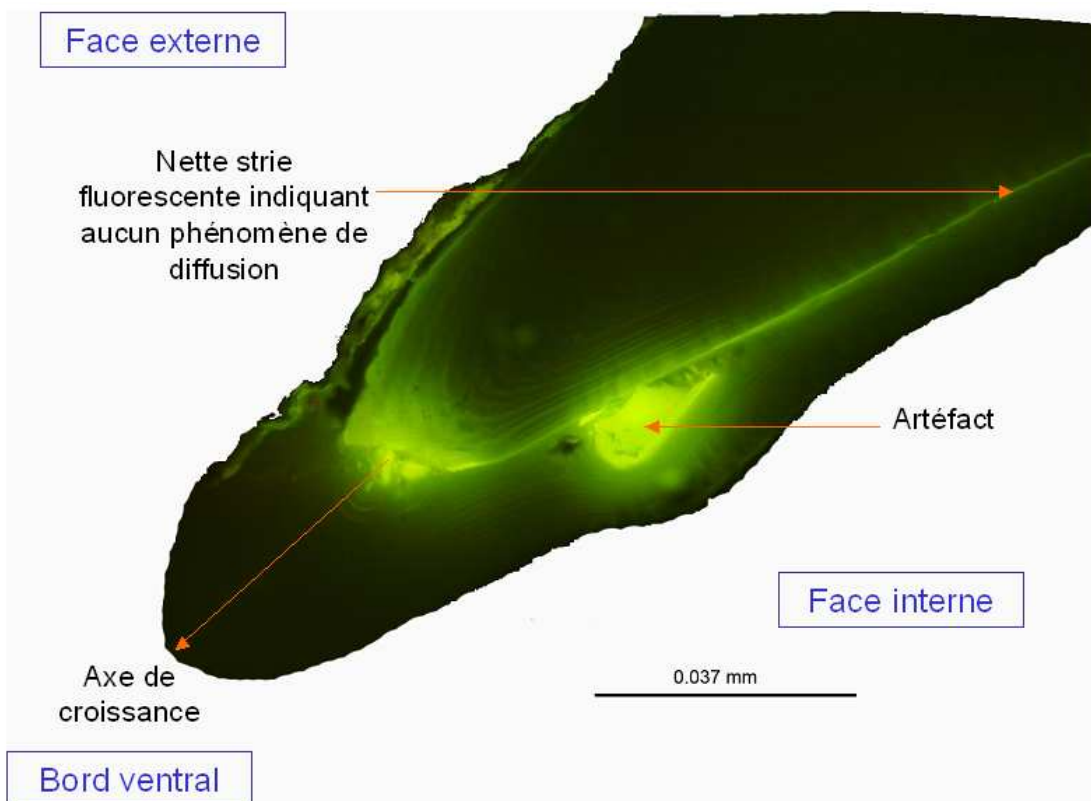


Figure 36 : Observation de la strie fluorescente d'une coque marquée pendant 6 heures à 150 mg.L⁻¹ de calcéine.

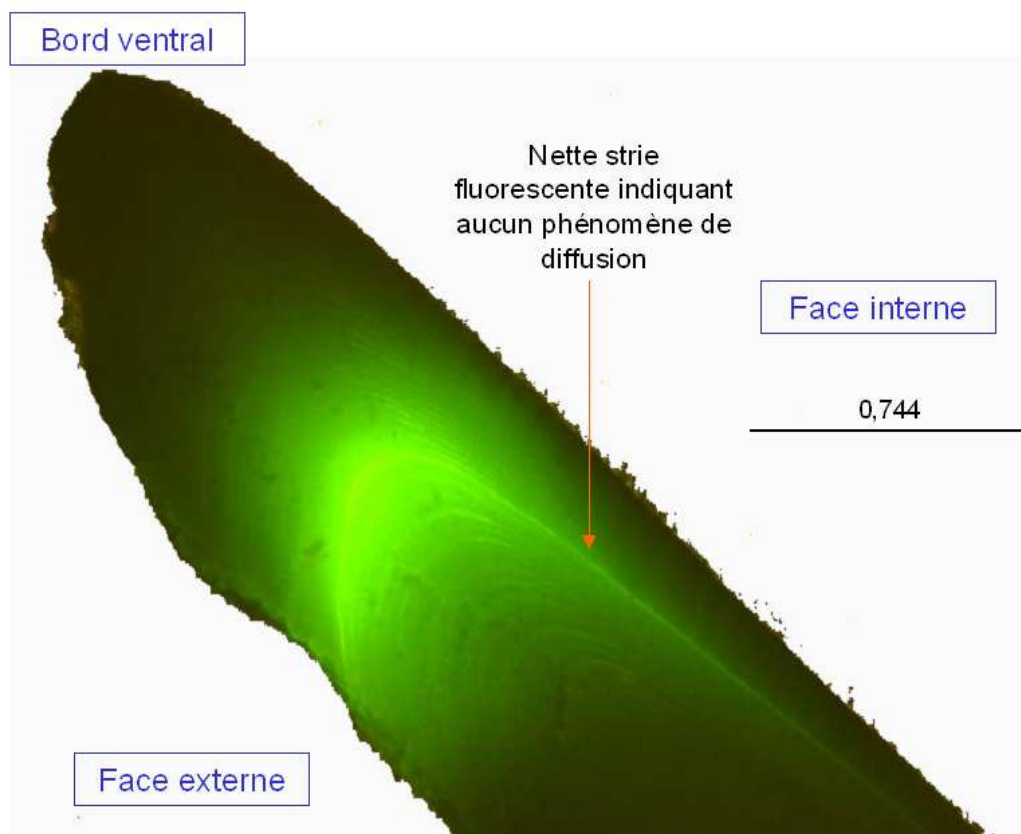


Figure 37 : Observation de la strie fluorescente d'une coque marquée pendant 3 heures à 50 mg.L⁻¹ de calcéine.

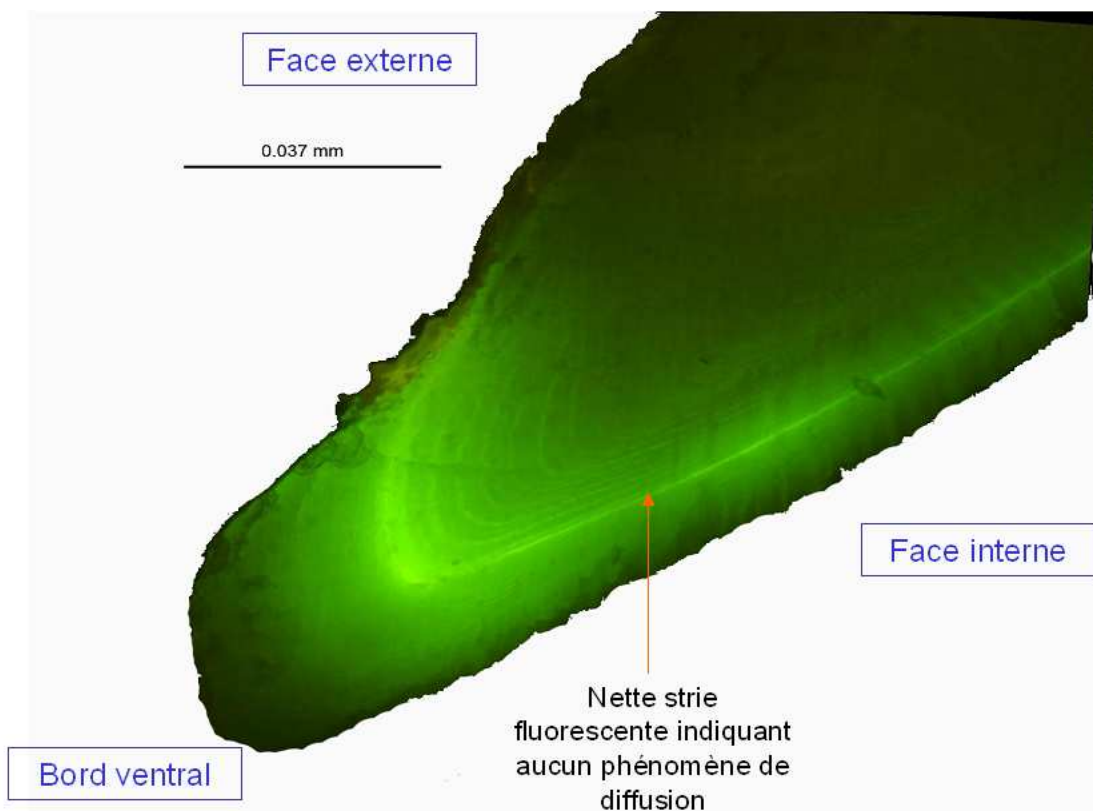


Figure 38 : Observation de la strie fluorescente d'une coque marquée pendant 30 minutes à 150 mg.L⁻¹ de calcéine.

4.2.1.2. Manganèse

Quatre marquages ont été réalisés au manganèse selon des concentrations (90, 120 mg.L⁻¹) et des temps de balnéation différents (4, 1, 0,5 heures). Les 2 marquages effectués pendant des temps d'immersion de 30 minutes ne montrent pas de résultats probants (Fig. 39). Par contre, les deux autres marquages (120 mg.L⁻¹ pendant 1 heure et 90 mg.L⁻¹ pendant 4 heures) présentent une marque nette (Fig. 40-41), d'intensité légèrement plus forte pour ce dernier (Fig. 41). Il semblerait donc que le temps d'immersion des coques dans la solution de manganèse soit le facteur limitant.

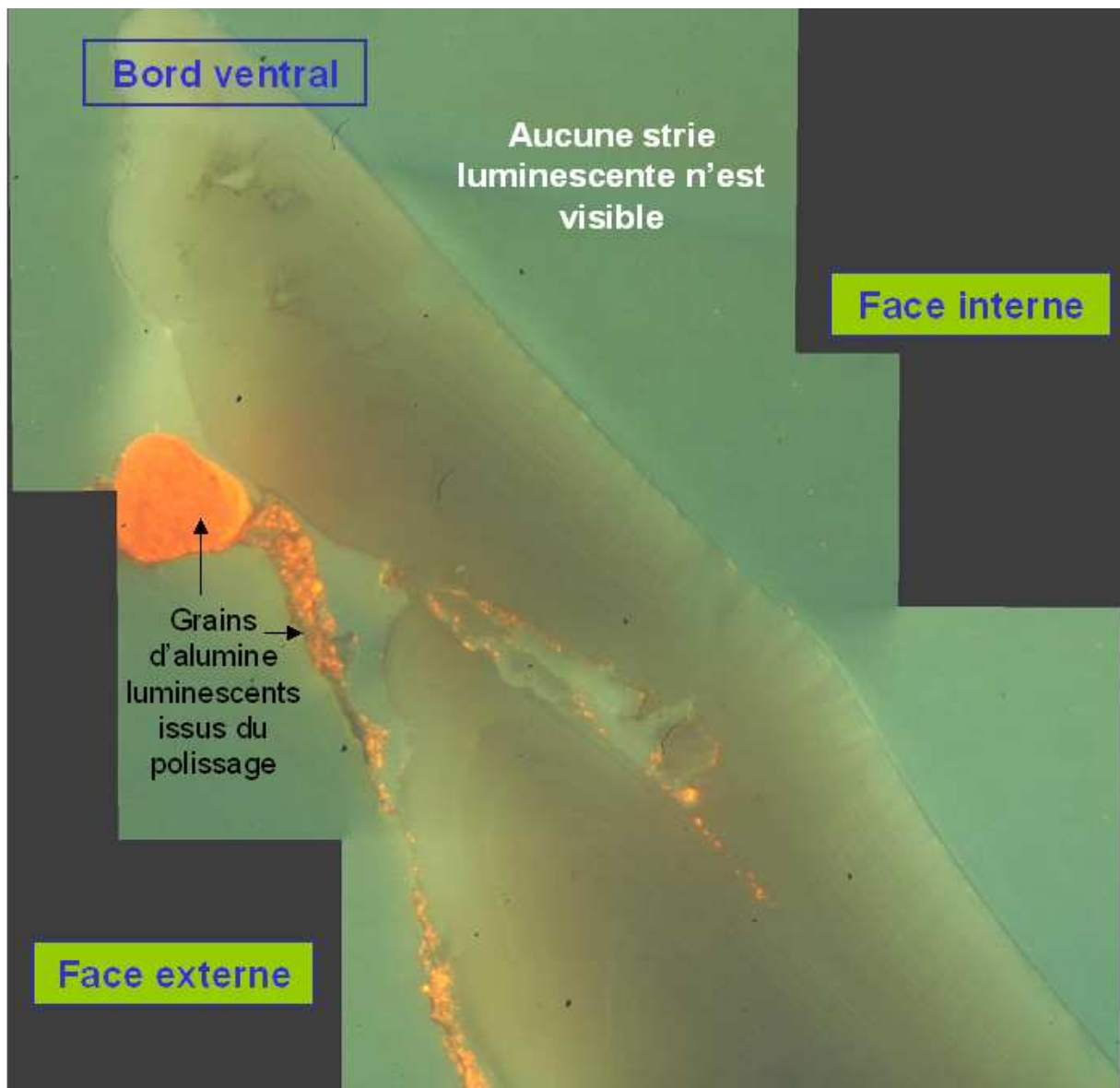


Figure 39 : Observation en cathodoluminescence d'une coque marquée au manganèse pendant 30 minutes

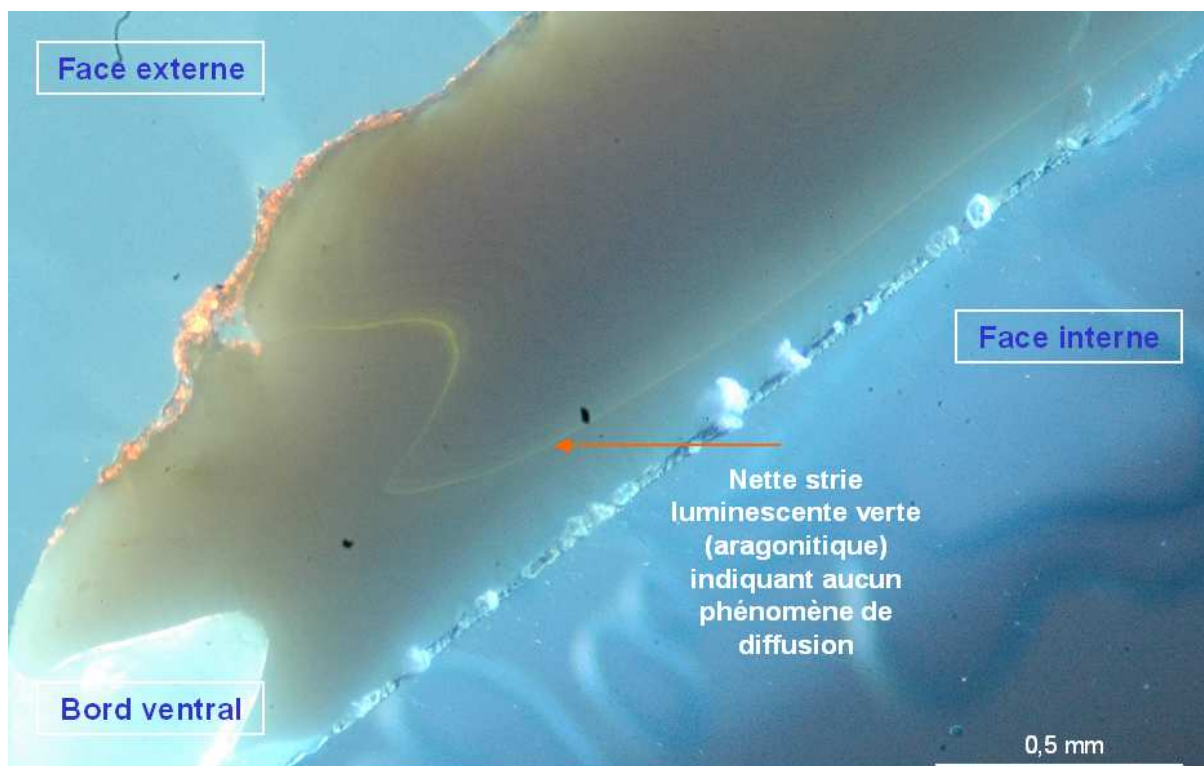


Figure 40 : Observation en cathodoluminescence de la strie d'une coque marquée au manganèse pendant 1 heure à la concentration de 120 mg.L⁻¹.

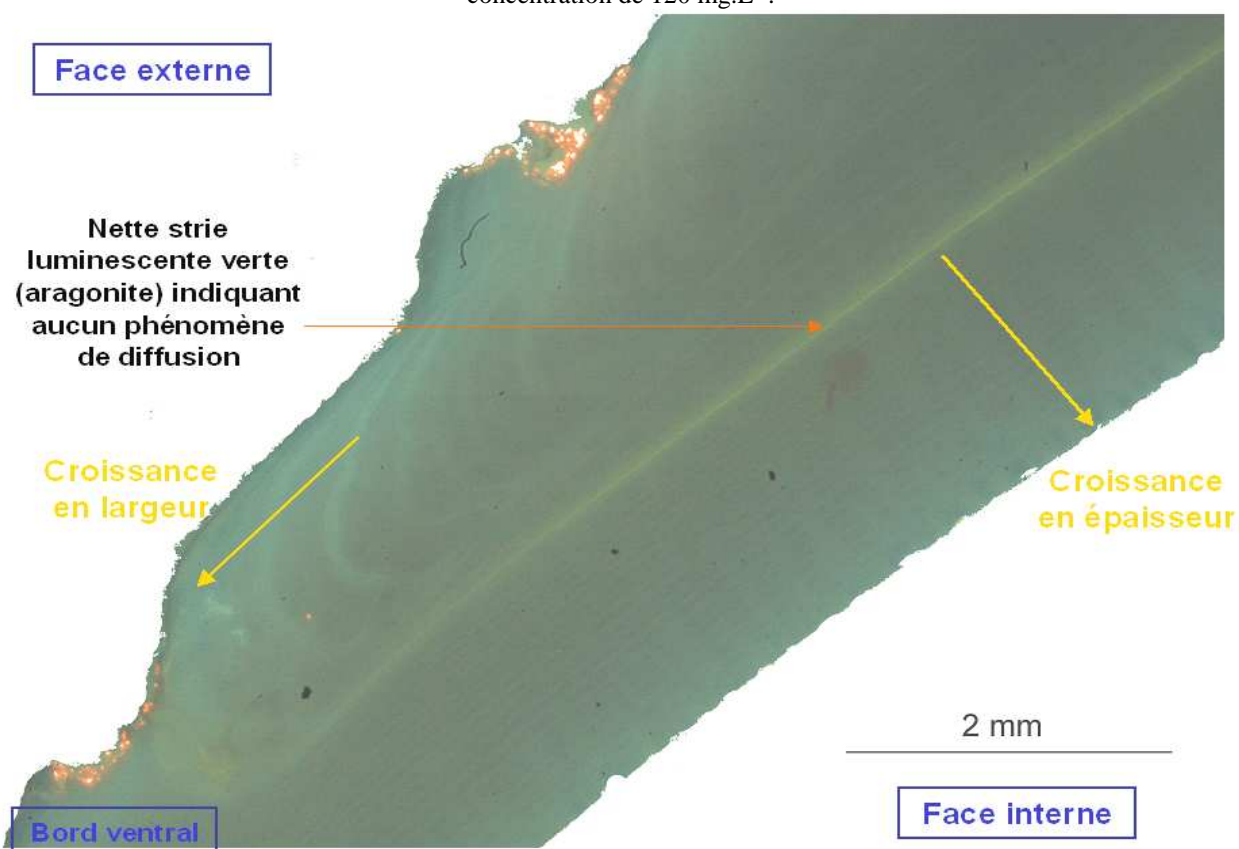


Figure 41 : Observation en cathodoluminescence de la strie d'une coque marquée au manganèse pendant 4 heures à la concentration de 90 mg.L⁻¹.

4.2.2. Validation de la périodicité des incréments

Pour valider la périodicité de formation des incréments, des lames ont été préparées selon 2 méthodes, d'une part un polissage de précision et d'autre part une attaque acide par la solution de Mutvei.

La solution de Mutvei a été testée avec plusieurs temps d'immersion de la lame : 10, 20, 25, 35 minutes. Ces tests n'ont pas permis d'accroître la précision obtenue par le polissage de précision (Fig. 42).

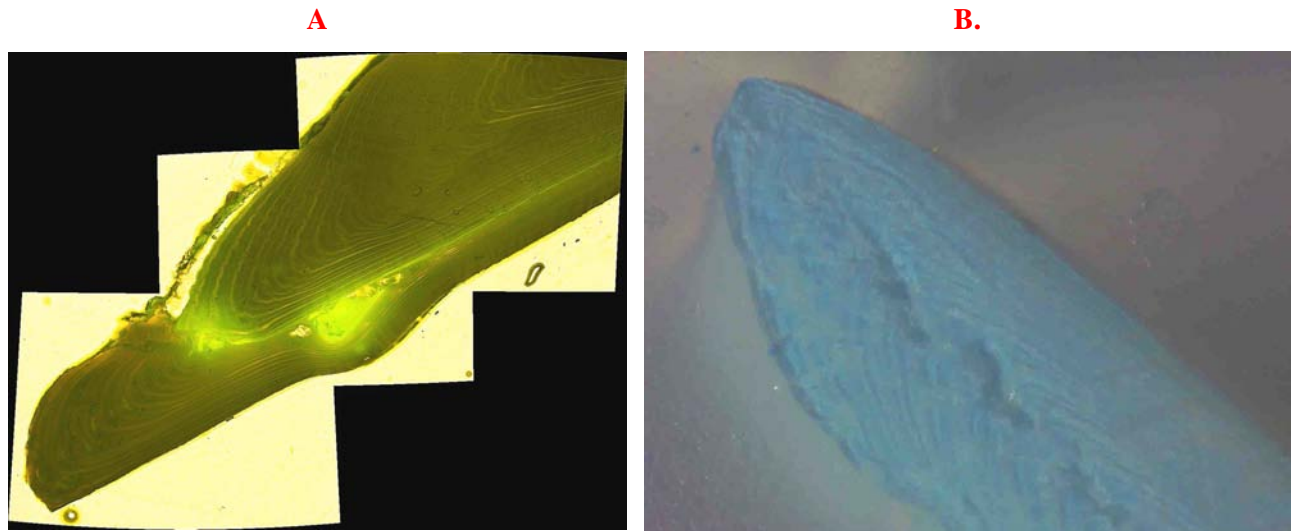


Figure 42 : Coupe de coques observée après un polissage de précision (A.) et après une attaque acide à la solution de Mutvei (B.).

Pour estimer le nombre d'incréments entre le marquage et la recapture (le bord postérieur de valve), les nuances de gris sont observées tout le long de la radiale (A) parallèle à l'axe de croissance (Fig. 43) à l'aide du logiciel TNPC. En suivant simultanément la courbe du graphique (B) obtenu et le pointeur le long de la radiale, il est possible de valider les pics représentatifs de niveaux de gris (D) en terme d'anneaux de croissance. Ce procédé est plusieurs fois répété pour une même valve. Une dizaine d'individus ont ainsi été analysés.

En moyenne, 23 anneaux ont pu être dénombrés correspondant aux 23 marées survenues entre le 08 avril PM (date de marquage) et le 20 avril midi (date de recapture). Après avoir calculé les distances inter-anneaux, il a été établi qu'un incrément mesurait en moyenne $6,7 \mu\text{m}$ avec un écart-type de $1,9 \mu\text{m}$.

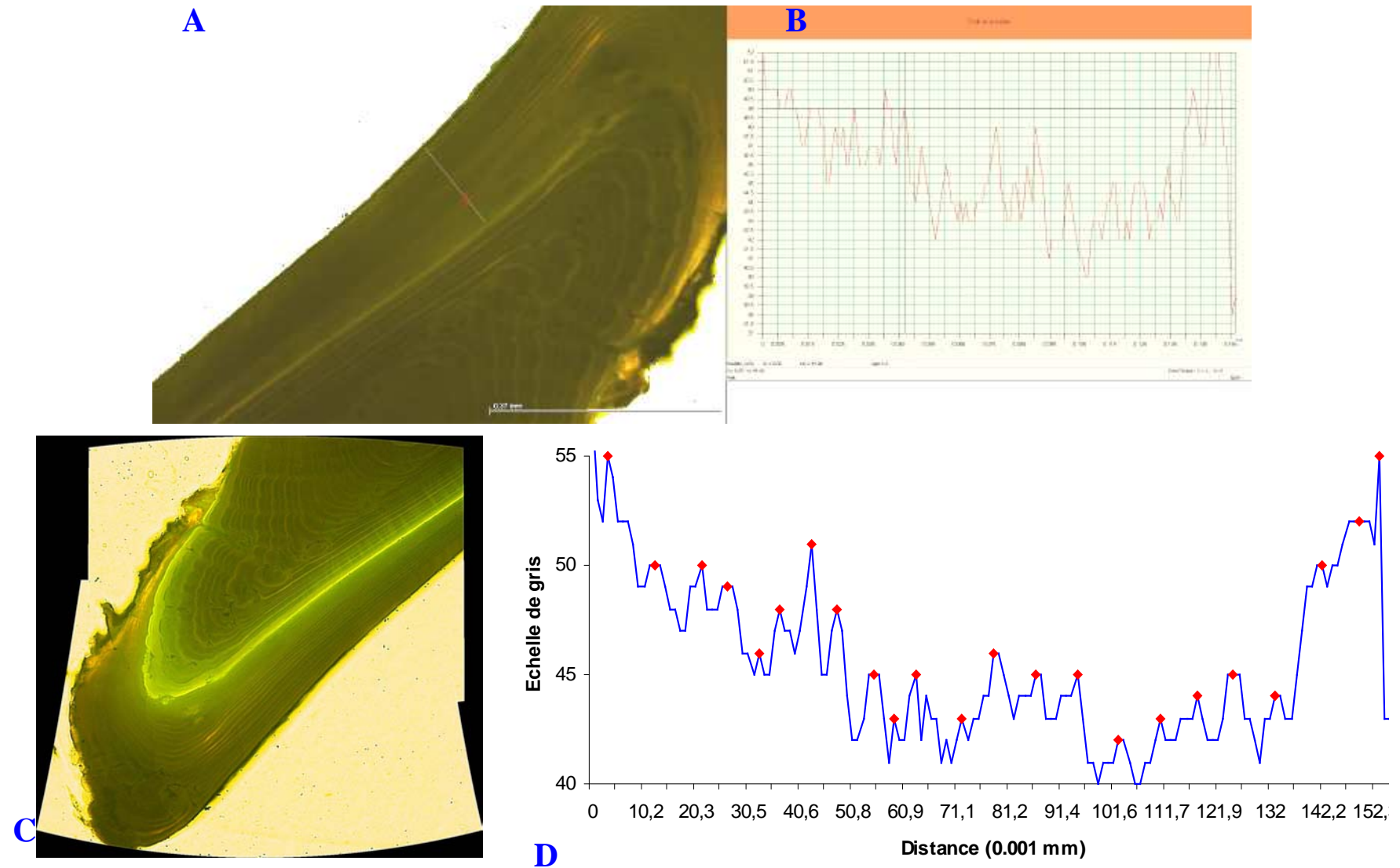


Figure 43 : A) Traçage de la radiale. B) Graphique des niveaux de gris. C) Visualisation de la strie fluorescente. D) Dénombrement des incréments par une échelle de niveaux gris à l'aide du logiciel TNPC.

4.2.3. Croissance de la coque

Durant ce travail, la croissance en longueur et en largeur de deux coques a été mesurée à l'aide du logiciel TNPC entre la date de marquage et la date de recapture (12 jours) (Fig. 44).

Ceci dans le but d'avoir des premiers résultats de la croissance ou de la "pousse" des coques fortement attendus par les professionnels. Pour la croissance en largeur, l'angle entre l'axe de croissance et le plan horizontal a été mesuré sur l'image de la valve entière et retranscrit sur l'image du bord de la coquille marquée. La deuxième étape a consisté à projeter la distance entre la marque de fluorescence et le bord de la valve dans le plan horizontal. En obtenant ainsi les largeurs, les longueurs ont été calculées à partir des équations obtenues entre ces 2 paramètres.

Ces résultats montrent que pour des coques de 18,52 et 18,36 mm, la croissance en 12 jours est de 2,58 et 2,81% (Tab. 7). La croissance étant de type exponentielle, le taux de croissance des coques de petite taille serait plus élevé, alors qu'à l'inverse il serait plus faible pour des coques de grande taille.

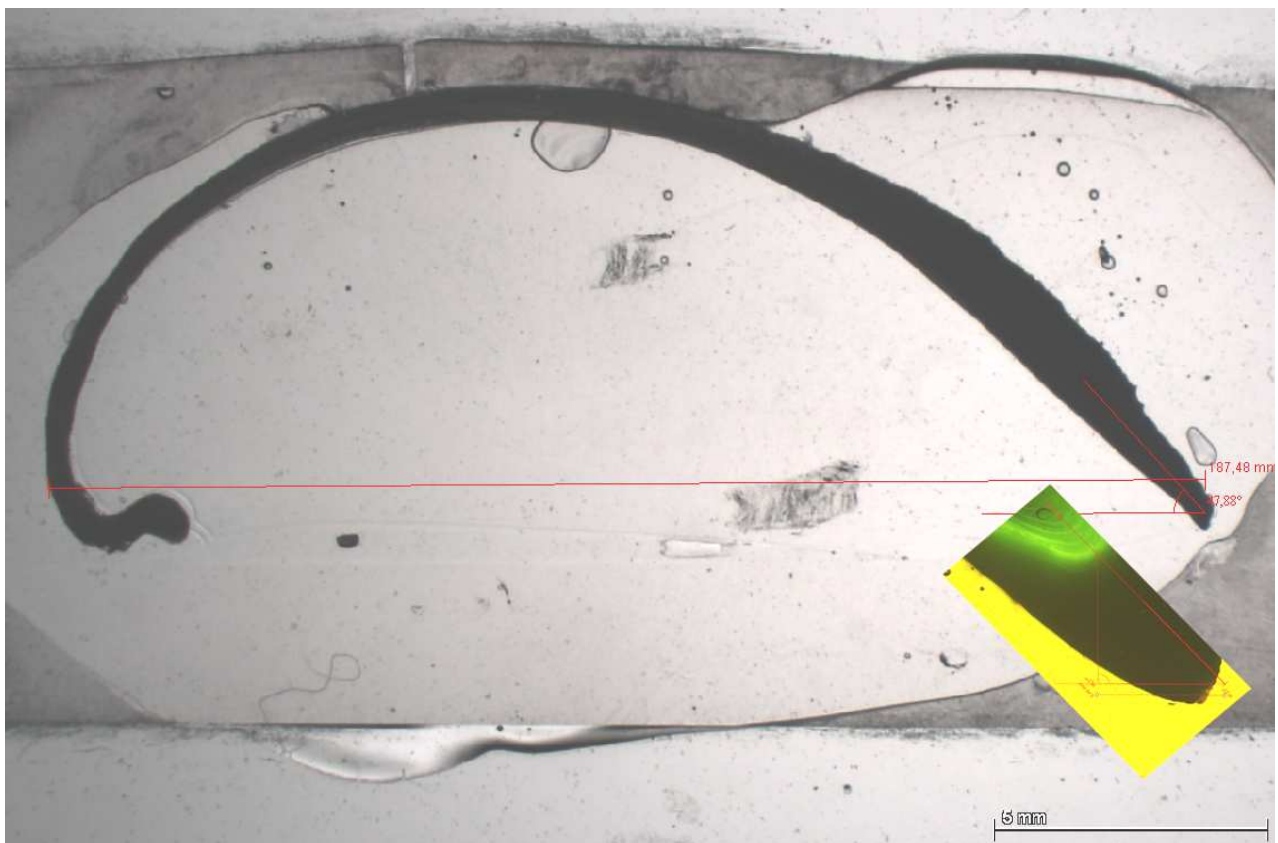


Figure 44 : Mesure de la largeur de la valve et de la distance entre la zone de marquage et le bord de la valve sur un axe commun.

Tableau 7 : Croissance mesurée en largeur et en longueur pour 2 coques entre le marquage et la recapture soit 12 jours.

N° Coques	Marquage (08/06/09)		Recapture (12/06/09)		Croissance mesurée en largeur (mm)	
	Largeur(mm)	Longueur(mm)	Largeur(mm)	Longueur(mm)	Distance	Pourcentage
1	18,52	15,48	19,01	15,88	0,49	2,58 %
2	18,36	15,35	18,89	15,78	0,53	2,81 %

5. Discussion

A ce jour, aucune étude de marquage chimique interne utilisant des fluorochromes ou du manganèse n'avait été réalisée sur *Cerastoderma edule*. Des essais effectués sur la coquille externe ont montré qu'il n'était pas possible de mettre en évidence des structures de croissance.

De ce fait, la morphométrie des valves droite et gauche a été comparée à travers 4 paramètres que sont le poids, la longueur, la largeur et la surface afin de caractériser chacune d'elles. Aucune différence significative n'a été observée, la coque est un bivalve parfaitement symétrique, contrairement à ce qui peut être indiqué dans la littérature où la coquille de ce mollusque est qualifiée de légèrement dissymétrique. La valve droite ou la valve gauche peut donc être utilisée sans distinction dans l'étude de la coquille.

De plus, cette analyse morphométrique a permis de mettre en évidence de très fortes corrélations entre ces 4 paramètres.

Pour observer la croissance des coques, il a été nécessaire d'analyser les structures internes de la coquille. Pour cela, une étude de marquage est optimale. Elle permet non seulement d'identifier précisément ces structures, mais aussi de connaître avec exactitude la croissance des individus marqués. Cette étude avait 2 objectifs : d'une part, sa faisabilité, d'autre part, la validation de la périodicité des incréments de croissance.

La faisabilité d'une étude de marquage est décrite par la structure expérimentale et par l'observation du marquage dans la structure interne de la coquille.

La structure expérimentale choisie est un cube fixé au niveau du sédiment de 50 cm de côté ouvert dans sa partie basse. Cette structure, permettant de positionner les coques après marquage sans qu'elles soient enfermées, a montré des taux de mortalité très faibles dans les différents lots. Après 12 jours, la structure n'avait pas subi de modifications et un premier prélèvement de 10 coques de chaque lot a été effectué. Entre le 13^{ième} et le 30^{ième} jour, une dépression tout autour de la structure s'était formée emportant beaucoup de sédiment sableux. Ainsi, la hauteur de 50 centimètres, limitant la structure par le fond, devrait être fortement augmentée pour agir pendant des durées d'un mois ou plus. Cependant, la structure étant fixée avec des pieux ensablés de 2 mètres, n'a pas été éprouvée pendant le marquage.

Cette étude de marquage chimique *in situ* a été réalisée à l'aide de calcéine et de manganèse. Les échantillons ont été répartis en 9 lots égaux et homogènes comprenant 2 témoins et 7 lots présentant des marquages à la calcéine ou au manganèse avec des temps de balnéation et des concentrations différents. Les 3 lots marqués à la calcéine présentent une nette strie de marquage alors qu'il est très difficile de l'observer pour 2 des 4 lots marqués avec le manganèse. En conclusion, le marquage est réalisable pour la calcéine avec un temps de balnéation de 30 minutes et une concentration de 150 mg.L⁻¹, alors que pour le manganèse, le temps minimum de balnéation est d'une heure pour une concentration de 120 mg.L⁻¹. Les expériences au manganèse montrent que le temps de balnéation semble être un facteur beaucoup plus limitant que la concentration.

Lorsque la strie de marquage est observable, la largeur de celle-ci est comparable aux largeurs des autres stries ce qui signifie que le phénomène de diffusion des marqueurs est très limité. Enfin, on peut noter que ces 2 marqueurs chimiques ne semblent pas influencer la mortalité des coques, que ce soit pendant le marquage ou après jusqu'à la recapture.

Parmi les mollusques, certaines espèces présentent des stries journalières, d'autres, des stries tidales soit 2 par jour. L'identification des incréments entre le marquage et le bord de la coquille a permis de mettre en évidence une moyenne de 23 stries pendant une durée de 12 jours comprenant 23 marées. En conclusion, la croissance de la coque s'effectue par biominéralisation d'incrémentes de rythmicité tidale.

Cette étude a permis de mettre en oeuvre une première étude de marquage chez la coque, de valider la périodicité des stries de croissance et de confirmer la structure aragonitique de la coquille.

6. Perspectives

Il serait nécessaire de continuer cette étude selon plusieurs axes de travail :

- Analyser la totalité de la valve des coques marquées pour en déterminer l'âge et ainsi établir un modèle de croissance.
- Coupler les marquages au manganèse avec, d'une part des analyses chimiques permettant de mieux comprendre les mécanismes de biominéralisation de la coquille ; d'autre part, avec le suivi des différents paramètres environnementaux afin de caractériser l'influence du milieu sur la croissance de la coque.
- Réaliser un modèle d'estimation d'âge à partir des les 4 paramètres morphométriques que sont le poids, la longueur, la largeur et la surface d'une valve. Ce modèle pourrait être un bon compromis entre la précision de l'âge et les moyens nécessaires à sa réalisation. Deux principales utilisations pourraient lui être applicables :
 - Scientifiquement, il permettrait d'inclure facilement l'âge dans des études portées sur d'autres problématiques telles que l'âge de première maturité sexuelle, le pouvoir reproducteur, l'âge au recrutement,...
 - En terme de gestion de la ressource, en permettant de prédire la taille qu'aurait une coque à court ou moyen terme, il constituerait un outil incontournable pour une gestion optimale des gisements de coques. Les périodes d'ouverture des gisements pour une pêche professionnelle pourraient ainsi être définies par anticipation de l'atteinte de la taille commerciale. Par ailleurs, cette anticipation de la période d'ouverture permettrait de planifier la mise en œuvre du réseau de surveillance REMI, support officiel pour l'estimation de la qualité microbiologique des zones de production conchylicole.

Bibliographie

- Almeida, F.P. & Sheehan, T.S. (Eds), 1997. Age Determination Methods for Northwest Atlantic Species, 10p.
- Amieux, P., 1982. La cathodoluminescence : méthode d'étude sédimentologique des carbonates. *Bulletin Centre de Recherche Exploration – Production Elf-Aquitaine*, **6** : 437-483.
- André, C. & Rosenberg, R., 1991. Adult-larval interactions in the suspension-feeding bivalves *Cerastoderma edule* and *Mya arenaria*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **71** : 227-234.
- Barbin, V., 2000. Cathodoluminescence in carbonate shells : Biochemical vs Diagenetic process. In : Pagel, M., Barbin, V., Blanc, P., Ohnenstetter, D. (Eds.), *Cathodoluminescence in Geosciences*. Springer Verlag, Berlin pp. 303-329.
- Barbin, V. & Garspard, D., 1995. Cathodoluminescence of recent articulate brachiopod shells. Implications for growth stages and diagenesis evaluation. *Géobios*, **M.S. 18** : 39-45.
- Barbin, V., Shein, E., Roux, M., Decrouez, D. & Ramseyer, K., 1991. Stries de croissance révélées par cathodoluminescence dans la coquille de *Pecten maximus* (L.) récent de la rade de Brest. *Géobios*, **24** : 65-70.
- Bashey, F., 2004. A comparison of the suitability of alizarin red S and calcein for inducing a nonlethally detectable mark in juvenile guppies. *Transactions of the American Fisheries Society*, **133 (6)** : 1516-1523.
- Bellamy, E., Mahé, K. & Lefebvre, A., 2008. Morphometry and growth of a Bivalve : the common cockle, *Cerastoderma edule* in the Bay of Somme. *Physiomar 08, 1-4 September 2008, Brest, France*, poster.
- Bettioli, A.A., Yang, C., Hawkes, G.P., Jamieson, D.N., Malmqvist, K.G. & Day, R.W., 1999. The identification of growth lines in abalone shell using a nuclear microprobe. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, **B 158** : 299-305.
- Boulding, E.G. & van Alstyne, K.L., 1993. Mechanisms of differential survival and growth of two species of *Littorina* on wave-exposed and on protected shores. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **169** : 139-166.
- Bourget, E. & Brock, V. 1990. Short-term shell growth in bivalves : individual, regional and age-related variations in the rhythm of deposition of *Cerastoderma (=Cardium) edule*. *Marine Biology*, **106** : 103-108.
- Bourget, E. & Crisp, D.J., 1975b. An analysis of the growth bands and ridges of barnacles shell plates. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **55** : 231-249.
- Brooks, K.M., 2001. Chugach Regional Resources Commission Bivalve Enhancement Program Bivalve inventories and native littleneck clam (*Protothaca staminea*) culture studies, *Exxon Valdez Oil Spill Trustee Council Project Number 95131, Final Report*, 151p.
- Bubel, A., 1973. An electron-microscope study of periostracum formation in some marine bivalves : the origin of the periostracum. *Marine biology*, **20** : 213-221.
- Cain, A.J., Cook, L.M. & Currey, J.D., 1990. Population size and morph frequency in a long-term study of *Cepaea nemoralis*. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B., Biol. Sci.*, **240** : 231-250.
- Campana, S.E., Neilson, J.D., 1985. Microstructure of fish otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **42** : 1014-1032.
- Cardoso, J.F.M.F., Witte, Johannes II. & van der Veer Henk, W., 2006. Reproductive investment of the bivalves *Cerastoderma edule* (L.) and *Mya arenaria* L. in the Dutch Wadden Sea. *Report of Royal Institute for Sea Research*.

- Cardoso, J.F.M.F., Langlet, D., Loff, J.F., Martins, A.R., Witte, J.I.J., Santos, P.T. & van der Veer, H.W., 2006. Spatial variability in growth and reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) along the west European coast. *Journal of Sea Research*, **57** : 303-315.
- Carré, M., Bentaleb, I., Bruguier, O., Ordinola, E., Barrett, N.T. & Fontugne, M., 2006. Calcification rate influence on trace element concentrations in aragonitic bivalve shells : Evidences and mechanisms. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **70** : 4906-4920.
- Cerrato, R.M., 2000. What fish biologists should know about bivalve shells. *Fisheries Research*, **46** : 39-49.
- Cerrato, R.M., Wallace, H.V.E. & Lightfoot, K.G., 1991. Tidal and seasonal patterns in the chondrophore of the soft-shell clam *Mya arenaria*. *Biol. Bull.*, **181** : 307-311.
- Chateignier, D., Hedegaard, C. & Wenk, H.-R., 2000. Mollusc shell microstructures and crystallographic textures. *Journal of Structural Geology*, **22** : 1723-1735.
- Chicharo, L. & Chicharo, A., 2001. Effects of environmental conditions on planktonic abundances, benthic recruitment and growth rates of the bivalve mollusc *Ruditapes decussatus* in a Portuguese coastal lagoon. *Fisheries Research*, **53** : 235-250.
- Clark, G.R., 1975. Periodic growth and biological rhythms in experimentally grown bivalves. *In.*: Rosenberg, G.D. & Runcorn, S.K., *Growth rhythms and the history of the earth's rotation* : 103-107. John Wiley & Sons (eds), London.
- Cole, H.A., 1956. A preliminary study of growth-rate in cockles (*Cardium edule* L.) in relation to commercial exploitation. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer.*, **22** : 77-90.
- Crisp, D.J. & Richardson, C.A., 1975. Tidally produced internal bands in the shell of *Elminius modestus* (Darwin). *Marine Biology*, **33** : 155-160.
- Dabouineau, L. & Ponsero, A., 2004. Synthèse sur la biologie des coques *Cerastoderma edule*. *Réserve Naturelle Baie de St Brieuc*.
- Dare, P.J., Bell, M.C., Walker, P. & Bannister, R.C.A., 2004. Historical and current status of cockle and mussel stocks in The Wash. *CEFAS Lowestoft*, 85p.
- Day, R.W., Williams, M.C. & Hawkes, G.P., 1995. A comparison of fluorochromes for marking abalone shells. *Marine and Freshwater Research*, **46** (3) : 599-605.
- De Rafélis, M., Renard, M., Emmanuel, L. & Durllet, C., 2000. Apport de la cathodoluminescence à la connaissance de la spéciation du manganèse dans les carbonates pélagique. *Earth and Planetary Sciences*, **330** : 391-398.
- Desprez M., Ducrotoy J.P. & Elkaim, B., 1987. Crise de la production des coques (*Cerastoderma edule*) en baie de Somme. I Synthèse des connaissances biologiques. *Rev. Trav. Pêches marit.*, **49**, 215-230.
- Duhamel, S., 1994. L'écosystème Baie de Somme : Distribution des peuplements benthiques et ichtyologiques de l'espace intertidal et de ses abords. 2^{ème} partie : Ichtyofaune et crustacés suprabenthiques. *Observatoire Maritime Régional GEMEL, Conseil Régional Picardie*, 41p. + annexes.
- El Ali, A., Barbin, V., Calas, G., Cervelle, B., Ramseyer, K. & Bouroulec, J., 1993. Mn²⁺-activated luminescence in dolomite, calcite and magnesite : quantitative determination of manganese and site distribution by EPR and CL spectroscopy. *Chemical Geology*, **104** : 189-202.

- England, J., Cusack, M., Paterson, N.W., Edwards, P., Lee, M.R. & Martin, R., 2006. Hyperspectral cathodoluminescence imaging of modern and fossil carbonate shells. *Journal of Geophysical Research*, **111**, G03001, doi : 10.1029/2005JG000144.
- Evans, J.W., 1972. Tidal growth increments in the cockle *Clinocardium nuttalli*. *Science*, **176** : 416-417.
- Fahy, E., Carroll, J. & Murrin, S., 2005. The Dundalk Cockle *Cerastoderma edule* Fishery in 2003-2004. *Irish Fisheries Investigations*, **14** : 16p.
- FAOa, 2008. site web : <http://www.fao.org/fishery/species/3535/en>
- FAOb, 2008. site web : <http://www.fao.org/docrep/009/y5720f/y5720f06.htm#bm06>
- Fey, D.P. & Linkowski, T.B., 2006. Predicting juvenile Baltic cod (*Gadus morhua*) age from body and otolith size measurements. *ICES J. Mar. Sci.*, **63**: 1045-1052.
- Flach, E.C., 2003. The separate and combined effects of epibenthic predation and presence of macro-infauna on the recruitment success of bivalves in shallow soft-bottom areas on the Swedish west coast. *Journal of Sea Research*, **49** : 59-67.
- Fossen, I., Albert, O.T. & Nilssen, E.M., 2003. Improving the precision of ageing assessments for long rough dab by using digitised pictures and otolith measurements. *Fish. Res.*, **60** : 53-64.
- Gimazane, J.P. & Lubet, P., 1972. Etude expérimentale de l'action de nutrition, de la température et de la lumière sur le cycle sexuel de *Cardium edule* L. (Mollusque bivalve). *C.R. Soc. Biol. Fr.*, 166, 4, 592.
- Götte, T. & Richter, D.K., 2009. Quantitative aspects of Mn-activated cathodoluminescence of natural and synthetic aragonite. *Sedimentology*, **56** : 483-492.
- Guillou, J., Bachelet, G., Desprez, M., Ducrotoy, J.P., Madani, I., Rybarczyk, H., Sauriau, P.G., Sylvand, B., Elkaim, B., Glemarec, M., 1989. Les modalités de la reproduction de la coque (*Cerastoderma edule*) sur le littoral français de la Manche et de l'Atlantique. *Aquat. Living Resour.*, **3** : 29-41.
- Guillou, J. & Tartu, C., 1992. Reproduction et recrutement de la coque *Cerastoderma edule* L. à St-Pol-de-Léon (Bretagne-Nord). *Société française de Malacologie, Aspects récents de la biologie des Mollusques, Actes de colloques*, **13** : 29-38.
- Guillou, J. & Tartu, C., 1994. Post-larval and juvenile mortality in a population of the edible cockle *Cerastoderma edule* (L.) from Northern Brittany. *Journal of Sea Research*, **33** : 103-111.
- Habermann, D., Banerjee, A., Meijer, J. & Stephan, A., 2001. Investigation of manganese in salt- and freshwater pearls. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, **B 181** : 739-743.
- Habermann, D., Meijer, J., Neuser, R.D., Richter, D.K., Rolfs, C. & Stephan, A., 1999. Micro-PIXE and quantitative cathodoluminescence spectroscopy : combined high resolution trace element analysis in minerals. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, **B 150** : 470-477.
- Hancock, D.A., 1973. The relationship between stock and recruitment in exploited invertebrates. *P.V. réunion CIEM*, **164** : 113-131.
- Hawkes, G.P., Day, R.W., Wallace, M.W., Nugent, K.W., Bettiol, A.A., Jamieson, D.N. & Williams, M.C., 1996. Analyzing the growth and form of mollusc shell layers, in situ, by cathodoluminescence microscopy and Raman spectroscopy. *Journal of Shellfish Research*, **15 (3)** : 659-666.
- Hennebelle, J.M., 1975. La coque. *Thèse doctorat vétérinaire, Université de médecine de Créteil*, 100p.
- Henocque, Y., 1977. Etude de la croissance de mollusques bivalves par examen des stries d'accroissement de leur coquille. *Thèse de diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes Paris V*, 130p.

- Henri, P.-Y. & Jarne, P., 2007. Marking hard-shelled gastropods : tag loss, impact on life-history traits, and perspectives in biology. *Invertebrate Biology*, **126** (2) : 138-153.
- Hermann, M., *In Press*. Growth estimations of the argentinean wedge clam *Donax hanleyanus* : a comparison between length-frequency distribution and size-increment analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*
- Honkoop, P.J.C. & van der Meer, J., 1997. Experimentally induced effects of water temperature and immersion time on reproductive output of bivalves in the Wadden Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **220** : 227-246.
- Honkoop, P.J.C. & Beukema, J.J., 1997. Loss of body mass in three intertidal bivalve species : an experimental and observational study of the interacting effects between water temperature, feeding time and feeding behaviour. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **212** : 277-297.
- Honkoop, P.J.C., Beukema, J.J. & Kwast, D., 1995. Winter temperature and reproductive success in shellfish in the Dutch Wadden Sea. *In Climate Change Research : Evaluation and Policy Implications*. Zwever, S., van Rompaey, R.S.A.R., Kok, M.T.J. & Berk, M.M. (Eds.), 831-834.
- Honkoop P.J.C., van der Meer, J., Beukema, J.J. & Kwast, D., 1998. Reproductive investment in the intertidal bivalve *Macoma balthica*. *Journal of Sea Research*, **41** : 203-212.
- House, M.R. & Farrow, G.E., 1968. Daily growth banding in the shell of the cockle, *Cardium edule*. *Nature*, **219** : 1384-1386.
- IFREMER, 2002a. La qualité des eaux du littoral de la Somme - Les réseaux de surveillance - Bilan 1996-2001. *Rapport IFREMER, DDASS 80, AEAP, MISE 80, GEMEL, Conseil Général de la Somme*.
- Jacob, D.E., Soldati, A.L., Wirth, R., Huth, J., Wehrmeister, U. & Hofmeister, W., 2008. Nanostructure, composition and mechanisms of bivalve shell growth. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **72** : 5401-5415.
- Jensen, K.T. & Jensen, J.N., 1985. The importance of some epibenthic predators on the density of juvenile benthic macrofauna in the danish Wadden sea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **89** : 157-174.
- Kaehler, S. & McQuaid, C.D., 1999. Use of the fluorochrome calcein as an in situ growth marker in the brown mussel *Perna perna*. *Marine Biology*, **133** : 455-460.
- Kalish, J.M., Beamish, R.J., Brothers, E.D., Casselman, J.M., Francis, R.I.C.C., Mosegaard, H., Panfili, J., Prince, E.R., Thresher, R.E., Wilson, C.A. & Wright, P.J., 1995. Glossary for otolith studies. *In: Secor, D.H., Dean, J.M., Campana, S.E. (Eds.), Recent Developments in Fish Otolith Research*. University of South Carolina Press, Columbia, SC, 723-729.
- Kilada, R.W., Campana, S.E., and Roddick, D. 2007. Validated age, growth, and mortality estimates of the ocean quahog (*Arctica islandica*) in the western Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*, **64**: 31–38.
- Kobayashi, I. & Samata, T., 2006. Bivalve shell structure and organic matrix. *Materials Science and Engineering*, **C 26** : 692-698.
- Kracuter, J.N., Castagna, M. & Bisker, R., 1989. Growth rate estimates for *Busycon carica* (Gmelin, 1791) in Virginia. *J. Shellfish Res.*, **8** : 219-225.
- Langlet, D., Alunno-Bruscia, M., Rafélis, M., Renard, M., Roux, M., Schein, E. & Buestel, D., 2006. Experimental and natural cathodoluminescence in the shell of *Crassostrea gigas* from Thau lagoon (France) : ecological and environmental implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **317** : 143-156.
- Lartaud, F., 2007. Les fluctuations haute fréquence de l'environnement au cours des temps géologiques. Mise au point d'un modèle de référence actuel sur l'enregistrement des contrastes saisonniers dans l'Atlantique Nord. *Thèse de doctorat de l'université de Pierre et Marie Curie*, 308p. + annexes.

- Lartaud, F., Langlet, D., De Rafélis, M., Emmanuel, L. & Renard, M., 2006. Description of seasonal rhythmicity in fossil oyster shells *Crassostrea aginensis* Tournouer, 1914 (Aquitanian) and *Ostrea bellovacina* Lamarck, 1806 (Thanetian). Cathodoluminescence and sclerochronological approaches. *Géobios*, **39** : 845-852.
- Lefebvre A., 2008. Modélisation intégrée des transferts de nutriments depuis les bassins versants de la Seine, de la Somme et de l'Escaut jusqu'en Manche-Mer du Nord. *Ifremer, Convention de Recherche N°19-G/2003, Rapport final Projet Liteau II*, 110p.
- Lefebvre A. & Vérin F, 2008. Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole, départements du Nord, Pas-de-Calais et de la Somme. *Ifremer, Rapport final*, 51p.
- Lonne, O.J. & Gray, J.S., 1988. Influence of tides on microgrowth bands in *Cerastoderma edule* from Norway. *Marine Ecology Progress Series*, **42** : 1-7.
- Loquet, N., 2001. Dynamique des Echanges et Modélisation de la Production Primaire dans un Ecosystème Côtier Macrotidal en Manche Orientale. La Baie de Somme. *Thèse de l'Université de Paris 6*, 340p.
- Lucas, T., Palmer, P.J., Wang, S., Scoones, R. & O'Brien, E., 2008. Marking the shell of the saucer scallop *Amusium balloti* for sea ranching using oxytetracycline, calcein and alizarin red Z. *Journal of Shellfish Research*, **27** (5) : 1183-1188.
- Marin, F. & Luquet, C.R., 2004. Molluscan shell proteins. *C.R. Palevol* 3, 469-492.
- MarLIN, 2008. site web : http://www.marlin.ac.uk/species/adult_distrib_Cerastodermaedule.htm
- Marschal, C., Garrabou, J., Harmelin, J.G. & Pichon, M., 2004. A new method for measuring growth and age in the precious red coral *Corallium rubrum* (L.). *Coral Reefs*, **23** : 423-432.
- McConnaughey, T.A. & Gillikin, D.P., 2008. Carbon isotopes in mollusk shell carbonates. *Geo-Mar Lett.*, **28** : 287-299.
- Mileikovsky, S.A., 1971. Types of larval development of marine bottom invertebrates, their distribution and ecological significance : a reevaluation. *Mar. Biol.*, **10** : 193-213.
- Monaghan, J.P., 1993. Comparison of calcein and tetracycline as chemical markers in summer flounder. *Transactions of American Fisheries*, **122** (2) : 298-301.
- Monfort, A.F., 1967. Age and growth of *Cardium edule* from Vigo Bay. *Investigacion pesquera*, **31**, 167.
- Moran, A.L., 2000. Calcein marker in experimental studies newly-hatched gastropods. *Marine Biology*, **137** (5-6) : 893-898.
- Moran, A.L. & Marko, P.B., 2005. A simple technique for physical marking of larvae of marine bivalves. *Journal of Shellfish Research*., **24** (2) : 567-571.
- Neri, R., Schifano, G. & Papanicolaou, C., 1978. Effects of salinity on mineralogy and chemical composition of *Cerastoderma edule* and *Monodonta articulata* shells. *Marine Geology*, **30** : 233-241.
- O'Keeffe, J.H., 1985a. Populations biology of the freshwater snail *Bulinus globus* on the Kenya coast : population fluctuations in relation to climate. *J. Appl. Ecol.*, **22** : 73-84.
- Panfili, J., Pontual, H. (de), Troadec, H. & Wright, P.J. (eds.), 2002. Manuel de sclérochronologie des poissons. *Coédition Ifremer-IRD*, 464p.
- Pirker, J.G. & Schiel, D.R., 1993. Tetracycline as a fluorescent shell-marker in the abalone *haliotis-iris*. *Marine Biology*, **116** (1) : 81-86.

- Purcell, S.W., Blockmans, B.F. & Nash, W.J., 2006. Efficacy of chemical markers and physical tags for large-scale release of an exploited holothurian. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **334** (2) : 283-293.
- Quéro, J.C. & Vayne, J.J., 1998. Les fruits de la mer et plantes marines des pêches françaises. *Ifremer, Delachaux & Niestlé (Ed.)*, 256p.
- Riascos, J., Guzman, N., Laudien, J., Heilmayer, O. & Olivia, M., 2007. Suitability of three stains to mark shells of *Concholepas concholepas* (Gastropoda) and *Mesodesma donacium* (Bivalvia). *Journal of Shellfish Research*, **26** (1) : 43-49.
- Richardson, C.A., 1987a. Tidal bands in the shell of the clam *Tapes philippinarum*. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **230** : 367-387.
- Richardson, C.A., 1987b. Microgrowth patterns in the shell of the Malaysian cockle *Anadara granosa* (L.) and their use in age determination. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **111** : 77-98.
- Richardson, C.A., 1988a. Exogenous and endogenous rhythms of band formation in the shell of the clam *Tapes philippinarum*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **122** : 105-126.
- Richardson, C.A., 1988b. Tidally produced growth bands in the subtidal bivalve *Spisula subtruncata*. *J. Mol. Stud.*, **54** : 71-82.
- Richardson, C.A., 1989. An analysis of the microgrowth bands in the shell of the common mussel *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Assn. UK*, **69** : 477-491.
- Richardson, C.A., 1996. Exogenous or endogenous control of growth band formation in subtidal bivalve shells. *Bulletin de l'Institut Océanographique. Monaco*, **14** (4) : 133-141.
- Richardson, C.A., Crisp, D.J. & Runham, N.W., 1979. Tidally deposited growth bands in the shell of the common cockle *Cerastoderma edule*. *Malacologia*, **18** : 277-290.
- Richardson, C.A., Crisp, D.J. & Runham, N.W., 1980. An endogenous rhythm in shell deposition in *Cerastoderma edule*. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **60** : 991-1004.
- Richardson, C.A., Crisp, D.J. & Runham, N.W., 1981. Factors influencing shell deposition during a tidal cycle in the intertidal bivalve *Cerastoderma edule*. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **61** : 465-476.
- Richardson, C.A., Runham, N.W. & Crisp, D.J., 1981. A histological and ultrastructural study of the cells of the mantle edge of a marine bivalve, *Cerastoderma edule*. *Tissue & Cell*, **13** : 715-730.
- Ropes, J.W., 1985. Modern methods to age oceanic bivalves. *Nautilus*, **99** : 53-57.
- Rowley, R.J. & MacKinnon, D.I., 1995. Use of the fluorescent marker calcein in biomineralisation studies of brachiopods and other marine organisms. *Bull. Inst. Oceanogr. Monaco*, **14** : 111-120.
- Rybarczyk, H., 1993. Processus d'eutrophisation et ses conséquences sur les peuplements d'un écosystème estuarien, un exemple en Manche orientale : la baie de Somme. *Thèse Doctorat Université Paris 6*, 171 p. + annexes.
- Tomasovych, A. & Farkas, J., 2005. Cathodoluminescence of Late Triassic teretribulid brachiopods : implications for growth patterns. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **216** : 215-233.
- Sanchez-Salazar, M.E., Griffiths, C.L. & Seed, R., 1987. The interactive roles of predation and tidal elevation in structuring populations of the edible cockle, *Cerastoderma edule*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **25** : 245-260.
- Sanchez-Salazar, M.E., Griffiths, C.L. & Seed, R., 1987. The effect of size and temperature on the predation of cockles *Cerastoderma edule* (L.) by the shore crab *Carcinus maenas* (L.). *J. Exp. Biol. Ecol.*, **111** : 181-193.

- Schöne, B.R., Dunca, E., Fiebig, J. & Pfeiffer, M., 2005. Mutvei's solution : an ideal agent for resolving microgrowth structures of biogenic carbonates. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **228**: 149-166.
- Secor, D.H., Dean, J.M. & Campana, S.E. (Eds.), 1995. Recent Developments in Fish Otolith Research. *University of South Carolina Press, Columbia, SC*, 735p.
- Sejr, M.K., Jensen, K.T. & Rysgaard, S., 2002. Annual growth bands in the bivalve *Hiatella arctica* validated by a mark-recapture study in NE Greenland. *Polar. Biol.*, **25** : 794-796.
- Strässer, M. & Günther, C.-P., 2001. Larval supply of predator and prey : temporal mismatch between crabs and bivalves after a severe winter in the Wadden Sea. *Journal of Sea Research*, **46** : 57-67.
- Strässer, M., Dekker, R., Essink, K., Günther, C.-P., Jaklin, S., Kröncke, I., Brinch Madsen, P., Michaelis, H. & Vedel, G., 2002. How predictable is high bivalve recruitment in the Wadden Sea after a severe winter? *Journal of Sea Research*, **49** : 47-57.
- Tablado, A., Gappa, J.J.L. & Magaldi, N.H., 1994. Growth of the pulmonate limpet *Siphonaria lessona* (Blainville) in a rocky intertidal area affected by sewage pollution. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **175** : 211-226.
- Tallqvist, M.E. & Sundet, J.H., 2000. Annual growth of the cockle *Clinocardium ciliatum* in the Norwegian Arctic (Svalbard area). *Hydrobiologia*, **440**: 331-338.
- Thébault, J., Chauvaud, L., Clavier, J., Fischez, R. & Morize, E., 2006. Evidence of a 2-day periodicity of striae formation in the tropical scallop *Comptopallium radula* using calcein marking. *Marine Biology*, **19** (2) : 257-267.
- Timmermans, L.P.M., 1969. Studies on shell formation in molluscs. *Netherlands Journal of Zoology*, **19** : 417-523.
- Tong, H., Hu, J., Ma, W., Zhong, G., Yao, S. & Cao, N., 2001. In situ analysis of the organic framework in the prismatic layer of mollusc shell. *Biomaterials*, **23** : 2593-2598.
- Tuset, V.M., Garcia-Diaz, M.M. , Gonzalez, J.A., Lorente, M.J. & Lozano, I.J., 2005. Reproduction and growth of the painted comber *Serranus scriba* (Serranidae) of the marine reserve of Lanzarote Island (central-eastern Atlantic). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **64** (2-3): 335-346.
- Witbaard, R., Jenness, M.I., van der Borg, K. & Ganssen, G., 1994. Verification of annual growth increments in *Arctica islandica* L. from the North Sea by means of oxygen and carbon isotopes. *Netherlands Journal of Sea Research*, **33** (1) : 99-101.

Annexes

Annexe 1

Ifremer

Note d'information

Etude de marquage de coques en baie de Somme

L'Ifremer vous informe de la mise en place d'une étude de marquage de coques (*Cerastoderma edule*) en baie de Somme afin de mieux comprendre la croissance de cette espèce.

Cette étude se déroulera entre le 08 avril et le 06 mai 2009. Un dispositif expérimental de 5m² ensablé et balisé sera mis en place au cours de cette période. Sa position géographique se situe à la pointe de l'Îlette, dans le deuxième fond du secteur de CH4.



Ce site expérimental ne doit pas être perturbé par des activités humaines.
Merci de votre compréhension

Partenaires de cette étude :




Contacts IFREMER :

Alain LEFEBVRE, Laboratoire Environnement côtier & Ressources aquacoles
 Kélig MAHE, Pôle de Sclérochronologie du Laboratoire Ressources Halieutiques

Téléphone : 03.31.99.56.00

Annexe 2





1-4 septembre 2008
Brest, France

Morphometry and growth of a Bivalve : the common cockle *Cerastoderma edule* in the Bay of Somme

Bellamy, E. (1), Mahé K. (2), & Lefebvre, A. (1)

(1) IFREMER, Laboratoire Environnement côtier & Ressources aquacoles, Boulogne sur Mer, France
(2) IFREMER, Laboratoire Ressources Halieutiques, Pôle National de Sclérochronologie, Boulogne sur Mer, France

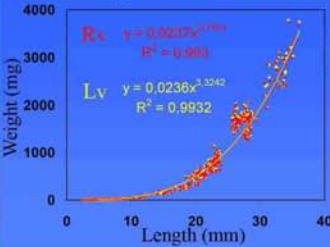



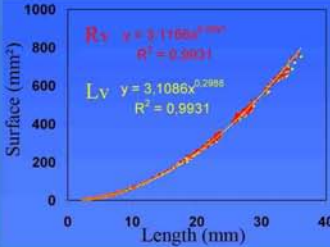
The common cockle is an economically important species in the Northeast Atlantic Ocean, from the Barents Sea in the North, to the Mauritanian coastline in the South. The Bay of Somme is the first French field with a production amounting to 3000 tons per year on average. However, the biology of this bivalve hasn't been studied a lot yet, especially its growth. So, this analysis is looking at the symmetry of the two valves in one hand and at a statistical age modelling based on morphological data, obtaining from the shell, in the other hand.

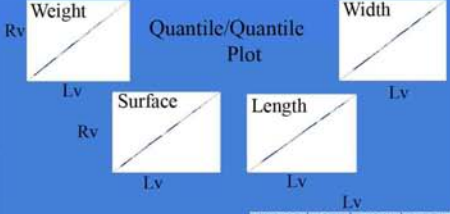
Materials and Methods

- 524 cockles were sampled and the two valves of the shell have been identified, referenced and processed separately : weight with a 0.1 mg precision.
- Length, width and surface were collected from high-resolution pictures analysis performed with the TNPC software (Digital Processing for Calcified Structures) with a 1.10^{-4} millimeter accuracy.
- Some valves were embedded in epoxy resin, sectioned and mounted on slides, then polished with successively finer grits of carbide paper and observed under microscope (60x magnification, mosaic image processing).

Symmetry of the 2 valves








Spearman Rank Correlation Matrix (N=524)

	SURFACE	WIDTH	LENGTH	WEIGHT
SURFACE	1.000	0.999	0.999	0.993
WIDTH	0.999	1.000	0.998	0.992
LENGTH	0.999	0.999	1.000	0.994
WEIGHT	0.993	0.994	0.992	1.000

The symmetry of the valves was tested with the length, the width, the surface and the weight. The statistical analyses show no significant difference between the left valve and the right valve with the significance threshold of 1%. There is no consequence using data from the Left valve (Lv) or the Right valve (Rv).

Predicting the age

The valve is formed by accretion which can be counted to estimate the age. This method of ageing by internal microstructures analysis can be laborious and expensive.

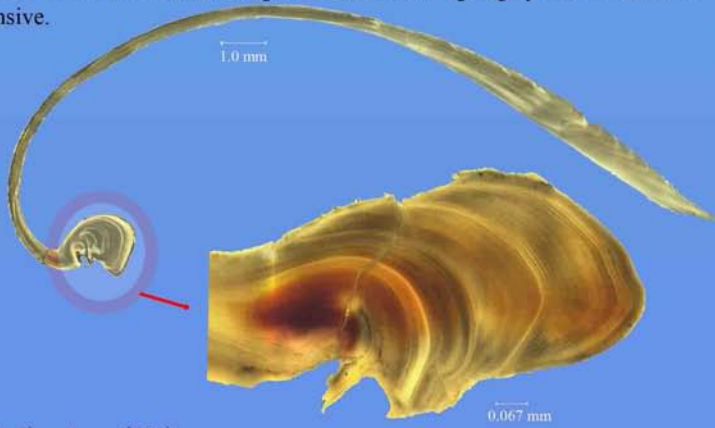


sectioning
polishing

An alternative method uses the morphometric data as descriptors of the age (Francis & Campana, 2004 ; Ochwada *et al.*, 2008) with :

- Valves Weight (Vw)
- Valves Length (Vlg)
- Valves Surface (Vs)
- Valves Width (Vwd)

$$\text{Age} = \text{factor}(Vw) + \text{factor}(Vs) + \text{factor}(Vwd) + \text{factor}(Vlg) + \varepsilon$$



Outlook

- > To identify a reading scheme in the internal microstructures
- > The use of age data to calibrate the model
- > To establish model with morphometric data for the stock assessment

Reference
Francis & Campana, 2004. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 61 (6) : 1269-1284
Ochwada *et al.*, 2008. Fisheries Research, 90 : 187-197.