

Laboratoire Environnement Ressources
des Pertuis Charentais
Ronce les Bains
17 390 La TREMBLADE

Rapport de Stage de D.U.T.
Département Génie Biologique.
Génie de l'Environnement.
28 avenue Léon Jouhaux
42 000 SAINT ETIENNE

NOYON Anastasia

Stage du 13 avril au 17 juin 2005

QUALITE BIOLOGIQUE DES EAUX
DES MARAIS DU PERTUIS CHARENTAIS :

SUIVI DES EAUX DE REJETS AGRICOLES EN MILIEU MARIN :
TESTS LARVAIRES SUR L'HUITRE CRASSOSTREA GIGAS

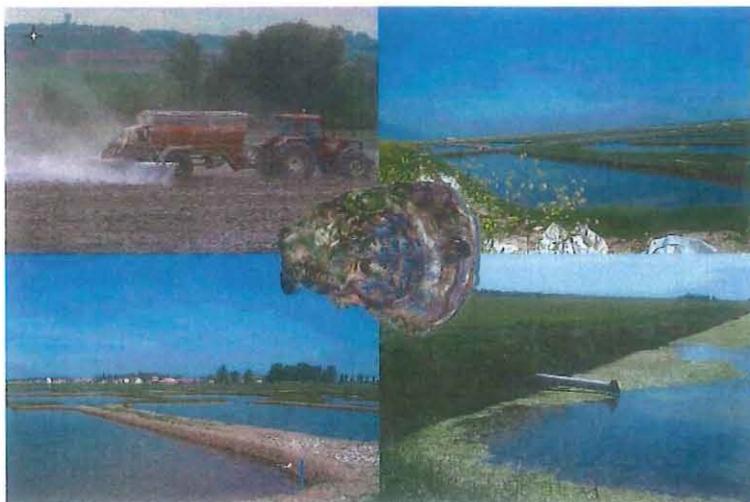


Photo : ✦ IFREMER, pH128:0085
AUBRY F. et NOYON A.

Maître de stage : MASSON Daniel

Tutrice : LAMBERT Clarisse

REMERCIEMENTS

Je suis reconnaissante envers,

Daniel MASSON, pour m'avoir accueilli en stage sans tenir compte des quelques problèmes physiques qui m'on fait défaut pour des candidatures précédentes ; pour son enseignement et sa disponibilité malgré ses nombreuses occupations.

Je remercie également,

Le personnel du CEMAGREF et de l'INRA qui nous ont fait part de leurs résultats,

Puis toute l'équipe de la station IFREMER de la Tremblade ainsi que les autres stagiaires, pour leurs conseils et leur joie de vivre, sans quoi ce stage n'aurait pas été le même.

Sommaire

INTRODUCTION	1
PARTIE I : PRESENTATION DE L'ETUDE	2
I. Les enjeux : Une gestion de l'eau complexe	2
I.1. L'agriculture	2
I.2. La conchyliculture	3
I.3. Conclusion	4
II. La mise en place de tests écotoxicologiques	5
II.1. Pourquoi ?	5
II.2. Principes des différents tests	5
III. Rappel sur l'huître	7
III.1. Généralités	7
III.2. La reproduction de l'huître	8
PARTIE II : MATERIELS ET METHODES	12
I. Les points de prélèvements	12
I.1. La vanne de Montportail :	12
I.2. La pompe	12
I.3. La vanne des Tannes	12
I.4. Havre de Brouage :	12
I.5. Ecluse de Beaugeay :	13
II. Protocole du test	14
II.1. Jour 1 : La préparation du test	14
II.2. Jour 2 : Fécondation et préparation des échantillons	15
II.3. Jour 3 : La fixation des larves	16
III. Lecture des Résultats	17
III.1. Dénombrement des larves	17
III.2. Interprétation	18
IV. Résultats	19
IV.1. Embryo toxicité sur les larves d'huîtres	19
IV.2. Les autres résultats	24
V. DISCUSSION	26
CONCLUSION	27
LEXIQUE	28
BIBLIOGRAPHIE	30

Sommaire des figures

Figure 1 : Schéma représentatif des marais du Pertuis Charentais :	4
Figure 3 : Spermatozoïdes d'huîtres de <i>Crassostrea gigas</i>	9
Figure 4 : Ovocyte d'huître de <i>Crassostrea gigas</i>	9
Figure 5 : Larve trochophore	10
Figure 6 : « Larve D » de <i>Crassostrea gigas</i>	11
Figure 7 : Schéma des points de prélèvements	13
Figure 8 : Embryon de <i>Crassostrea gigas</i> Figure 9 : Larve trochopore de <i>Crassostrea gigas</i>	17
Figure 10 : Larve D de <i>Crassostrea gigas</i> présentant une charnière incurvée	17
Figure 11 : Anomalie du Vélum chez une larve de <i>Crassostrea gigas</i>	18
Figure 12 : Présence d'une échancrure de la coquille chez un larve de <i>Crassostrea gigas</i>	18
Figure 13 : Détermination des sites potentiellement pollués le 13 mars 2005	19
Figure 14 : Détermination des sites potentiellement pollués le 29 mars 2005	20
Figure 15 : Détermination des sites potentiellement pollués le 12 avril 2005	20
Figure 16 : Détermination des sites potentiellement pollués le 18 avril 2005	21
Figure 17 : Détermination des sites potentiellement pollués le 26 avril 2005	21
Figure 18 : Détermination des sites potentiellement pollués le 2 mai 2005	22
Figure 19 : Détermination des sites potentiellement pollués le 10 mai 2005	22
Figure 20 : Détermination des sites potentiellement pollués le 23 mai 2005	23
Figure 21 : Détermination des sites potentiellement pollués le 30 mai 2005	23
Figure 22 : Comparaison de la pluviosité et du taux d'anomalies larvaires	24
Figure 23 : Impact des nitrates sur les larves d'huîtres, avec une concentration équivalent au point Pompe de Montportail le 10 mai 2005	25

INTRODUCTION

La situation difficile des agriculteurs des marais littoraux charentais, à la fin des années 1970, a entraîné une mise en culture intensive de ces marais, dès les années 1980. Cependant l'utilisation conjointe de produits phytosanitaires*, suscite de fortes inquiétudes des conchyliculteurs*.

Le littoral de Charente Maritime, était autrefois bordé par de marais salants. A la suite du déclin de cette activité, on a vu se développer l'ostréiculture sur le marais salé, et l'agriculture sur le marais doux. Les activités agricoles étaient essentiellement constituées d'élevages extensifs, ce qui ne posait pas de problèmes entre les deux activités (ANRAS L., 1997).

Cependant, depuis les années 1980, la rentabilité de tels élevages, ne permet plus d'assurer des revenus suffisants aux agriculteurs. De plus, à la suite de la promulgation de la loi d'intérêt agricole (1980), l'INRA a mis au point un système la culture intensive sur les marais drainés. Les zones ont subi de nombreux bouleversement (mise à plat), avec la mise en place d'un système de drainage enterré, afin de faire face au caractère hydromorphe du sol (argileux), impropre à la culture (ANRAS L., 1997)

Parallèlement à la voie de l'intensification, l'usage de produits phytosanitaires associés (en particulier les herbicides) ne cesse de progresser, ce qui suscite l'inquiétude des conchyliculteurs. En effet, les eaux de drainage sont collectées par un système de chenaux, lequel débouche en aval dans celui qui alimente les claires ostréicoles* (bassins d'élevage d'huîtres) puis dans le milieu marin.

Les dommages potentiels peuvent être une production, réduite (manque de phytoplancton ou mort des organismes), ou impropre à la consommation (accumulation de contaminant dans les coquillages, au-delà des normes requises).

L'intérêt économique de la conchyliculture, et plus particulièrement de l'ostréiculture, dans le bassin de Marennes Oléron est majeur, tant à l'échelle locale (1^{ère} zone de production française) qu'internationale (la France est le 4ème producteur mondial d'huîtres, CNC)

Ce problème a suscité l'intérêt de l'Ifremer (Cf. **Annexe 1**) qui souhaite évaluer l'impact des rejets agricoles sur l'environnement, à l'aide de tests écotoxicologiques (activité enzymatique, inhibition phytoplanctonique et toxicité embryonnaire sur des larves d'huîtres *Crassostrea gigas*). Le but est d'établir un diagnostic puis de rechercher des solutions techniques, permettant la coexistence des deux activités économiques antagonistes. Cette étude s'inscrit sur trois ans (2004-2006) où la première année consiste à développer des tests écotoxicologiques, les deux suivantes, à réaliser une campagne de mesures pour finalement apporter des solutions au problème posé.

Lors de mon stage j'ai apporté ma contribution à ce projet en réalisant les tests sur larves d'huîtres pour la campagne de mesure du printemps 2005.

PARTIE I : PRESENTATION DE L'ETUDE

I. LES ENJEUX : UNE GESTION DE L'EAU COMPLEXE

Le département de Charente-Maritime s'étend sur 691.600ha. Il se distingue par l'importance des terres agricoles (466.600ha soit 67% du territoire) et la façade océanique à l'ouest. Celle-ci est à l'origine des 100.000ha de zones humides dont 60% est constitué d'exploitations agricoles (marais desséchés doux) et 6.000ha est consacrés à la conchyliculture (marais salés). Cependant la gestion du réseau hydraulique est souvent problématique.

I.1. L'AGRICULTURE

Ce secteur est très important dans la zone humide, car il assure la spécificité des élevages charentais (prairies sur les marais), soit plus de la moitié de la production bovine.

Toutefois, il existe de nombreuses contraintes, dont les deux principales, dans les marais charentais sont (MASSON D., 1988) :

➤ Evacuer l'eau des terres cultivées, en hiver :

L'imperméabilité des terrains (argileux) entraîne une stagnation du surplus d'eau, pouvant provoquer l'asphyxie racinaire des plantes.

Le drainage des eaux vers l'aval permet de palier à ce problème.

➤ Maintenir un niveau d'eau suffisamment élevé en été :

Les systèmes de chenaux servent d'abreuvoirs et de clôtures aux bovins.

Ils assurent la cohésion des berges (évite les éboulements).

Ces phénomènes sont accentués par le climat océanique : hiver doux et pluvieux, été chaud et sec.

Cependant, l'obligation de rentabilité implique des épandages fréquents, de produits phytosanitaires. Une partie de ceux-ci peut se retrouver dans les eaux de drainage, en particulier lors du lessivage des sols, après un épisode pluvieux.

On pourra tout de même noter une certaine volonté (quoique insuffisante), des pouvoirs publics à réglementer cet apport, par l'interdiction d'emploi de certains produits (comme l'atrazine) classés à risques, en 2004.

I.2. LA CONCHYLICULTURE

En Charente-Maritime, la conchyliculture est une activité importante : classé premier département dans le domaine, en 2002 (AGRESTE, recensement 2002).

Cette activité se répartit plus particulièrement dans le bassin ostréicole de Marennes Oléron (1/3 de la production nationale), premier bassin conchylicole européen. L'enjeu économique est donc considérable, avec un chiffre d'affaire de 200 millions d'euros en 2000, 6900 emplois dont 2900 saisonniers (AGRESTE, cité par CNC et OP Marennes Oléron).

L'élevage des huîtres, se fait généralement en deux parties :

➤ Sur l'estran* (partie recouverte par les marées) :

Permet le captage, le développement des jeunes huîtres (naissains) et la croissance jusqu'à la taille commerciale.

➤ Dans les claires* :

Permet l'affinage des huîtres : en présence d'un phytoplancton plus riche, elles y développent une saveur et une couleur particulière. Sans oublier que la constitution de réserves lui permet de passer le jeûne hivernal (diminution de la température et de l'ensoleillement : plus de phytoplancton)

Cet affinage est une spécificité du bassin, et donc un argument commercial.

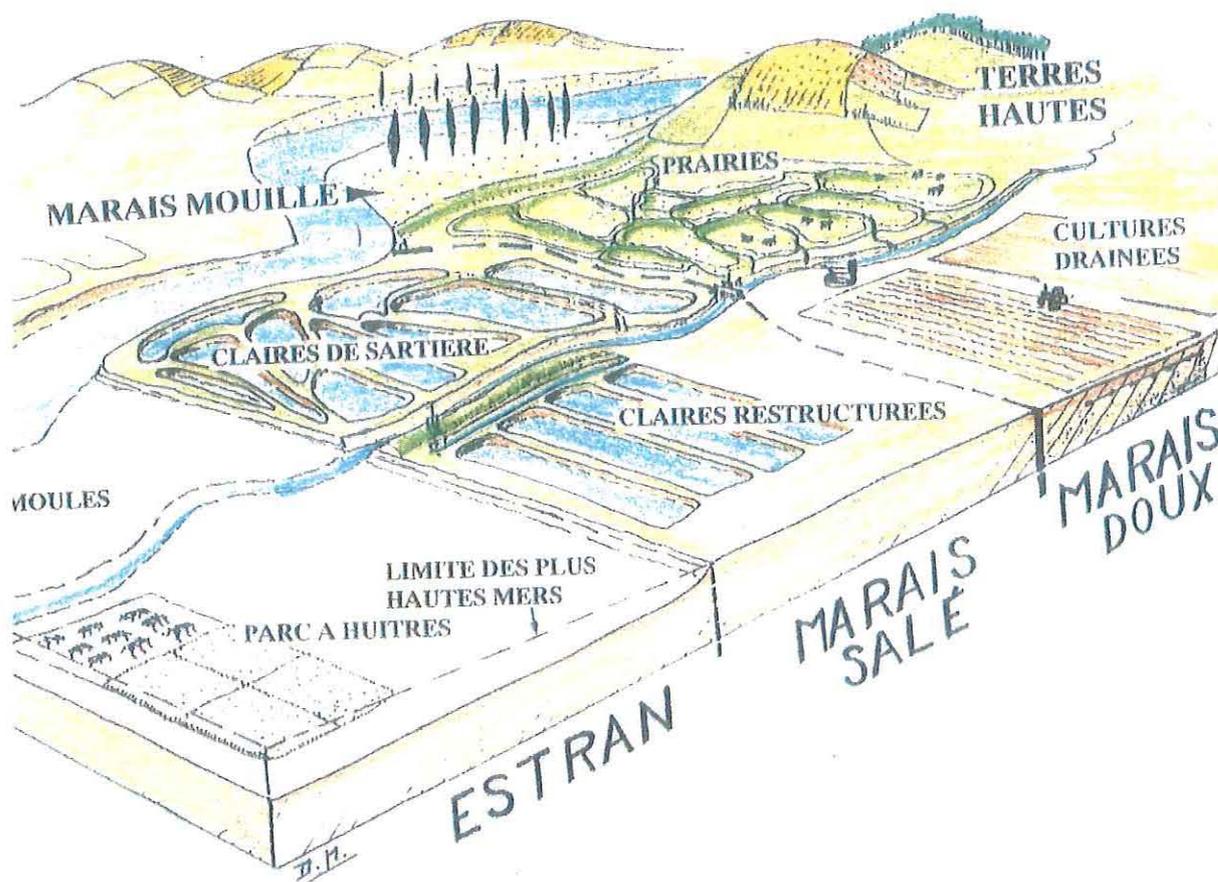
On dénombre 2500 ha de parcs et autant de claires ostréicoles, dans le bassin de Marennes Oléron (CNC et OP marennes Oléron)

Les claires, sont des bassins de taille variable mais de faible profondeur (50 à 60cm d'eau). Elles sont alimentées en eau salée, pendant les malines (marées de fort coefficient : dès 80) grâce aux systèmes de chenaux. L'eau est donc confinée et se renouvelle toutes les deux semaines environ.

Les claires reçoivent parfois de l'eau douce : eau de pluie ou des canaux de rejets situés à proximité. Les rejets d'eaux drainées, sont susceptibles d'apporter des résidus de produits phytosanitaires dans le milieu marin conchylicole et plus particulièrement dans les claires (CHEVALLIER C. et MASSON D., 1988). Ceci peut provoquer la mort du phytoplancton (herbicides), empêchant l'huître de constituer ses réserves et de passer le jeûne hivernal.

Un apport trop brutal d'eau douce peut également être nuisible en engendrant une diminution de la salinité en provoquant la mortalité des huîtres par choc osmotique. L'eau douce va entrer dans les cellules (plus concentrés en sel), pour équilibrer la concentration interne (lois de l'osmose), ce qui va provoquer l'éclatement des cellules.

**Figure 1 :Schéma représentatif des marais du Pertuis Charentais :
une cohabitation difficile**



I.3. CONCLUSION :

La cohabitation (en particulier la gestion de l'eau) entre les agriculteurs et les conchyliculteurs est difficile et complexe. On observe deux phases : hivernale et estivale. En été, la sécheresse impose des prélèvements d'eau douce importants (irrigation), eau qui va faire défaut aux écosystèmes côtiers, par les nutriments qu'elle apporte. En hiver, il faut évacuer l'eau des cultures drainées, sans pour autant qu'elle provoque des baisses de salinité brutales (mortalité des coquillages).

Quant aux produits phytosanitaires leur utilisation semble indispensable pour assurer la croissance des végétaux. Leur emploi exige une gestion raisonnée malgré des conditions climatiques parfois difficiles à prévoir (vent, pluie), et tout particulièrement en automne (période la plus critique, du fait d'une forte pluviométrie et de l'affinage des huîtres dans les marais salés).

II. LA MISE EN PLACE DE TESTS ECOTOXICOLOGIQUES

II.1. POURQUOI ?

Lors de la mise sur le marché de nouveau produit phytosanitaires, par le comité d'homologation des produits antiparasitaires, des tests écotoxicologiques ont été préalablement réalisés et une CL₅₀* déterminée (sur rongeurs, oiseaux, organismes aquatiques, par exemple). Cependant aucun test n'est réalisé sur les organismes marins. Les produits de dégradation (parfois plus toxique que la molécule de départ) ainsi que les interactions entre les différentes molécules ne sont pas étudiés.

Néanmoins, il est nécessaire d'évaluer l'impact de ces produits sur les milieux aquatiques du littoral. Pour cela, il faut observer « l'état de santé » de l'écosystème. On va alors, réaliser des tests sur des espèces spécifiques du milieu (bioindicateurs*) mises en contact avec les rejets à tester.

Pour ne pas fausser la mesure, les bioindicateurs doivent posséder plusieurs caractéristiques :

- Etre reconnus scientifiquement (au niveau biologique et écologique)
- Etre corrélés à des niveaux de l'écosystème
- Présenter des qualités de mesures (fiabilité, reproductibilité)
- Etre facilement utilisable et peu chers

Afin de fournir aux pouvoirs publics, des éléments de gestions, du conflit entre agriculteurs et conchyliculteurs, une étude permettant d'acquérir des éléments chiffrés a été entreprise. Elle permettra de rechercher des solutions techniques aux problèmes mis à jour. Pour cela, trois tests sont mis en œuvres dont un bref rappel de leurs principes suit :

II.2. PRINCIPES DES DIFFERENTS TESTS

.II.2.1 LE TEST ACETYLCHOLINESTERASE

Ce test permet de mesurer l'impact des insecticides organochlorés, agissant sur l'influx nerveux des insectes.

Les crustacés sont proches des insectes. Ainsi le suivi de l'activité enzymatique de l'acetylcholinestérase, sur les crevettes blanches, par exemple, permettra d'estimer l'influence des insecticides, par les traces de dérèglement laissées dans leur physiologie (MASSON D. et DUPIN V., 2004).

.II.2.2 L'INHIBITION PHYTOPLANCTONIQUE

Le phytoplancton*, constitué d'algues unicellulaires, est à la base de la chaîne alimentaire des mollusques. Le contact avec les herbicides peut faire chuter leur production.

Ce phénomène, limité en milieu ouvert grâce à l'effet de dilution (4 milliards de m³ d'eau, dans le bassin de Marennes Oléron à marée haute), est plus sensible dans les claires où le volume d'eau est faible (50 à 60cm de profondeur).

L'entrée accidentelle d'eau douce (pluie, nappe) dans ce système permet, certes l'apport de nutriments (nitrates, phosphates) favorables au phytoplancton, mais aussi des résidus de produits phytosanitaires, notamment d'herbicides.

Le principe de ce test sera donc de développer pendant cinq jours, une culture de diatomée (*Chaetoceros gracilis*) dont la croissance est mesurée quotidiennement dans les eaux prélevées (et ajusté en salinité) et à comparer avec un témoin (MASSON D. et DUPIN V., 2004).

.II.2.3 TEST SUR LARVES DE BIVALVES

Les bivalves sont des organismes filtreurs (jusqu'à 15 L/heures chez l'huître, CNC). Ils ont donc la capacité d'accumuler les polluants. L'impact de ces polluants sera évalué sur le développement embryonnaire des larves, beaucoup plus sensible que les adultes.

L'espèce bioindicatrice est *Crassostrea gigas*, principale espèce exploitée. On assure *in vitro* la reproduction d'huîtres, le plus naturellement possible. Les embryons seront alors placés dans les eaux à tester, pendant 24 heures, puis fixés.

En suite, il est possible de compter le taux de malformation induit par d'éventuels polluants contenus dans ces eaux.

C'est le test sur lequel nous avons travaillé (cf. Partie II, p12).

III. RAPPEL SUR L'HUITRE

III.1. GENERALITEES

On trouve actuellement deux espèces d'huîtres en France :

➤ L'huître plate : *Ostra edulis*

➤ L'huître creuse : *Crassostrea gigas*, plus couramment appelée « Japonaise »

Cette dernière, originaire du pacifique, a été introduit en France, dans les années 1970, suite à une maladie de l'huître plate (1920, 1921) et de l'huître « Portugaise » (*Crassostrea angulata*, introduit dès la fin du XIXème siècle).

On peut replacer, cette dernière dans la classification :

Règne : Animal

Embranchement : Mollusque ou Lamellibranche

Classe : Bivalve

Ordre : *Filibranchia*

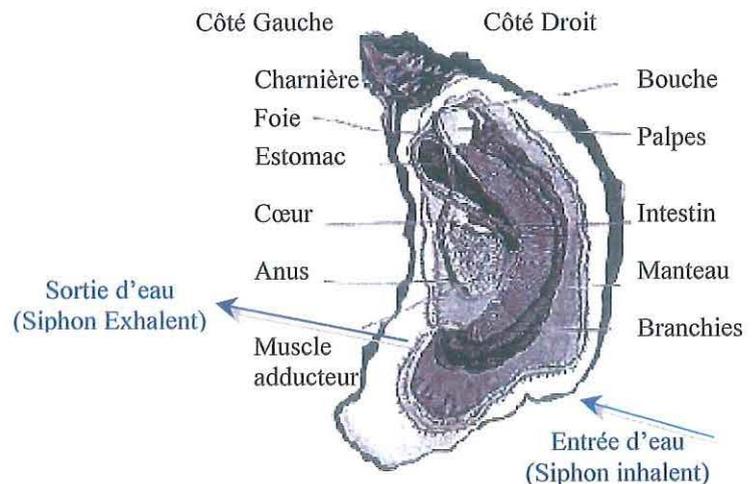
Sous Ordre : *Anisomyaria*

Famille : *Ostreida*

Genre : *Crassostrea*

Espèce : *gigas*

Figure 2 : Anatomie de l'huître creuse
Crassostrea gigas



➤ On pourra retenir que :

Les branchies permettent non seulement la respiration mais également de capter les éléments nutritifs (puis apportés jusqu'à la bouche), en filtrant l'eau.

La charnière et le muscle adducteur permettent respectivement l'ouverture et la fermeture de l'huître.

Le manteau (fin voile de chair) assure la croissance et le développement de la coquille, et à la fabrication de la nacre qui en recouvre l'intérieur.

Le liquide circulatoire est de l'hémolymphe.

III.2. LA REPRODUCTION DE L'HUITRE

.III.2.1 LA SEXUALITE

La sexualité de l'huître est irrégulière, si l'on considère qu'elle fait preuve d'hermaphrodisme successif. Elle a la capacité de changer plusieurs fois de sexe, au cours des années, voire d'une même saison. On observe généralement plus de mâle chez les jeunes huîtres (environ 60% à 70% chez des individus de 1 an), lesquels ont tendance à se féminiser par la suite (jusqu'à 90% chez des individus de plus de 3 an).

Ce phénomène de protandrie* est à prendre en compte pour les tests. Dans le cas d'un élevage traditionnel, il faudrait alors sélectionner des huîtres âgées entre deux et trois ans, pour équilibrer le nombre de mâle et de femelle (Site OSTREA). Cependant, en écloserie l'apport en continu d'eau chaude (22°C et 18°C) enrichie en phytoplancton permet un conditionnement des géniteurs plus rapide (18 à 24 mois) (MASSON D., discussion personnelle).

.III.2.2 LA GAMETOGENESE

L'appareil reproducteur des huîtres est uniquement constitué par les gonades. Celles ci forment des tubules de taille plus ou moins importante, selon le cycle de reproduction.

La gamétogenèse, peut être influencé par différents paramètres endogènes ou exogènes, les plus important étant :

➤ La salinité :

Une légère dessalure, de l'ordre de 25‰ (au minimum) favorise la maturation.

➤ La nutrition :

Les réserves se constituent durant une inactivité sexuelle, lesquelles seront mobilisées durant la gamétogenèse pour la formation des produits sexuels.

➤ La température :

Elle apparaît comme le facteur le plus influent (Orton(1920), cité par His, Beiras et Seaman, 1999).

On peut observer l'émission des gamètes (20 à 100 millions d'ovules, site Ostrea) dès que la température de l'eau dépasse 18°C

.III.2.3 EMISSION DES GAMETES ET FECONDATION

.III.2.3.1 L'émission des gamètes

L'émission des gamètes résulte de l'interaction de plusieurs stimuli, dont la plupart sont due aux modifications provoquées par les marées (différences de température, pression, agitation dû aux vagues et courants. Elle est souvent observée lors de la marée descendante (2 à 3heures après la pleine mer)

En général, les mâles sont plus sensibles aux stimuli, ce qui se traduit par le fait qu'ils fraient en premier. Le sperme contient une hormone, la diantline, qui va induire l'émission de gamètes chez les mâles voisins, puis chez les femelles.

L'éjaculation se caractérise par l'émission d'un mince filet blanc, comparable à la fumée de cigarette. Les mouvements valvaires ne sont pas spécifiques, malgré une amplitude d'ouverture plus importante.

Figure 3 : Spermatozoïdes d'huîtres de *Crassostrea gigas*

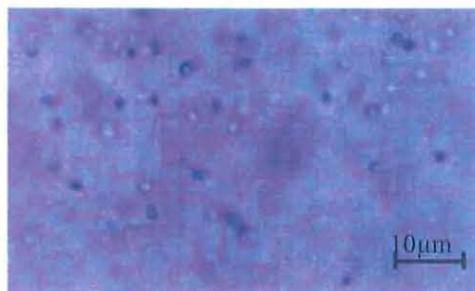


Photo DUPIN V.

En revanche, chez la femelle, les mouvements valvaires sont important, avec un phénomène dit de « claquement ». La valve droite se soulève, avec une amplitude importante, puis s'abaisse brutalement (contraction musculaire) ce qui permet de libérer les ovules. La ponte se fait sous la forme de petit amas ou d'un nuage.

Figure 4 : Ovocyte d'huître de *Crassostrea gigas*

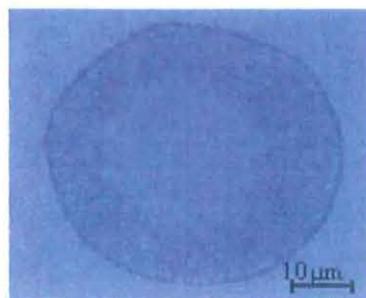


Photo DUPIN V.

Dans les deux cas, l'émission des gamètes se fait du côté gauche de l'huître (siphon exhalant).

.III.2.3.2 La fécondation

Dans le cas de *Crassostrea gigas*, la reproduction est externe. L'œuf se forme quelques minutes après la rencontre des gamètes, en fonction des courants marins. L'œuf se caractérise par une forme sphérique entourée par une membrane de fécondation.

On estime que seulement une dizaine des œufs ainsi formés, atteignent le stade adulte, dans la nature (CNC).

.III.2.4 LE DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET LARVAIRE

.III.2.4.1 Développement embryonnaire

Le cycle de division cellulaire est rapide : les œufs atteignent le stade morula au bout de 2 à 3 heures, puis larvaire en de 24 heures.

.III.2.4.2 La phase larvaire

.III.2.4.2.1 La Trochophore

Le stade trochophore est considéré comme le premier stade larvaire, atteint au bout de 3 à 4 heures. Il est caractérisé par l'apparition de cils

Figure 5 : Larve trochophore



Photo JOLY, 1990

Source : Photothèque Ifremer, référence: ph68:0098

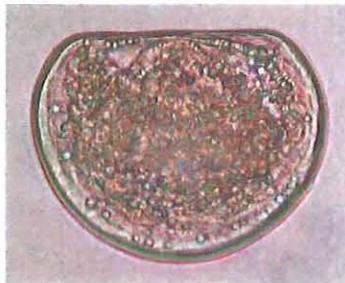
Taille : environ

.III.2.4.2.2 La Véligère

Le stade véligère est le second stade larvaire, atteint 24 heures après la fécondation. La présence d'une charnière dorsale droite, lui confère une forme de D majuscule. C'est le stade dit de « larve D ». Elle présente une coquille à deux valves (prodissochonche I), un vélum (organe de nutrition et de locomotion), et une taille allant de 60µm à 70µm

Ce stade est le plus adapté pour les tests écotoxicologique, du fait de la simplicité de lecture (forme des valves notamment), et l'obtention rapide de résultats (cf. Protocole du test, p.14).

Figure 6 : « Larve D » de Crassostrea gigas



Taille : environ 50µm

Photo : DUPIN V.

.III.2.4.2.3 Les autres stades de développement

Au bout de 10 jours, on observe une extension en forme de crochet, appelé l'umbo. Un organe sensoriel (point noir) apparaît quelques jours avant la fin de la vie larvaire (larve oeuillée).

Finalement (15 à 28 jours après la fécondation), le développement d'un pied (larve pédiveligère), permet la fixation de la larve, grâce à la sécrétion d'un ciment, puis de la métamorphose (disparition du vélum et du pied). On obtient alors, une jeune huître appelée juvénile ou naissain (1 à 2 mois). L'huître de taille commerciale peut être obtenue en trois à quatre ans environ, dans les conditions de Marennes - Oléron.

PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

I. LES POINTS DE PRELEVEMENTS

Afin de répondre aux nombreuses interrogations, les points de prélèvements ont été choisis dans les zones où le risque de contamination par les exploitations agricoles est important. Tous ces points sont localisés dans le marais de Moëze-Brouage, situés au sud des marais atlantiques, et marqué par la proximité entre les îlots de cultures drainés (plus de 45% de la surface, ANRAS L., 1997) et les exploitations ostréicoles.

Cinq points ont pu être déterminés, (cf. **Figure 7 et Annexe 2**) :

I.1. LA VANNE DE MONTPORTAIL :

On retrouve dans ce canal les eaux drainées de l'îlot de Berlotteries, déversées dans l'eau de mer.

A ce niveau, les activités agricoles se situent à quelques dizaines de mètres des claires. Or à marée montante, les claires ostréicoles se remplissent d'eau de mer, par la vanne située à 100m des rejets d'eau douce. Celles ci peuvent alors être contaminées.

I.2. LA POMPE

Puits de drainage de l'îlot cultivé des Berlotteries. On récolte à ce niveau des eaux drainées, qui sont ensuite expulsé dans le canal. Ce point sert de comparaison avec le précédent (qu'y avait-il dans l'eau sortant des drains ?).

I.3. LA VANNE DES TANNES

Cette vanne permet le rejet des eaux de drainage de plusieurs centaines d'hectares cultivés dans le chenal conchylicole de Brouage. Ce dernier alimente en aval de nombreuses claires.

Le prélèvement est réalisé en amont de la vanne.

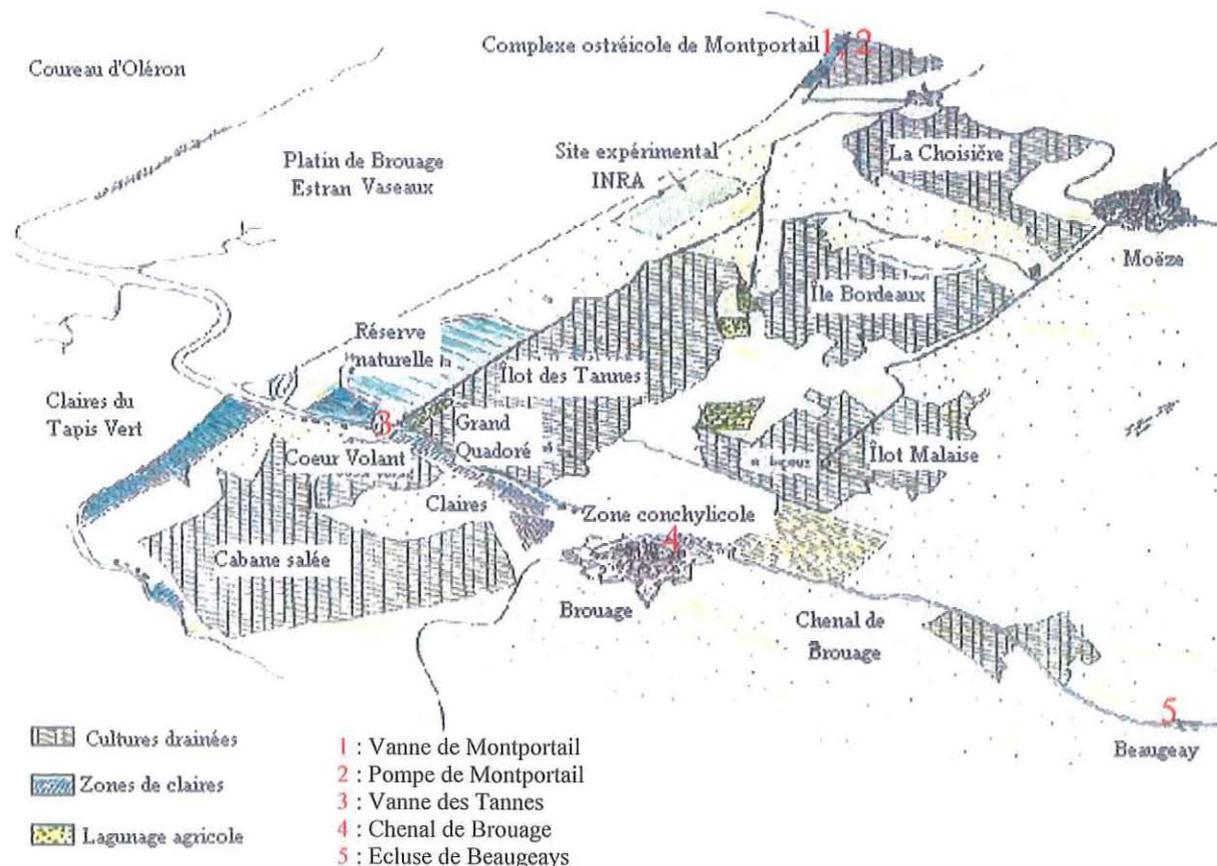
I.4. HAVRE DE BROUAGE :

Ce point se situe également le long du chenal de Brouage, mais en amont de la vanne des Tannes. Cet endroit marque le début de la zone conchylicole de Brouage.

I.5. ECLUSE DE BEAUGEAY :

Ce point est plus en recul, au point de convergence des canaux d'eau douce du canal Charente Seudre. Il recueille une partie des eaux de la Charente, on retrouve alors les rejets de nombreux îlots agricoles.

Figure 7 : Schéma des points de prélèvements



II. PROCOLE DU TEST

Avant les manipulations, le matériel en contact avec les eaux à tester ou le matériel biologique à été stérilisé au four pasteur, à 130°C pendant 1 heure.

L'eau utilisée est toujours de l'eau de mer filtrée à 0,2µm

(cf. **Annexe 3** et **Annexe 5**)

II.1. JOUR 1 : LA PREPARATION DU TEST

.II.1.1 LES PRELEVEMENTS

Afin d'éviter des phénomènes de dilution des eaux agricoles dans l'eau de mer, il est préférable de réaliser les prélèvements à marée basse.

Pour chaque point à tester, on prélève environ 1L d'eau dans des bouteilles en verre opaque. Le lieu, la date et l'heure sont notés sur une étiquette. Les échantillons doivent être transportés dans une glacière et entreposés dans une chambre froide (à 10°C) s'il ne sont pas utilisés immédiatement.

.II.1.2 LE CONDITIONNEMENT ET LE PREPARATION DES GENITEURS

La période de reproduction des huîtres se déroule en été : du mois de juillet au mois d'août. Or les périodes litigieuses (traitement des cultures) s'étalent sur l'année et en particulier au printemps ; il n'est donc pas envisageable de réaliser des tests uniquement pendant deux mois. On va alors utiliser des géniteurs conditionnés en écloserie, pour se reproduire en dehors des périodes normales (par suralimentation et changement de la photopériode).

Dans un premier temps, on va sélectionner une dizaine d'huître, avec si possible autant de mâles que de femelles (si préalablement déterminé, par biopsie). Il est nécessaire de débarrasser les huîtres de toutes les épibiontes (vers, petites huîtres fixées), pour éviter toute interaction avec les gamètes.

Les huîtres sont ensuite disposées, dans une cuvette, en prenant soit de séparer les mâles et les femelles (lorsqu'on a pu déterminer le sexe), pour faciliter la manipulation. Les huîtres sont alors hors de l'eau, pendant 24 heures environ. Cette phase, doit permettre d'augmenter le taux de filtration, lorsque l'on les remettra dans l'eau.

II.2. JOUR 2 : FECONDATION ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

.II.2.1 LA FECONDATION :

La reproduction doit se faire dans les conditions les plus naturelles possibles, pour ne pas augmenter le taux de malformation des larves (et donc fausser les résultats du test). La reproduction ayant lieu lors de changements de température et à marée descendante, on adopte la technique dite du « choc thermique ». Si possible correspondant au début de marée descendante, les animaux étant naturellement conditionnés ainsi même si l'élevage s'est fait en écloserie.

- Les huîtres sont donc placées dans une eau à 28°C pendant 30 minutes.
- Si elles n'ont pas pondu, au bout du laps de temps, on les plonge dans de l'eau à 18°C pendant 30 minutes.
- On effectue cette manipulation jusqu'à obtenir les pontes. Ce qui se produit généralement au deuxième choc chaud.
- Dans le cas contraire, on se voit dans l'obligation de sacrifier une huître. Avec un couteau, on va venir dilacérer la glande génitale afin de libérer les gamètes ainsi que des phéromones. Le liquide intervalvaire ainsi enrichi est ensuite injecté près du siphon inhalant des huîtres (côté droit) afin de les stimuler (d'où l'intérêt d'un plus grand volume filtré).
- Lorsque les huîtres se mettent à pondre, elles sont isolées dans un bocal afin d'éviter le mélange de gamètes et d'obtenir une solution dense. L'eau qu'ils contiennent doit être tiède afin de ne pas stopper l'émission.

Remarque importante : A partir de ce moment la fécondation doit être faite rapidement car les ovules ne sont viables que pendant 30 minutes environ.

- Toujours dans le but de ne pas augmenter le taux de malformation, on observe au microscope, les gamètes que l'on va sélectionner (les plus matures).
- Les spermatozoïdes doivent être très mobiles.
- Les ovules doivent être arrondis (signe de maturité) voire en forme de poire, mais ne doivent pas présenter de formes anguleuses.
- La fécondation se déroule dans une éprouvette de 1 litre, dans laquelle on place 1 litre de suspension d'ovules (taille 50µm), préalablement filtré sur un tamis en inox de 100 microns (élimination des débris divers). Puis 10mL de suspension de spermatozoïdes (taille), filtré sur un tamis de 32 microns (élimination éventuelle d'ovules étrangers). On agite, pour favoriser leur rencontre.

II.2.2 LA PREPARATION DES ECHANTILLONS :

Cette préparation ne devant pas interférer avec la fécondation, on a tout intérêt à la réaliser auparavant.

- Tout d'abord, on évalue la salinité de chaque échantillon.
- L'eau d'un échantillon est mélangée avec de l'eau de mer filtrée (respectivement : $\frac{1}{3}$ - $\frac{2}{3}$)
- Puis on ajuste la salinité à 25‰, avec du sel marin : condition optimale pour la survie des larves.
- On verse ensuite 20mL des eaux à tester dans des acuvettes en plastique. Pour chaque échantillon on réalise cinq répliquats, qui permettra un traitement statistique des résultats.
- Dans chaque acuvette, on rajoute le volume déterminé au préalable (cf. **Annexe 4**) afin d'obtenir 600 œufs par acuvette.
- On incube 24heures à 24°C, afin que les larves atteignent le stade dit « D ».

II.3. JOUR 3 : LA FIXATION DES LARVES

- On observe au microscope inversé, la vitalité des larves afin d'avoir une première idée de la qualité des eaux
- On peut maintenant fixer les larves (très mobiles) avec du formol, ce qui est nécessaire à leur dénombrement et leur conservation.
- Pour chaque acuvette, on détermine le taux de malformation pour cent larves comptées.

III. LECTURE DES RESULTATS

III.1. DENOMBREMENT DES LARVES

Pour que le test soit recevable, il faut que le taux de malformation larvaire des témoins soit inférieur à 20%.

Afin de déterminer le taux de malformation larvaire :on compte, à l'aide d'un microscope inversé, cent larves (au hasard) pour chaque acuvette, en notant le nombre de malformations. On obtient alors un pourcentage de malformation par acuvette. Comme nous avons cinq répliquâts par échantillon, on détermine une moyenne et un intervalle de confiance.

Il existe de nombreuses malformations. Les plus courantes sont :

- Des œufs n'ayant pas atteint le stade attendu :
Œufs non segmenté ; stade blastula, gastrula ou trochopore.

Figure 8 : Embryon de *Crassostrea gigas*



Photo DUPIN V.
Taille : environ 20µm

Figure 9 : Larve trochopore de *Crassostrea gigas*



Photo : QUINIOU F., modifié
Source : Photothèque Ifremer, référence ph110 :0031

- Présentant une charnière concave :

Figure 10 : Larve D de *Crassostrea gigas* présentant une charnière incurvée



Photo : F.Quiniou modifié
Source : Photothèque Ifremer, référence ph110 :0031
Taille : environ 50µm

- Des valves de tailles différentes.
- Vélum non totalement rétracté lorsque la larve est fermée :

Figure 11 : Anomalie du Vélum chez une larve de *Crassostrea gigas*

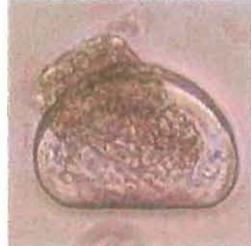


Photo : QUINIOU F., modifié
Source : Photothèque Ifremer, référence ph110 :0031
Taille : environ 50µm

- Des coquilles malformées :

Figure 12 : Présence d'une échancrure de la coquille chez un larve de *Crassostrea gigas*



Photo : V.Dupin
Taille : environ 50µm

III.2. INTERPRETATION

L'échelle d'Edouard HIS permet de qualifier la qualité du milieu aquatique.

Pourcentage d'anomalies larvaires	< 20%	< 25%	25% à 50%	50% à 75%	> 75%
Qualité du milieu aquatique	Non pollué	Peu pollué	Moyennement pollué	Très pollué	Massivement pollué

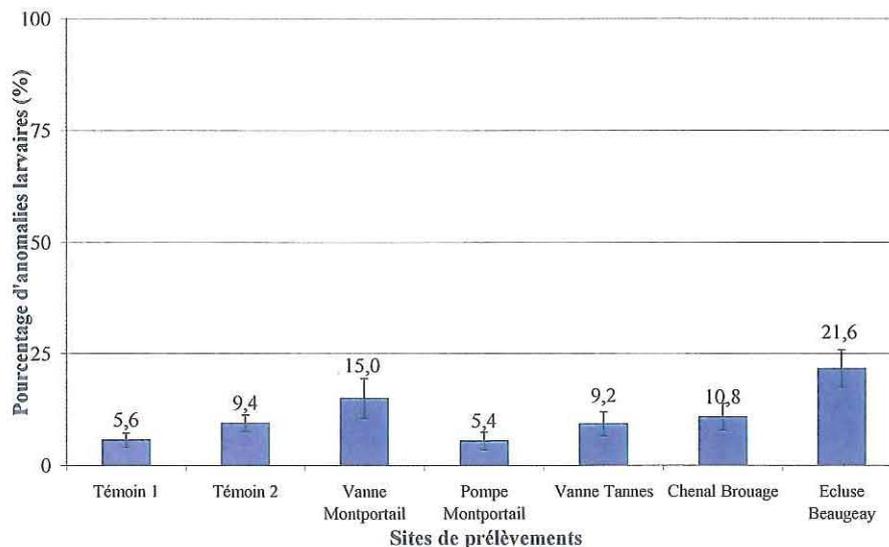
IV. RESULTATS

IV.1. EMBRYO TOXICITE SUR LES LARVES D'HUITRES

Les pourcentages d'anomalie sur les témoins sont inférieurs à 20% ; les tests sont donc recevables et les résultats interprétables.

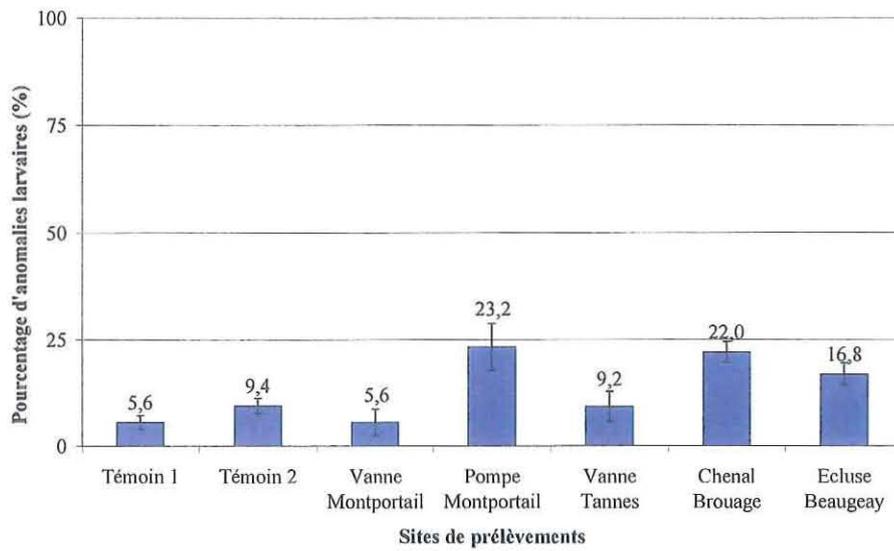
Un seul test (19 mai 2005) présente un taux de malformation moyen de 29%, et n'est donc pas utilisable. Ceci est probablement dû à un mauvais vieillissement de l'eau de mer. En effet les échantillon, après préparation, on dû être stockés (4 jours à 10°C), du fait de l'utilisation de géniteurs trop âgés que l'on n'a pu faire reproduire. Le cas d'une erreur de manipulation concernant la fécondation, a pu être écarté. En effet, le test à été réalisé dans les mêmes conditions et avec les échantillons du 23 mai 2005, dont les résultats sont recevables (cf. Annexe 6).

Figure 13 : Détermination des sites potentiellement pollués le 13 mars 2005



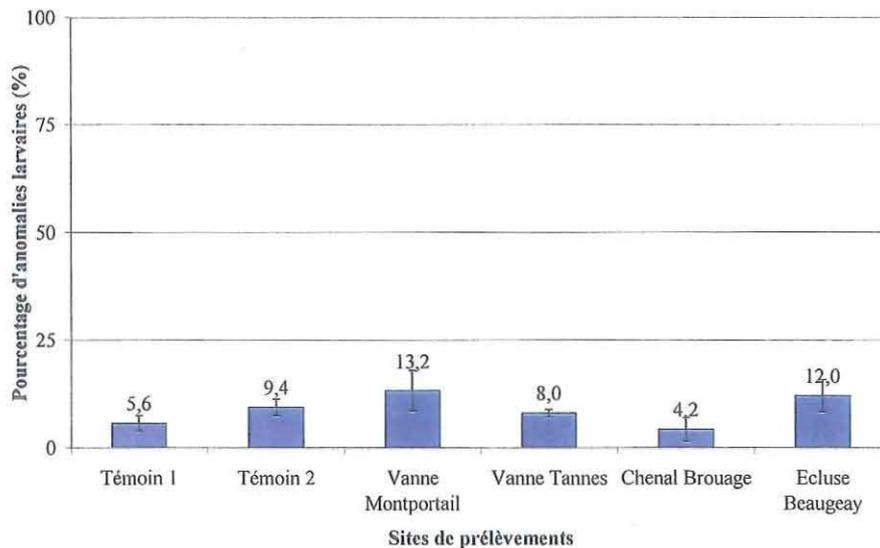
Les taux d'anomalies larvaires sont inférieur à 20% pour les quatre premiers points, et à 25% pour l'écluse de Beaugeay. Le milieu semble peu perturbé selon l'échelle d'E. HIS.

Figure 14 : Détermination des sites potentiellement pollués le 29 mars 2005



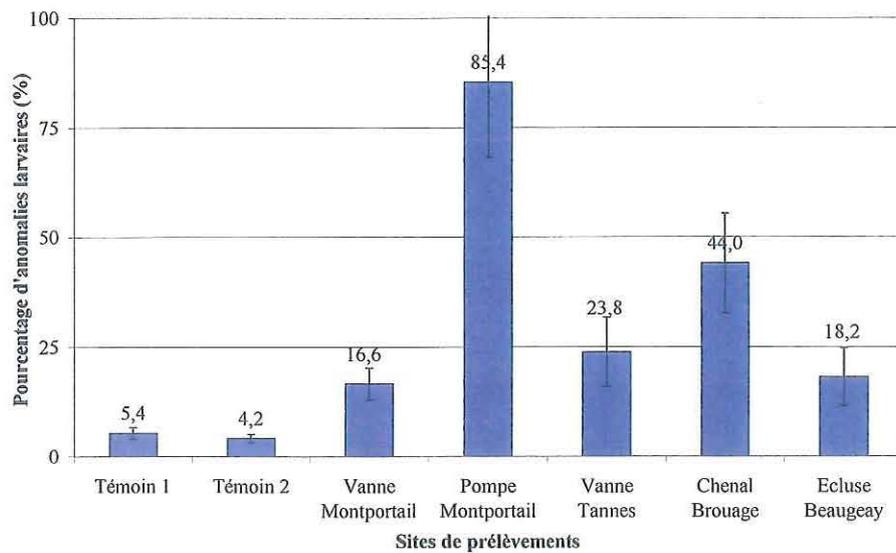
Les taux d'anomalies larvaires sont inférieurs à 20% pour les vannes de Montportail et de Tannes, et à 25% pour la pompe de Montportail et le chenal de Brouage. Le milieu semble peu pollué.

Figure 15 : Détermination des sites potentiellement pollués le 12 avril 2005



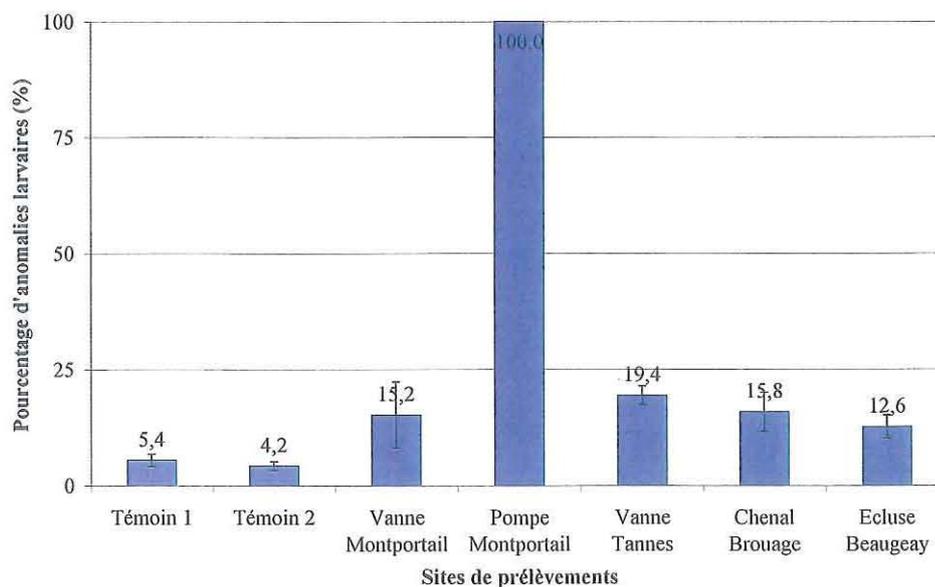
Tous les taux d'anomalies Larvaires sont inférieurs à 20% ; si ces eaux sont rejetées, elles ne semble pas présenter de risques important pour le milieu marin.

Figure 16 : Détermination des sites potentiellement pollués le 18 avril 2005



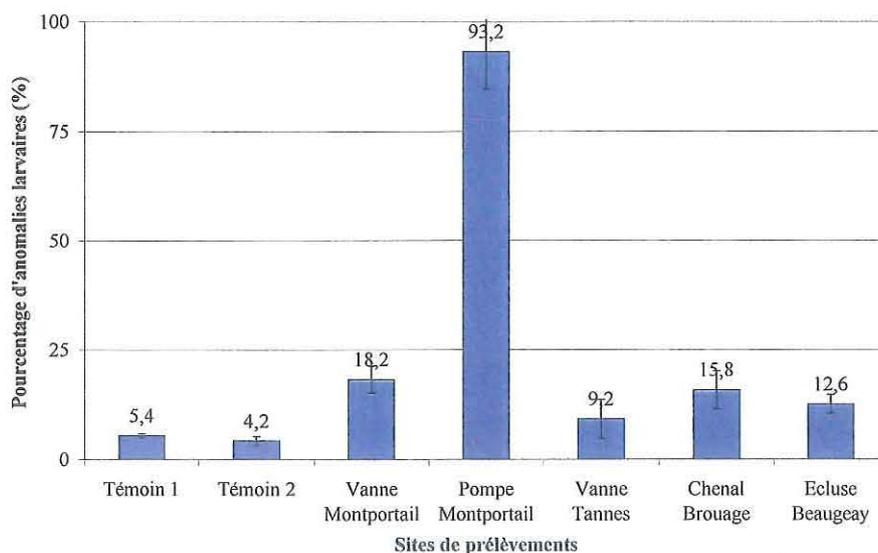
On observe un taux d'anomalie larvaire atteignant 44% dans le chenal de Brouage et un pic à 80% au niveau de la pompe de Montportail. Si ces eaux étaient rejetées telles quelles (ce qui n'est pas le cas), elles présenteraient un risque pour les écosystèmes marins, en particulier dans les claires.

Figure 17 : Détermination des sites potentiellement pollués le 26 avril 2005



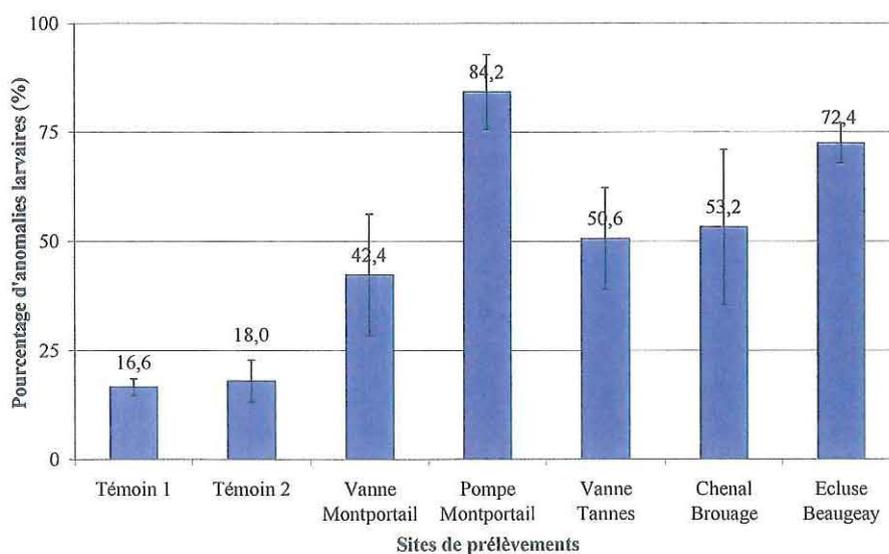
On remarque un pic d'anomalies larvaires de 100% au niveau de la pompe de Montportail, traduisant une pollution massive. Si ces eaux étaient rejetées telles quelles, elles présenteraient également un risque important pour les écosystèmes marin et les claires. Le taux d'anomalie des autres points reste inférieurs à 20%.

Figure 18 : Détermination des sites potentiellement pollués le 2 mai 2005



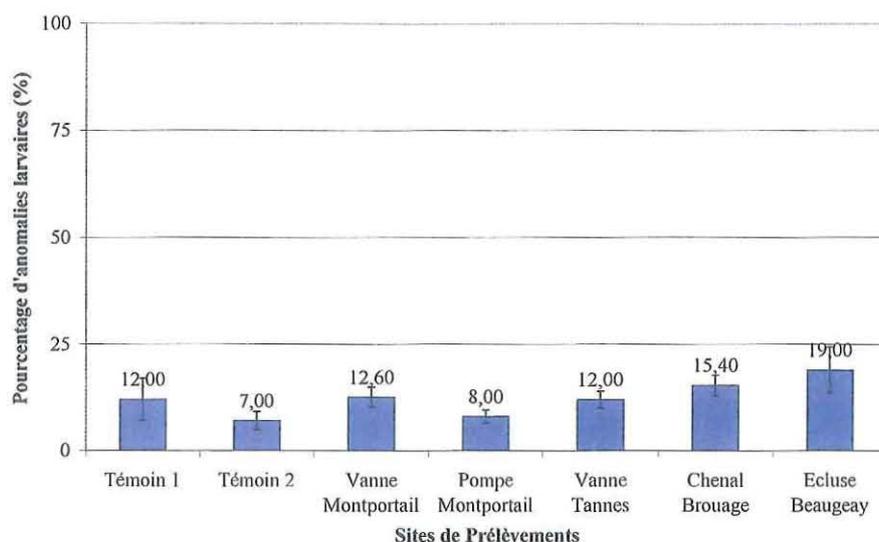
Seul le point pompe de Montportail présente un fort taux de malformations (93%).

Figure 19 : Détermination des sites potentiellement pollués le 10 mai 2005



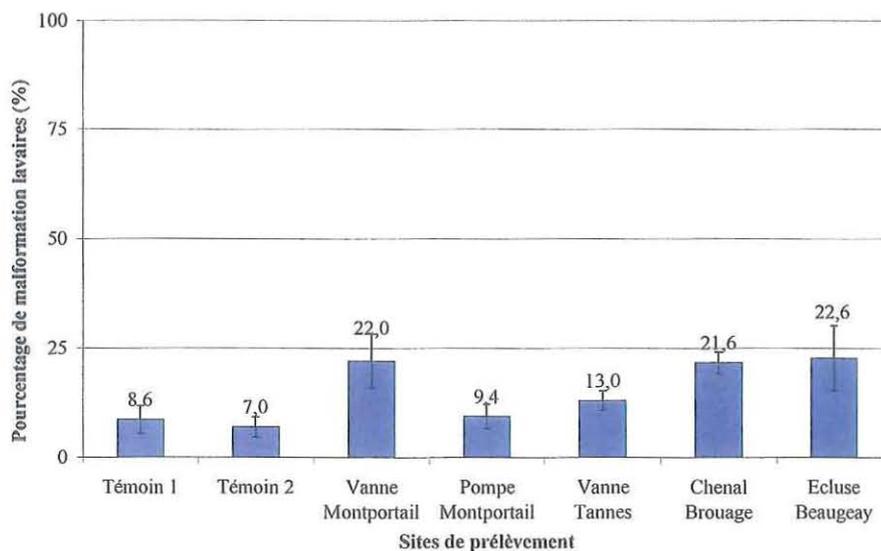
Le taux d'anomalies le plus faible est de 42% pour la vanne de Montportail. Il est supérieur à 50% pour la vanne des Tannes (51%) et du chenal de Brouage (53%). Au niveau de l'écluse de Beaugeay, on obtient un taux d'anomalie de 72%. On observe un pic à 82% pour la pompe de Montportail. Cela traduit des milieux soumis à des pollutions assez importantes.

Figure 20 : Détermination des sites potentiellement pollués le 23 mai 2005



Les pourcentages d'anomalies larvaires sont inférieurs à 20% pour tous les points de prélèvements, ce qui traduit une bonne qualité de ces eaux.

Figure 21 : Détermination des sites potentiellement pollués le 30 mai 2005



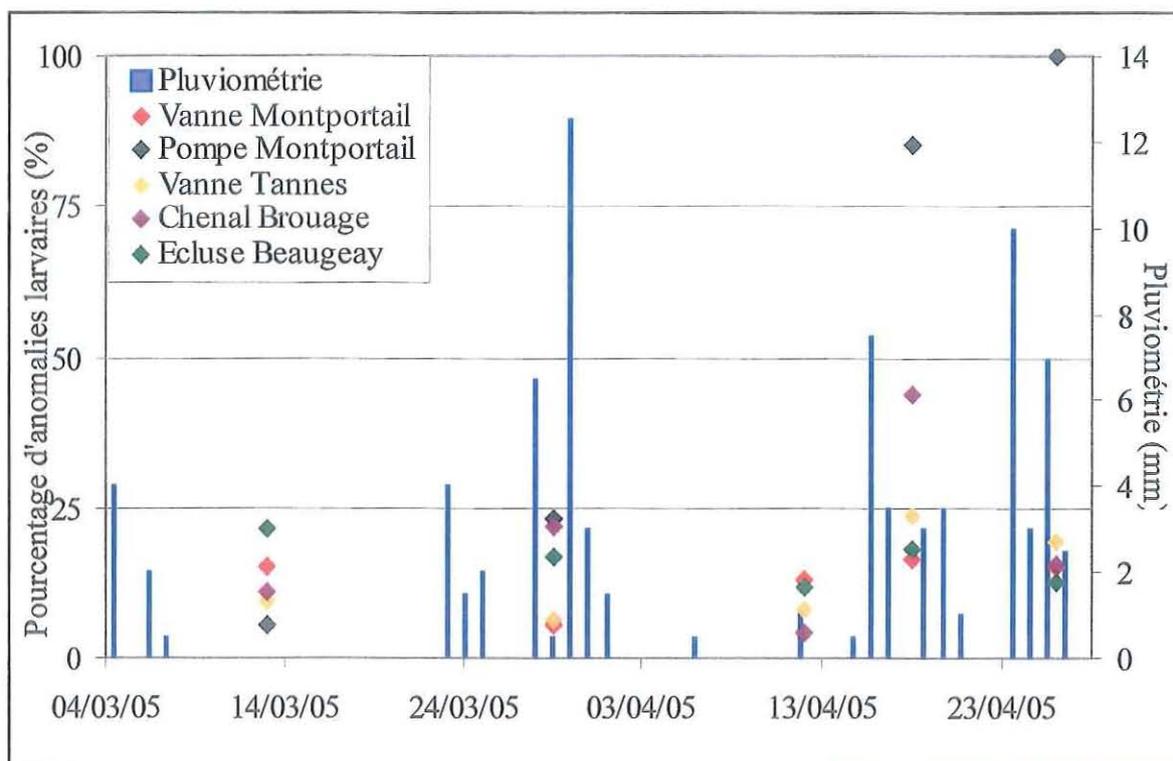
Tous les points présentent des pourcentage d'anomalies inférieur à 25%, le milieu semble peu perturbé.

IV.2. LES AUTRES RESULTATS

.IV.2.1 DONNES PLUVIOMETRIQUE

Afin d'établir une relation entre le lessivage des sols et le résultats des tests larvaires, on a recueilli les données pluviométriques de la station INRA de Saint Laurent de la Prée, la plus proche, géographiquement, de la zone étudiée.

Figure 22 : Comparaison de la pluviosité et du taux d'anomalies larvaires



Dans un premier temps, on peut corréliser respectivement, les pics pluvieux du 28 mars (12,5mm), du 14 et 18 avril (7,5 et 3,5mm), et du 22 et 24 avril (10 et 7mm), et les résultats des test larvaires du 29 mars, 18 et 22 avril.

Pour les prélèvements réalisés le 29 mars, lendemain du pic pluvieux le plus important de la période considérée, on n'observe que très peu d'anomalies larvaires.

En revanche, ce taux d'anomalies est important pour les prélèvements du 18 mars, à la pompe de Montportail et au chenal de Brouage. On pourra noter une faible pluviosité le jour du prélèvement (3,5mm) et quatre jours auparavant (7,5mm).

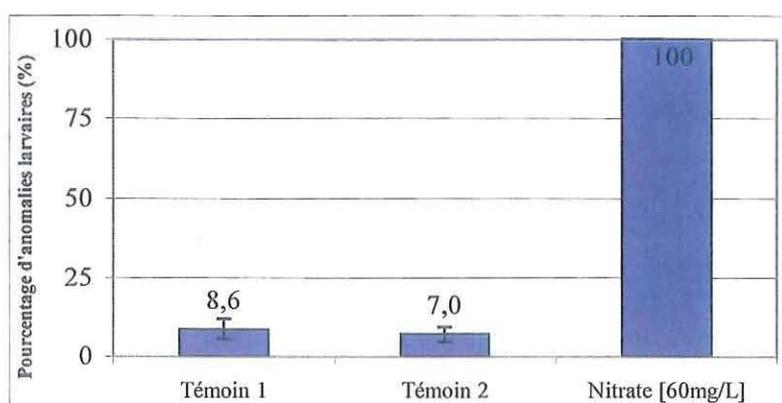
On observe le même phénomène pour les prélèvements du 26 avril, où on atteint un pic de malformation de 100% à la pompe de Montportail, et avec une pluviosité de 10mm et 7mm les 22 et 24 avril.

.IV.2.2 LA PHYSICO-CHIMIE

Les résultats d'analyses menées en parallèle, par le Cemagref (Bordeaux), ne permettent d'établir de molécules phytosanitaires expliquant les anomalies larvaires observés au cours des tests. Seules des traces de diuron, d'isoproturon, d'acétochlore, d'atrazine (et de ces produits de dégradation comme la DEA), ont été retrouvés, notamment à l'écluse de Beaugeay, au début du printemps.

En se penchant sur le prélèvement du 10 mai, au point de la pompe de Montportail (84% d'anomalies), on a pu remarquer un fort taux de nitrate (68,9mg/L). On s'est alors proposé de réaliser un test larvaire, en mettant en contact les larves avec de l'eau de mer filtrée contenant une quantité équivalente de nitrates (60mg/L d'ammonitrates). Les résultats obtenus sont les suivants :

Figure 23 : Impact des nitrates sur les larves d'huîtres, avec une concentration équivalente au point Pompe de Montportail le 10 mai 2005



Le pourcentage d'anomalies des témoins étant inférieurs à 20%, on peut interpréter les résultats. On obtient 100% d'anomalies.

.IV.2.3 LES AUTRES TESTS ECOTOXICOLOGIQUES

Les tests acétylcholine estérase n'ont pu être réalisés durant ma période de stage, du fait d'un manque de temps (laboratoire de Nantes).

Les tests phytoplanktonique (cf. Annexe 7) sont difficilement exploitables du fait de la faible croissance des témoins.

V. DISCUSSION

Les pourcentages d'anomalies larvaires varient en fonction des dates et des sites. Il apparaît néanmoins, que les eaux dans le puits de la pompe de Montportail semblent les plus polluées (85 à 100% d'anomalies les 18, 26 avril, le 2 et 10 mai). Ceci peut s'expliquer par le fait que l'on est directement à la sortie des drains (percolation des traitements). Le point a été choisi pour cette raison, afin de comparer avec les eaux rejetées à la mer.

On observe également des preuves de pollution au niveau du chenal de Brouage (44% d'anomalies) le 18 avril, puis sur tous les points de prélèvements le 10 mai. La chute de croissance (4^{ème} jour) du phytoplancton, dans l'eau de Beaugeay, du 10 mai, confortent cette hypothèse. On peut alors supposer que les cultures ont été traitées (observation d'épandages dans les champs) et que la faible pluviosité aurait entraîné un lessivage des sols.

On ne peut cependant pas établir clairement une relation entre la pluviosité et les anomalies larvaires. Il faut cependant noter, que cette pluviosité demeure très faible (83mm pour les mois de mars et avril), limitant le lessivage des sols, comme l'indiquent les analyses chimiques. De plus, l'installation de la sécheresse (50 à 75 % en dessous de la normal, MASSON D., discussion personnelle) a beaucoup limité les lâcher d'eaux, dans les chenaux et donc l'apport d'éventuelles substances chimiques.

La quasi-absence d'herbicides peut également expliquer la croissance du phytoplancton testé. Un problème de pollution existe pourtant, selon les tests larvaires. La présence de nitrates favorable au développement du phytoplancton, est peut être néfaste à partir d'une certaine dose, sur les larves d'huîtres. Il serait intéressant de réaliser ce test pour différentes concentrations. Les engrais étant épandus sous forme d'ammonitrates se dissocient en NO₃, NH₄ et NH₃ (toxique dans certaines conditions).

L'excès de nitrate ne peut néanmoins être la seule cause : le 26 avril on trouve, 100% d'anomalies et la concentration en nitrate est de 42,3mg/L., ce qui peut laisser penser que les agriculteurs emploient certaines substances qui ne sont pas recherchées. L'année précédente ce problème n'était pas apparu.

CONCLUSION

L'objectif de ce stage était de participer à l'étude sur l'évaluation de la qualité des eaux de rejets agricoles dans le milieu marin, grâce aux tests d'embryo-toxicité sur les larves d'huîtres de *Crassostrea gigas*, pour indiquer la présence d'une éventuelle pollution.

D'un point de vue méthodologique, ce test semble bien adapté, non seulement pour sa simplicité, mais aussi pour sa représentativité. Toutefois, il existe certaines limites, liées au conditionnement des géniteurs et aux conditions climatiques. En effet, la ponte des huîtres est facilitée au printemps, alors que la sécheresse s'installe, limitant le lessivage des sols. Il faut également ajouter, qu'en automne, la forte pluviosité et la mise en claire des huîtres, implique une campagne de mesure qui semble indispensable.

Parallèlement d'autres tests écotoxicologiques et les analyses physico-chimiques sont également réalisés afin de corréler les résultats.

D'un point de vue personnel, j'ai pu acquérir les techniques permettant de réaliser le test écotoxicologique sur les larves d'huîtres. J'ai également pu découvrir les nombreuses activités réalisées dans le laboratoire (comme le fonctionnement de l'écloserie, de la surveillance microbiologique des coquillages du littoral) et les avantages de la vie active.

LEXIQUE

AFFINAGE :

Technique pratiquée dans les claires, améliorant la qualité des huîtres (taux d'engraissement, présentation, goût).

La présence d'une algue particulière (la navicule bleue : diatomée) permet aux branchies de prendre une couleur verte, grâce à la concentration d'un pigment : la marennine, signe du passage en claire.

BIOINDICATEUR :

Regroupe des espèces (végétale ou animal), qui du fait de leurs particularités écologiques, constituent un indice permettant d'évaluer la qualité des conditions environnementales. Cela peut aussi bien être un indicateur de pollution ou de non-pollution.

BIVALVE :

Classe appartenant à l'embranchement des mollusques. Ces animaux aquatiques ou marins sont protégés par une coquille articulée en deux parties (valves). Ce sont des organismes qui ne se déplacent que peu (fouisseurs) ou pas (fixés).

CLAIRE :

Bassin de faible profondeur (50 à 60 cm) utilisé pour l'élevage, l'affinage et parfois le stockage des huîtres. Les claires sont souvent installées dans d'anciens marais salants, au sol argileux.

CONCENTRATION LETHALE 50% (CL₅₀) :

Mesure de toxicité aiguë. Elle correspond à la concentration d'une substance, administrée en une seule fois, entraînant la mort de 50% des individus.

Plus la CL₅₀ est faible, plus le produit est toxique.

CONCHYLICULTURE :

Regroupe les activités concernant l'élevage des coquillages, soit :

La cerastoculture (coques)

La mytiliculture (moules)

L'ostréiculture (huîtres)

La pectiniculture (coquilles Saint-Jacques)

ECOSYSTEME :

Système résultant des interactions entre les caractéristiques d'un milieu (biotope), situées dans un espace défini, et les espèces (biocénose) de cet environnement.

EPANDAGE :

Apports de produits sur le sol (engrais, produits phytosanitaires, etc.).

EPIZOOTIE :

Correspond à une épidémie chez les humains.

C'est une maladie contagieuse qui se répand rapidement chez un grand nombre d'animaux (d'une même espèce ou non).

ESTRAN :

Partie du littoral située entre les basses et hautes mer, et donc successivement recouvert ou non par les marées.

FONGICIDE :

Substances plus ou moins spécifique, protégeant les plantes de certaines maladies causées par les champignons

MOLLUSQUE :

Animaux invertébrés protégés par une coquille calcaire. La plupart possède un pied servant à la locomotion.

PERTUIS CHARENTAIS :

Détroit situé entre les îles et la terre ferme des côtes charentaises.

PHEROMONE :

Substance chimique produite par un organisme, qui stimule une réponse physiologique ou comportementale chez un autre membre de la même espèce.

PHYTOPLANCTON :

Algues unicellulaires, macroscopique et photosynthétique, vivant en suspension dans la colonne d'eau et se déplacent selon le courant.

PHYTOSANITAIRE (PRODUIT) :

Substance destinée au traitement des végétaux.

PROTANDRIE :

Individu mâle qui a tendance à se féminiser en vieillissant.

BIBLIOGRAPHIE

Littérature :

ANONYME. (2003). L'huître : perle de l'élevage conchylicole, Agreste Primeur n°126, 4p.

ANRAS L. (1997). Influence du réseau hydraulique sur la qualité des eaux de surface dans un marais littoral agricole : Rôle des processus géochimiques à l'interface eau – sédiment. Thèse Doctoral, p 1-37

CHEVALLIER C. et MASSON D. (1988). Agriculture, conchyliculture et circulation des eaux de surface en Charente-Maritime. *Aqua Revue* n°21, p 27-33

GAUBERT Y. (1988). Marennes-Oléron : des marais sous surveillance. *L'Ostréiculteur Français* n°17, p 16

HIS E., BEIRAS R. et SEAMAN MNL. (1999). The Assessment of Marine Pollution – Bioassays with Bivalve Embryos and Larvae. *Advances in marine biology*, volume 37, 139p.

MASSON D. (1994). Gestion de l'eau douce et conchyliculture en Charente-Maritime. *Equinoxe* n°51, p 16-22.

MASSON D. et DUPIN V. (2004). Etude de l'impact potentiel des eaux de rejets agricoles sur les marais aquacoles charentais (volet écotoxicologique). Rapport Ifremer, 32p.

Outils informatiques

AGRESTE :

<http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/>

Recensement agricole 2000 / 9 tableaux clef par région / Poitou Charente

Recensement agricole 2000 / 9 tableaux clef par département / Charente Maritime

CNC (Comité national de conchyliculture) :

<http://www.cnc-france.com/>

Toute l'actualité / Statistiques / La production moyenne de coquillage / d'élevage

<http://www.coquillages.com/>

Les huîtres / son anatomie

Les huîtres / sa sexualité

IFREMER :

<http://www.ifremer.fr>

Institut / Implantations / la carte de France / La Tremblade / LER/PC

<http://w3.ifremer.fr>

Systèmes d'informations / photothèque

OSTREA : <http://www.ostrea.org>

SRC (Section régionale Conchylicole) et OP (Organisation des Producteurs d'huîtres) de Marennes Oléron. (2002). Huîtres Marennes Oléron. Cdrom.

Sommaire des annexes

<i>ANNEXE 1 : PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL</i>	<i>1</i>
<i>ANNEXE 2 : PHOTOS DES POINTS DE PRELEVEMENTS</i>	<i>4</i>
<i>ANNEXE 3 : SCHEMA RECAPITULATIF DU TEST SUR LARVE D'HUITRE</i>	<i>6</i>
<i>ANNEXE 4 : EVALUATION DE LA DENSITE EN CEUFS</i>	<i>7</i>
<i>ANNEXE 5 : PHOTOS DES MANIPULATIONS</i>	<i>8</i>
<i>ANNEXE 6 : TABLEAU DE RESULTATS DES TESTS LARVAIRES</i>	<i>9</i>
<i>ANNEXE 7 : RESULTATS DES TESTS PHYTOPLANCTONIQUE</i>	<i>11</i>

ANNEXE 1 : PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL

I/ IDENTITE DE L'IFREMER

L'IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la MER) est un organisme public, créé par le décret du 5 juin 1984, modifié par celui du 18 février 1998, puis du 14 mars 2002. Ces activités s'inscrivent dans un cadre industriel et commercial respectueux de l'environnement. En effet, cet organisme de recherche vise à développer l'économie et les technologies maritimes tout en permettant une exploitation durable des ressources.

De nombreux pôles de recherches ont pu voir le jour, au sein des 26 stations (21 en métropole et 4 dans les DOM TOM). Chacune de ces stations, est rattachée à un des cinq centres (Boulogne sur mer, Brest, Nantes, Toulon et Tahiti). Le siège social se trouve à Issy les Moulineaux (Val de Marne).

L'Ifremer est placé sous la tutelle conjointe de six ministères : de la Recherche, de l'Agriculture et de la Pêche, des Transports et du logement, et de l'Environnement. Il dispose d'un budget d'environ 150 millions d'euros par an et d'environ 1500 salariés.

De nombreux partenaires participent également activement à ses activités. On pourra citer la DDE, la DDASS, les agences de l'Eau, le CEMAGREF, l'INRA, et les professionnels de la conchyliculture.

➤ HISTORIQUE :

1913 :

Création de l'association d'Encouragement des Industries Ostréicoles et conchyliques françaises (AEIO), avec un laboratoire de microbiologie, à la Tremblade (Charente Maritime).

1918 :

Création de l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes (OSTPM)

1928 :

Le laboratoire de l'AEIO de la Tremblade est rattaché à l'OSTPM.

L'OSTPM présente les premières études relatives à l'appauvrissement des fonds marins, sur la cartographie sous-marine appliquée à la pêche, sur la reproduction de l'huître et sa mortalité.

1954 :

Transformation de l'OSTPM en Institut Scientifique et Technique des pêches Maritimes (ISTPM)

1967 :

Création du CNEOX, établissement public à caractère industriel et commercial. Il se doit "de développer la connaissance des océans, les études et les recherches tendant à l'exploitation des ressources contenues à leur surface, dans leur masse, leur sol et leur sous-sol".

1972 :

Participation du CNEXO à l'élaboration du Réseau National d'Observation (RNO), premier maillon de la chaîne de réseaux gérée aujourd'hui par l'Ifremer.

1976 :

Le CNEXO est chargé de coordonner les programmes de recherche et de développement, de l'ensemble des organismes publics concernés par l'océanologie.

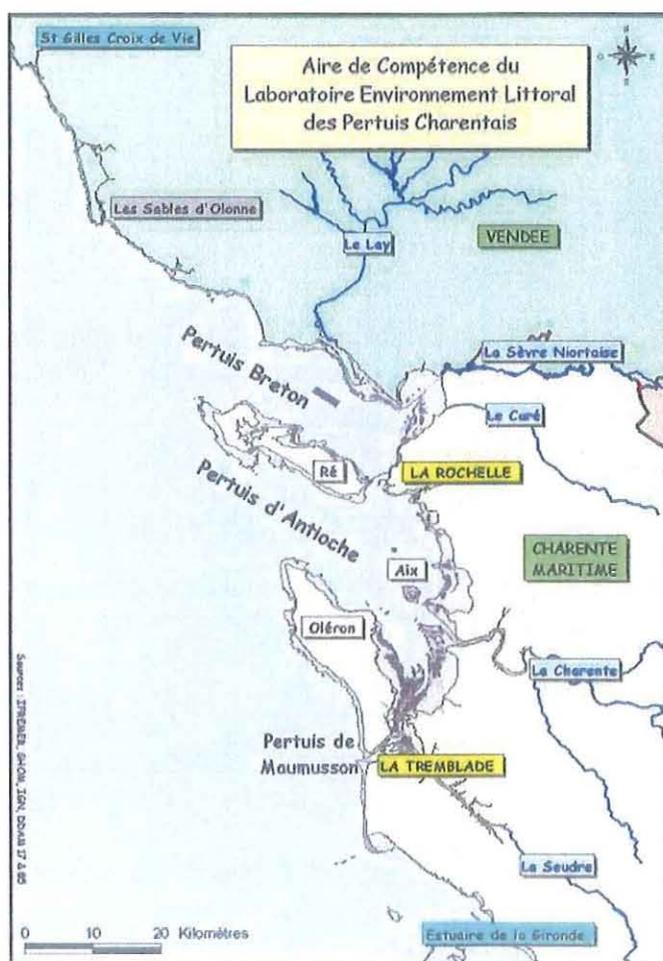
1984 :

Création de l'IFREMER résultant de la fusion de l'ISTPM et du Centre National d'Exploitation pour les Océans (CNEXO).

II/ LA STATION DE LA TREMBLADE

La station de la Tremblade est implantée en Charente Maritime, dans le bassin de Marennes Oléron, premier bassin conchylicole d'Europe actuellement.

Son aire de compétence s'étend de la rive gauche de la Charente (Saint Gilles croix de Vie) à la rive droite de la Gironde.



Source : Site Ifremer, <http://www.ifremer.fr/lerpc/home.htm>

La station comprend en deux laboratoires :

➤ Le Laboratoire Environnement Ressources des Pertuis Charentais (LERPC)

Il résulte de la fusion du Laboratoire de la Direction de l'Environnement littoral (DEL) et du Laboratoire Conchylicole de Poitou-Charentes (LCPC) en 2004

Il gère différents réseaux de surveillance et effectue de nombreuses recherches nécessaires à la gestion des écosystèmes, afin de garantir aux conchyliculteurs et aux consommateurs une bonne qualité des eaux et des coquillages.

Les réseaux de surveillances sont :

- ✓ Le Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin (RNO), 1974
Permet d'évaluer la qualité générale du milieu marin, puis un suivi des contaminations chimiques (métaux lourds, organohalogénés, hydrocarbures polycycliques).
- ✓ Le Réseau de surveillance du PHYtoplancton et des PHYtocotoxines (REPHY), 1984
Permet le suivi spatio-temporel du phytoplancton et de l'apparition de certaines toxines (diarrhéique par *Dinophysis*, amnésiante par *Pseudo nitzschia* et paralysante par *Alexandrium*)
- ✓ Le Réseau de surveillance Microbiologique (REMI), 1989
Évalue le niveau de contamination des coquillages (par *E.coli*) et établit un indice pour faciliter le classement des zones conchylicoles.
L'unité microbiologique assure la fiabilité des résultats obtenus grâce à l'accréditation délivrée par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC).

Les résultats obtenus sont communiqués à l'administration des affaires maritimes et à la préfecture qui peuvent suspendre la mise sur le marché.

➤ Le Laboratoire Génétique et Pathologie (LGP).

Le LGP surveille l'état zoosanitaire des coquillages et diagnostique les agents pathogènes. Il tente également de mettre au point des populations hybrides d'huîtres plus résistantes, pour limiter les risques de la monoculture. Deux espèces ont déjà été décimées sur les côtes françaises (l'huître plate : *Ostrea edulis*, et l'huître creuse espagnole : *Crassostrea angulata* 1970) par deux épizooties.

Les différents réseaux de surveillance mis en jeu pour l'évaluation de la ressource et de la veille zoosanitaire sont :

- ✓ Le REMORA, 1993
Constitue une base de données de la croissance et de la mortalité des huîtres creuses
- ✓ Le REPAMO, réseau de surveillance de la pathologie des mollusques
Permet de suivre l'état de santé des mollusques.
- ✓ Le RAZLEC, réseau hydrologique :
Permet le suivi des paramètres physico-chimiques naturels.

ANNEXE 2 : PHOTOS DES POINTS DE PRELEVEMENTS

(AUBRY F. et NOYON A.)

Figure 1 : Vue aval de la vanne de Montportail



Figure 2 : Vue de la mer depuis la vanne de Montportail

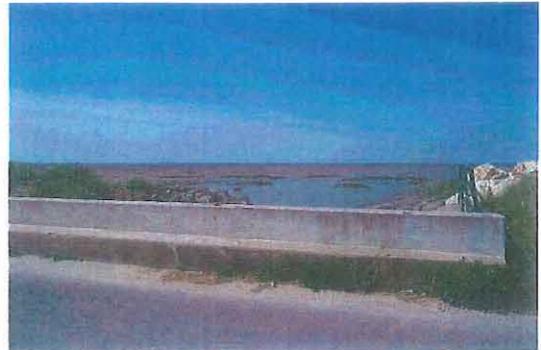


Figure 3 : Prélèvement au point Pompe de Montportail par Daniel MASSON

Figure 4 : Rejet de la Pompe de Montportail



Figure 5 : Vue de cultures en amont de la vanne des Tannes

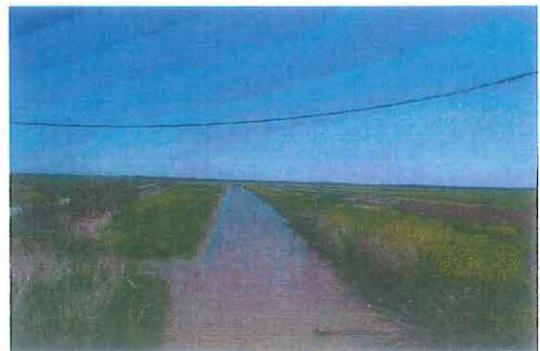


Figure 6 : Vue du chenal de Brouage depuis la vanne des Tannes



Figure 7 : Vue du chenal de Brouage et de cabanes ostréicoles



Figure 8 : Vue de l'écluse de Beaugeay et d'épandage dans le champ voisin



Figure 9 : Vue d'une vanne, permettant d'alimenter le marais agricole, en amont de l'écluse de Beaugeay



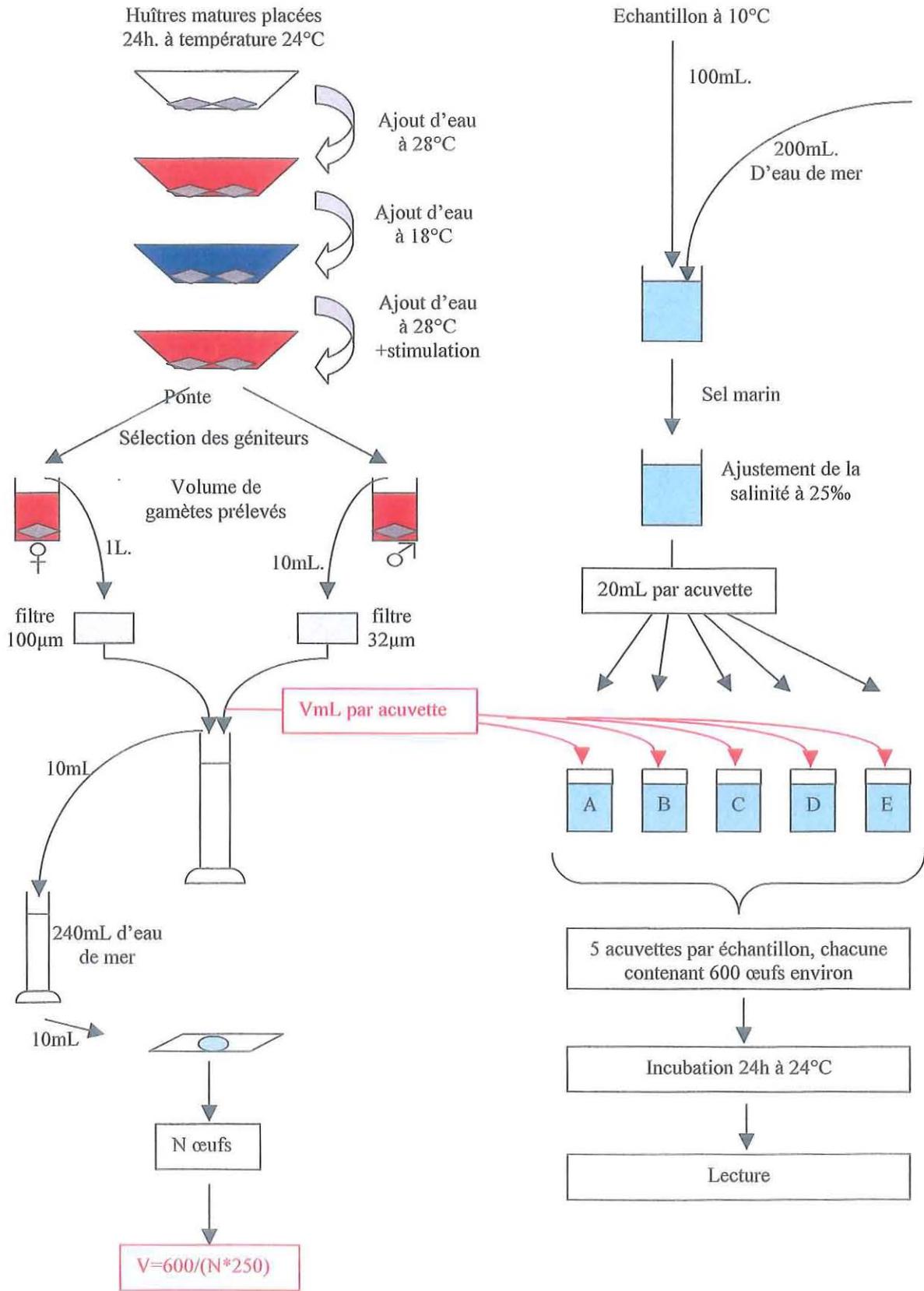
Figure 10 : Vue aval de l'écluse de Beaugeay



Figure 11 : vue amont de l'écluse de Beaugeay



ANNEXE 3 : SCHEMA RECAPITULATIF DU TEST SUR LARVE D'HUITRE



ANNEXE 4 : EVALUATION DE LA DENSITE EN ŒUFS

Afin d'évaluer la densité en œufs, on va :

- Prélever 10mL, de la solution d'œufs obtenu dans l'éprouvette, que l'on introduit dans une éprouvette de 250mL, puis on complète avec de l'eau de mer.
- On agite en réalisant des mouvements de hauts en bas, puis on prélève quatre fois 0,1mL (deux fois en montant et deux fois en descendant). On peut alors dénombrer le nombre d'œufs.

Calculs :

On fait la moyenne des quatre valeurs, ce qui donne :

$$N_1 \text{ œufs pour } 0,1\text{mL.}$$

Soit : N_2 œufs pour 1mL, avec :

$$N_2 = N_1 * 10$$

Or N_2 correspond à la quantité d'œufs dans 10mL de solution mère, diluée dans 250mL.

On détermine alors, le nombre œufs N_3 , dans un 1mL de solution mère :

$$N_3 = N_2 * 250/10$$

On peut maintenant déterminer le volume à prélever pour obtenir 600 œufs :

On à : N_3 œufs correspond à 1mL de solution mère

600 œufs correspondent à VmL de solution mère

soit

$$V = 600/N_3$$

On peut résumer ces calculs par la formule :

$$V = 600/(N_1 * 250)$$

Par exemple :

On dénombre : 80, 94, 56 et 62 œufs.

Soit : 73 œufs / 0,1mL.

On prélève donc : 33 μ L.

ANNEXE 5 : PHOTOS DES MANIPULATIONS

(AUBRY F. et NOYON A.)

Figure 1 :Echantillon d'eau



Figure 2 : Préparation des échantillons



Figure 3 : Cuvette contenant les huîtres



Figure 4 : Isolation des géniteurs après la transmission des gamètes



Figure 5: Acuvettes contenant les séries d'échantillons à analyser



ANNEXE 6 : TABLEAU DE RESULTATS DES TESTS LARVAIRES

13 mars 2005							
	A	B	C	D	E	Moyenne	Qualité du milieu
Témoin 1	5	8	4	4	7	5,6	Interprétable
Témoin 2	8	9	8	9	13	9,4	Interprétable
Vanne Montportail	16	17	18	6	18	15,0	peu pollué
Pompe Montportail	9	4	3	6	5	5,4	peu pollué
Vanne Tannes	13	12	7	6	8	9,2	peu pollué
Chenal Brouage	15	11	13	6	9	10,8	peu pollué
Ecluse Beaugeay	14	26	20	23	25	21,6	peu pollué
29 mars 2005							
Témoin 1	5	8	4	4	7	5,6	Interprétable
Témoin 2	8	9	8	9	13	9,4	Interprétable
Vanne Montportail	3	2	5	11	7	5,6	peu pollué
Pompe Montportail	29	30	23	16	18	23,2	peu pollué
Vanne Tannes	5	10	14	12	5	9,2	peu pollué
Chenal Brouage	23	23	17	24	23	22,0	peu pollué
Ecluse Beaugeay	16	16	15	22	15	16,8	peu pollué
12 avril 2005							
Témoin 1	5	8	4	4	7	5,6	Interprétable
Témoin 2	8	9	8	9	13	9,4	Interprétable
Vanne Montportail	15	20	7	12	12	13,2	peu pollué
Vanne Tannes	5	8	10	8	9	8,0	peu pollué
Chenal Brouage	7	8	1	3	2	4,2	peu pollué
Ecluse Beaugeay	17	9	6	16	12	12,0	peu pollué
18 avril 2005							
Témoin 1	8	5	5	4	5	5,4	Interprétable
Témoin 2	5	5	3	3	5	4,2	Interprétable
Vanne Montportail	14	24	15	16	14	16,6	Peu pollué
Pompe Montportail	95	100	90	91	51	85,4	Massivement pollué
Vanne Tannes	34	30	16	26	13	23,8	Peu pollué
Chenal Brouage	44	32	49	32	63	44,0	Moyennement pollué
Ecluse Beaugeay	15	28	14	10	24	18,2	Peu pollué
26 avril 2005							
Témoin 1	8	5	5	4	5	5,4	Interprétable
Témoin 2	5	5	3	3	5	4,2	Interprétable
Vanne Montportail	9	14	9	15	29	15,2	Peu pollué
Pompe Montportail	100	100	100	100	100	100,0	Massivement pollué
Vanne Tannes	23	18	17	19	20	19,4	Peu pollué
Chenal Brouage	20	13	13	11	22	15,8	Peu pollué
Ecluse Beaugeay	16	11	12	9	15	12,6	Peu pollué

2 mai 2005							
	A	B	C	D	E	Moyenne	Qualité du milieu
Témoin 1	8	5	5	4	5	5,4	Interprétable
Témoin 2	5	5	3	3	5	4,2	Interprétable
Vanne Montportail	19	18	16	15	23	18,2	Peu pollué
Pompe Montportail	100	98	99	91	78	93,2	Massivement pollué
Vanne Tannes	5	16	9	4	12	9,2	Peu pollué
Chenal Brouage	20	13	13	11	22	15,8	Peu pollué
Ecluse Beaugeay	16	11	12	9	15	12,6	Peu pollué
10-mai 2005							
Témoin 1	17	19	17	13	17	16,6	Interprétable
Témoin 2	16	25	10	19	20	18,0	Interprétable
Vanne Montportail	59	34	27	32	60	42,4	Pollution moyenne
Pompe Montportail	80	100	75	87	79	84,2	Pollution massive
Vanne Tannes	28	52	55	63	55	50,6	Très pollué
Chenal Brouage	29	52	73	74	38	53,2	Très pollué
Ecluse Beaugeay	77	65	77	69	74	72,4	Très pollué
19 mai 2005							
Témoin 1	43	26	23	28	23	28,6	non interprétable
Témoin 2	19	28	32	28	40	29,4	non interprétable
Vanne Montportail	24	38	40	41	16	31,8	
Pompe Montportail	100	100	99	98	95	98,4	
Vanne Tannes	19	30	21	33	29	26,4	
Chenal Brouage	32	24	32	20	18	25,2	
Ecluse Beaugeay	29	37	34	23	26	29,8	
23 mai 2005							
Témoin 1	13	20	14	7	6	12,0	Interprétable
Témoin 2	5	8	5	11	6	7,0	Interprétable
Vanne Montportail	13	9	14	11	16	12,6	Peu pollué
Pompe Montportail	6	7	10	10	7	8,0	Peu pollué
Vanne Tannes	12	11	13	9	15	12,0	Peu pollué
Chenal Brouage	15	18	11	17	16	15,4	Peu pollué
Ecluse Beaugeay	19	10	17	26	23	19,0	Peu pollué

ANNEXE 7 : RESULTATS DES TESTS PHYTOPLANCTONIQUE

Ce test étant relativement long (5 jours), il a été réalisé uniquement sur les points qui on donné de mauvais résultats.

