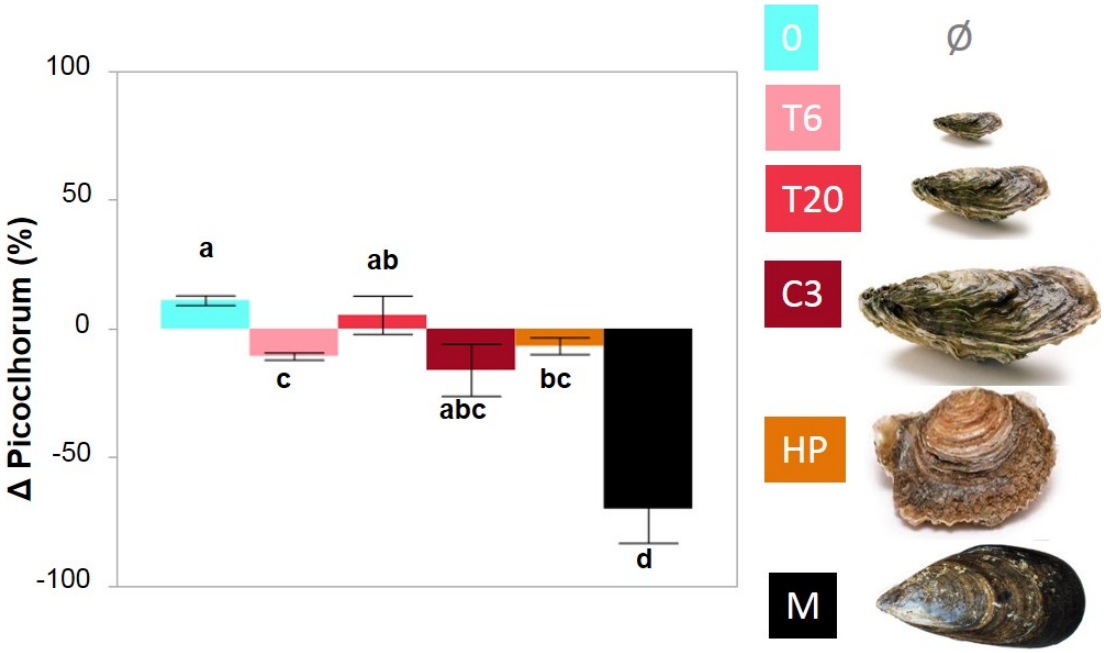
ODE/LERLR & MARBEC (Ifremer, UM, CNRS, IRD)
Richard Marion • Bec Béatrice • Bergeon Lauriane • Hébert Matthew • Mablouké Cécile • Atteia Ariane • Lagarde Franck • Date : 23/06/2021

RST ODE/UL/LERLR21-20

Influence de la filtration de différentes espèces et tailles de bivalves sur les concentrations de *Picochlorum* sp., responsable du phénomène d'eaux vertes observé dans la lagune de Thau en 2018



Fiche documentaire

Titre du rapport : Influence de la filtration de différentes espèces et tailles de bivalves sur les concentrations de *Picochlorum* sp., responsable du phénomène d'eaux vertes observé dans la lagune de Thau en 2018	
Référence interne : RST ODE/UL/LERLR 2021-20 **Diffusion :** ☐ libre (internet) ☒ restreinte (intranet) – date de levée d'embargo : 2023/06/23 ☐ interdite (confidentielle) – date de levée de confidentialité : AAA/MM/JJ	**Date de publication :** 2021/06/23 **Version :** 1.0.0 **Référence de l'illustration de couverture** Graphique issu du projet Overte - interaction Bivalves-*Picochlorum*, Richard, juin 2021 **Langue(s) : Français**

Résumé/ Abstract : En 2018, dans un contexte climatique exceptionnel, la lagune de Thau a été impactée par une « malaïgue » causant des mortalités estivales massives puis par un phénomène d'eaux vertes, dominé par le picophytoplancton du genre *Picochlorum* durant l'automne 2018, entrainant un arrêt de croissance chez les huîtres. Inquiétés par le phénomène et les impacts engendrés sur la production, les acteurs locaux ont co-construit le projet de recherches « Overte » pour (i) mettre en place un suivi environnemental pour décrire ce phénomène et mieux le comprendre et (ii) mettre en évidence les interactions entre *Picochlorum* et les coquillages en élevage. Ce rapport aborde le second objectif. Ainsi une série d'expérimentations a été réalisée en février 2019 pour tester les capacités de différentes espèces et tailles de bivalves en élevage, à diminuer les abondances de *Picochlorum* par leur activité de filtration. Ces expériences ont été réalisées en laboratoire à l'aide d'une série de béchers contenant (i) 3 types de solutions (1L) : l'eau de la lagune de Thau contenant *Picochlorum* à 45,2 millions de cellules.L^{-1} (P) ou à 20,7 millions de cellules.L^{-1} (D) et une solution d'*Isochrysis galbana* ; (ii) en absence ou en présence de 5 types de bivalves : des huîtres creuses (*Crassostrea gigas)* de taille T6, T20 ou C3, des huîtres plates, *Ostrea edulis,* ou des moules méditerranéennes *(Mytilus galloprovincialis*). Une série de prélèvements d'eau a été réalisée au cours des 40 minutes d'incubation pour déterminer la variabilité temporelle des concentrations de picophytoplancton et de nanophytoplancton par cytométrie en flux. Cette étude a permis de démontrer qu'au contraire des huîtres creuses et des huîtres plates, les moules d'un poids moyen de 21,4 g sont capables de diminuer drastiquement les abondances de *Picochlorum* et ainsi de retenir près de 1 millions de cellules de *Picochlorum* par minute à 11,4°C. Ces résultats suggèrent que les 1228 tonnes de moules, mortes en 2018 avant l'efflorescence de *Picochlorum,* auraient pu participer au contrôle de l'efflorescence de *Picochlorum* si elles avaient survécu aux chaleurs et à l'anoxie. Au vu de ces résultats, il serait sans doute important d'assurer une gestion de stock des moules dans la lagune de Thau. Néanmoins il serait très important de récolter les moules en élevage avant les chaleurs estivales, pour éviter des mortalités massives telles que celles observées ces dernières années en lien avec le réchauffement climatique. Les perspectives de ce travail sont de tester les capacités de filtration des moules selon un gradient de température et de concentrations cellulaires pour déterminer le seuil de concentration à partir duquel *Picochlorum* ne serait plus ingéré et assimilé mais rejeté dans la colonne d'eau sous forme de pseudofécès.

Mots-clés/ Key words : *Crassostrea gigas*, *Ostrea edulis*, *Mytilus edulis*, Filtration, *Picochlorum sp.*, Thau	
Comment citer ce document : Richard, Bec, Bergeon, Hébert, Mablouké, Atteia, Lagarde (2021) Influence de la filtration de différentes espèces et tailles de bivalves sur les concentrations de *Picochlorum sp.* responsable du phénomène d'eaux vertes observé dans la lagune de Thau en 2018. Rapport Scientifique et Techniques Ifremer, ODE/UL/LERLR21-20. 39 p	
Disponibilité des données de la recherche :-	
DOI :	
Commanditaire du rapport: Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation (DPMA) Région Occitanie Département de l'Hérault Sète Agglopôle Méditerranée Ifremer	
Nom / référence du contrat : Convention de financement à un appui scientifique et technique de l'Ifremer à la suite du phénomène d'eaux vertes lié à une efflorescence de picophytoplancton dans la lagune de Thau. Réf: 19/2 217 111	
Projets dans lesquels ce rapport s'inscrit (programme européen, campagne, etc.) : Projet OVERTE. Ref.19/2 217 111	
Auteur(s) / adresse mail	**Affiliation / Direction / Service, laboratoire**
Marion Richard/ marion.richard@ifremer.fr	MARBEC Ifremer/ODE/UL/LERLR
Béatrice Bec/ Beatrice.bec@umontpellier.fr	MARBEC UM
Lauriane Bergeon/ bergeon-lauriane@hotmail.fr	Stagiaire de M2 2019 (Ifremer)
Matthew Hébert/ hebert@cepralmar.org	Cepralmar
Cécile Mablouké/ mablouke@cepralmar.org	Cepralmar
Ariane Atteia/ ariane.atteia@cnrs.fr	MARBEC CNRS
Franck Lagarde/ franck.lagarde@ifremer.fr	MARBEC Ifremer/ODE/UL/LERLR
Encadrement(s) : Marion Richard	

Destinataires : - Ministère de l'Alimentation et Direction des pêches maritimes et de l'Aquaculture représentés par la Direction départementale des territoires et de la mer de l'Hérault, - Région Occitanie représentée par la Direction de la Mer/ Service Aménagement Durable et Economie Littorale (ADEL), - Département de l'Hérault représenté par la Direction du service ports et filières maritimes, - Sète Agglopôle Méditerranée représenté par la Direction du service espaces naturels, - Ifremer représenté par la direction Centre de Méditerranée.
Validé par : Annie Fiandrino (Resp Ifremer-ODE-UL-LERLR)

Sommaire

Table des matières

1 Préambule 7

2 Introduction 8

2.1 Contexte et objectif principal 8

2.1 Etat de l'art de la filtration des bivalves filtreurs et objectifs spécifiques 9

3 Matériel et méthodes 13

3.1 Matériel biologique 13

3.1.1 Solution phytoplanctonique 13

3.1.2 Bivalves 13

3.2 Principe et Dispositifs expérimentaux 14

3.2.1 Détermination des taux de filtration théoriques pour chacune des espèces de Bivalves étudiées en fonction de leur poids et de la température du milieu d'étude (11.4°C) 14

3.2.2 Détermination du temps nécessaire aux bivalves pour filtrer la totalité du volume contenu dans le bécher 16

3.2.3 Ajustement de l'abondance de certains Bivalves pour obtenir un volume filtré et une durée d'incubation équivalents en fonction des traitements 16

3.2.4 Détermination du temps d'incubation et des temps de prélèvements 17

3.3 Design expérimental et échantillonnage 17

3.4 Abondances du pico- et du nano-phytoplancton 19

3.5 Mesures de flux ou abattement 20

3.6 Statistiques 21

4 Résultats 22

4.1 Abondances initiales de pico- et nano-phytoplancton 22

4.2 Evolution temporelle des abondances de pico- et nano-phytoplancton en fonction de la présence des 5 types de bivalves et des solutions testées 24

4.3 Pourcentage d'abattement des abondances cellulaires en fonction de la présence des 5 types de bivalves et des trois types de solutions testées 25

5 Discussion 27

6 Conclusions et perspectives 31

7 Références 33

Annexe 36

1 Préambule

Les résultats contenus dans ce rapport font partie du projet OVERTE (convention ref.19/2 217 111). Le projet OVERTE, a été développé en 2019 à la suite du phénomène d'eaux vertes engendré par l'efflorescence du picophytoplancton *Picochlorum* dans la lagune de Thau. Mis en œuvre par l'Ifremer, et porté scientifiquement par l'UMR MARBEC, ce projet a bénéficié d'un co-financement accordé par la Direction des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture (DPMA, Ministère de l'agriculture et de l'Alimentation), la Région Occitanie, le Département de l'Hérault, l'Agglopôle Sète-Méditerranée et l'Ifremer. Ce projet a reçu le soutien technique et logistique du CEPRALMAR, du Syndicat Mixte du Bassin de Thau, du Comité Régional de la Conchyliculture en Méditerranée et de différents professionnels. Les auteurs les en remercient.

Le projet Overte a permis de financer le matériel nécessaire à l'expérimentation décrite dans ce rapport (bidons, béchers, consommables) et une partie des analyses de cytométrie en flux (1/4) par l'intermédiaire du CEPRALMAR en 2019.

Les analyses en cytométrie en flux ont été réalisées pour le premier quart par Béatrice Bec et poursuivies par Lauriane Bergeon dans le cadre de son stage de Master II, co-encadré par Marion Richard, Béatrice Bec, Ariane Atteia et Franck Lagarde. Ce travail a été financé par l'Ifremer et l'UMR MARBEC. Il a fait l'objet d'une soutenance et d'un rapport de stage de MII (Bergeon 2020). Merci à Lauriane Bergeon pour son travail d'analyses et de rédaction.

La conception de l'expérience réalisée en 2019 a été effectuée par Marion Richard à la suite d'une demande des professionnels. La préparation et les échantillonnages ont été effectués par Marion Richard, Cécile Mablouké, Matthew Hébert et Béatrice Bec. L'analyse de données a été effectuée par Marion Richard, Béatrice Bec et Lauriane Bergeon. Les corrections du rapport de Master 2 ont été effectuées par Marion Richard, Béatrice Bec, Ariane Atteia et Franck Lagarde. Ce rapport technique a été rédigé et mis en forme par Marion Richard, relu et révisé par les coauteurs.

2 Introduction

2.1 Contexte et objectif principal

La lagune de Thau soutient l'économie du territoire de Thau à travers l'industrie conchylicole. Située entre terre et mer, la lagune de Thau est un milieu productif qui permettait de produire de 7856 t d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) et 2843 t de moules Méditerranéennes (*Mytilus edulis*) par an en 2017 (Le Gal 2019). D'autres espèces comme l'huître plate (*Ostrea edulis*) sont élevées dans une moindre mesure dans la lagune de Thau dans un but de diversification de la filière.

Alors qu'aucun phénomène d'anoxie n'avait été observé depuis 2006 (Derolez et al. 2020a), une malaïgue a sévèrement impacté le fonctionnement de la lagune de Thau et l'usage conchylicole en 2018, induisant ainsi une crise économique, sociale et environnementale majeure. Ce phénomène a été provoqué par des conditions climatiques exceptionnelles : 1) un cumul de pluie sur les six premiers mois de l'année 2018 équivalent au cumul annuel moyen de l'ordre de 544 $mm.an^{-1}$ sur la période 1994-2016 (Bec et al. 2018), 2) des chaleurs atmosphériques induisant une canicule marine, 3) une période de vent faible (majoritairement inférieur à 20 $km.h^{-1}$) ayant limité ainsi la circulation des masses d'eaux et la réoxygénation de l'eau par les masses d'air (Lagarde 2018, Richard & Fiandrino 2018). Dans ce contexte, la désoxygénation de la masse d'eau a été induite par une demande en oxygène excédant les stocks d'oxygène disponibles. L'augmentation de la température de l'eau, l'anoxie et les productions de sulfure d'hydrogène associées ont occasionné la mortalité de 100% du stock de moules (1218 t) et de plus de 30% de la production huîtres (2703 t), engendrant un impact économique pour la filière conchylicole de près de 5,9 millions d'euros (Préfet de l'Hérault 2018). Ce phénomène a également conduit à la mortalité de nombreux poissons et invertébrés benthiques (Richard & Fiandrino 2018). Au-delà du fait qu'en anoxie, des apports importants d'ammonium et de phosphate sont classiquement observés à l'interface eau-sédiment (Souchu et al. 1998), la dégradation et la minéralisation des chairs d'organismes morts ont probablement augmenté drastiquement ces apports dans la colonne d'eau, comme démontré en laboratoire (Richard et al. 2017) et en milieu naturel (Richard et al. 2019) au cours de mortalités massives de juvéniles d'huitres. Ces apports importants de nutriments azotés et phosphorés auraient pu alors favoriser la production du picophytoplancton du genre *Picochlorum sp.* (microalgue de petite taille < 3 µm), responsable du phénomène d'eaux vertes observé à partir de l'automne 2018 (Lagarde et al 2021). Selon la classification du « World Register of Marine Species » (WORMS), ces organismes appartiennent à l'ordre des Chlorellales. Les espèces appartenant au genre *Picochlorum* sont connues pour être tolérantes aux variations de conditions environnementales, notamment aux variations de températures et de salinité (Foflonker et al. 2015, Krasovec et al. 2018), ce qui leur donne un avantage écologique dans des situations climatiques fluctuantes. Certaines espèces peuvent se développer très rapidement ; c'est le cas par exemple de *P. celeri* ; avec un temps de doublement de 2 heures (Weissman et al. 2018). Un phénomène d'eaux vertes dû à *Picochlorum* (anciennement *Nannochloris*) avait été observé dans les années 1980 dans l'étang de Salses-Leucate dans un contexte d'apports trophiques excessifs provenant de déversement d'effluents non traités dans la lagune (Boutière et al. 1982). Les concentrations avaient été évaluées de l'ordre du milliard de cellules par litre. Ces concentrations étaient équivalentes à celles observées en janvier 2019 sur Thau au niveau de la zone de production de Bouzigues (1,1-1,2 x 10^9 $cellules.L^{-1}$) pour une biomasse exceptionnelle de 26 $\mu g.L^{-1}$ (Lagarde et al 2021). De telles biomasses phytoplanctoniques n'avaient jamais été observées dans la lagune de Thau depuis la création des réseaux d'observation et de surveillance de l'Ifremer (REPHY 2021, DCE : Bouchoucha et al. 2019). Cette efflorescence a par ailleurs causé un arrêt de croissance chez les huîtres durant l'automne 2018 et l'hiver 2019 (Lagarde et al 2021). Sur cette même période,

des mortalités d'huîtres ont été déclarées à la DDTM. Les analyses réalisées dans le cadre d'une saisine REPAMO ont démontré que les mortalités n'étaient pas liées à un pathogène référencé. Les experts ont alors conclu que la cause devait être environnementale. Au niveau de la lagune de Salse-Leucate, le développement massif de cette chlorophycée dans les années 80 avait conduit également au dépérissement des huîtres et des moules dans les élevages (Boutière et al. 1982). Les scientifiques avait relié ce constat à un phénomène de malnutrition, supposé être dû au nombre trop élevé des particules dans l'eau (Boutière et al. 1982).

Compte tenu du caractère inédit de ce phénomène et des impacts engendrés sur la profession conchylicole et potentiellement sur l'environnement, les Services de l'Etat associés aux acteurs de la filière conchylicole ont demandé aux scientifiques régionaux (MARBEC/Ifremer, IRD, Université de Montpellier, CNRS) (i) de mettre en place un suivi environnemental pour décrire ce phénomène et mieux le comprendre et (ii) (ii) de mettre en évidence les interactions entre *Picochlorum* et les coquillages en élevage. Ce rapport aborde le second objectif.

2.1 Etat de l'art de la filtration des bivalves filtreurs et objectifs spécifiques

Les coquillages en élevage sont des bivalves filtreurs. Ces bivalves ont la capacité de filtrer l'eau et les particules qu'elles contiennent par l'intermédiaire de leurs branchies. L'anatomie des bivalves divergent en fonction des espèces. Ainsi l'huître creuse, l'huître plate, la moule de Méditerranée, toutes trois élevées dans Thau, ne possèdent pas la même anatomie (Annexe 1 ; Annexe 2 ; Annexe 3). Les moules comme les huitres possèdent néanmoins un manteau, des branchies et des palpes labiaux, équipés de cils, permettant de faire circuler l'eau et diriger les particules nutritives jusqu'à la bouche de l'animal (Winter 1978, Gosling 2015). Ces particules sont ensuite ingérées par la bouche et transférées vers leur système digestif ou bien rejetées sous forme de pseudofécès (Gosling 2015) par le siphon exhalant pour la moule ou le manteau pour les huîtres. Ces trois espèces ont également des capacités de filtration différentes. A poids sec égal (1g) et à 15°C, une moule de Méditerranée est connue pour filtrer 4,08 litres d'eau en une heure, tandis qu'une huître creuse et une huître plate filtreront un volume équivalent de 3,7 litres par heure. Leur capacité de filtration augmente avec le poids de l'organisme en suivant une loi allométrique (Winter 1978, Gosling 2015). Ainsi les plus petits organismes ont des capacités de filtration supérieures aux plus grosses lorsque ces capacités sont rapportées au poids (Winter 1978). Ces relations sont également influencées positivement par la température (Gosling 2015). L'optimum thermique de la moule de Méditerranée est de 15 °C tandis que ceux de l'huitre creuse et de l'huitre plate sont respectivement de 19°C et de 21°C (Tableau 1). A partir des relations tirées de la littérature (Tableau 1), nous avons pu réaliser la figure ci-après pour illustrer la variabilité interspécifique du taux de filtration pour un bivalve de 1 g de poids sec en fonction d'un gradient de température.

Tableau 1: Tableau récapitulatif des valeurs issues de la littérature pour le taux de filtration, le coefficient allométrique, la température d'Arrhénius et la température optimale pour les trois espèces étudiées

	Taux de filtration standard: Ys = K1 = a ($L.h^{-1}.DWg^{-1}$)	**Coefficient allométrique b**	**Température donnée (°C)**	**Références**	**Température Arrhénius TA (Kelvin)**	**Température optimale T (Kelvin= T°C + 273.15)**	**Références**
Crassostrea gigas	4,82	0,44	19	*Bougrier et al. 1995*	5800	292,15	*Bernard et al. 2011*
Mytilus galloprolíncialis	4,08	1,06	15	*Van Erkom Schurinkand Griffiths 1992*	7146	288,15	*DEB TOOL**
Ostrea edulis	6,55	0,46	20-22	*Pouvreau et al. 1999*	8129	294,15	*DEB TOOL***

* http://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add_my_pet/entries_web/Mytilus_galloprovincialis_res.html

** https://www.bio.vu.nl/thb/deb/deblab/add_my_pet/entries_web/Ostrea_edulis/Ostrea_edulis_par.html

[a] loi d'Arrhénius : K(T) = K1 exp (TA/T1-TA/T) (Koojman et al. 2010) avec K(T) = taux métabolique mesuré à la température T, (K1) = taux métabolique optimal mesuré à la température optimal (T1) et TA = température d'Arrhénius.

[b] relations allométriques : Ye = a We [b] (Golsing et al. 2015) et Ys = (Ws /We)[b] x Ye (Bayne et al. 1987) où Ye = taux métabolique expérimental pour un individu de poids (We) et Ys = taux métabolique standard pour un individu de poids standard (Ws, 1g de poids sec), a = taux métabolique standard et b = coefficient allométrique.

[C] relations biométriques : Huitre creuse : Poids sec = 2.8% Poids Total (REMORA-RESCO 94-2017), moules : Poids sec = 4.3% Poids Total (SBTag2017)

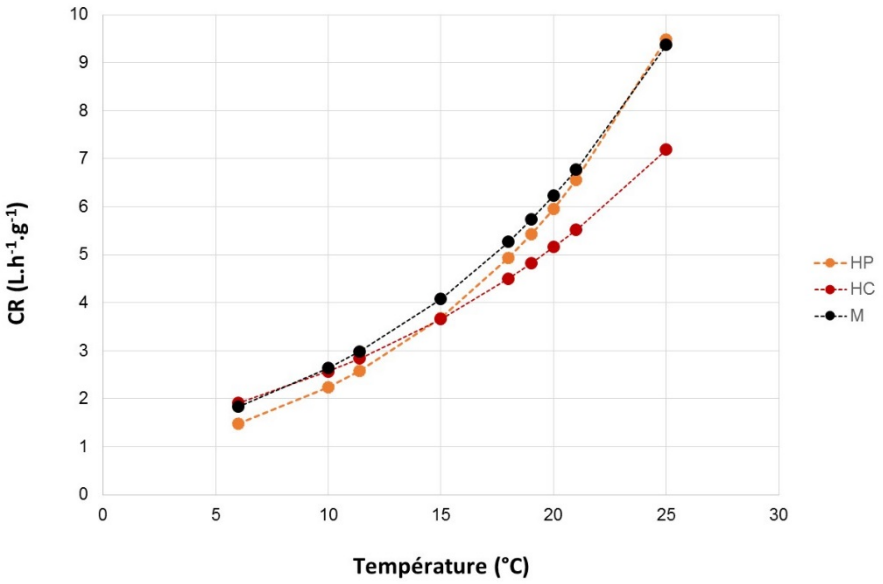


Figure 1: Taux de filtration individuel d'une huître creuse (HC), d'une huître plate (HP) et d'une moule de Méditerranée (M) de poids sec de chair de 1 g et calculé en fonction de la température du milieu en degrés Celsius. Notez qu'un bivalve de 1 g de poids sec de chair, correspond à une huître creuse de 36 g, une huître plate de 47 g et une moule de 23 g.cf. Tableau 1 c pour plus de détails sur les relations biométriques

Cette Figure 1 illustre le fait qu'il n'est pas possible de comparer les activités de filtrations des bivalves sans mentionner le nom de l'espèce, leur poids ou encore la température à laquelle ils sont exposés.

Outre leurs capacités de filtration, ces différentes espèces de bivalves ont également des capacités différentes de rétention des particules. Les huîtres de taille commerciale, sont connues pour filtrer des particules avec une rétention totale pour les particules de taille supérieure à 4-5 µm (Barillé et al. 1993, Dupuy et al. 2000a). Elles ingèrent ainsi des procaryotes adsorbés à de la matière en suspension, du nano- (3-20 µm) et du micro- (20-200 µm) plancton, associés à des groupes fonctionnels nommés protistes, phytoplancton et zooplancton (Barillé et al. 1993, Tamburri & Zimmer-Faust 1996, Lam-Hoai et al. 1997, Dupuy et al. 1999, 2000a, Troost et al. 2009). Alors que des huîtres de taille commerciale ont été définies comme incapables de retenir les picoparticules (0-3 µm) (Dupuy et al. 2000a), une étude récente a pu mettre en évidence que du naissain d'huîtres creuses était capable d'abattre les concentrations de picophytoplancton à travers leur activité de filtration (Richard et al. 2019). La capacité de rétention des petites tailles de particules, tel que le picoplancton varierait ainsi en fonction de la taille de l'huître et de l'anatomie de son système branchial, connu pour évoluer au cours de son développement (Cannuel & Beninger 2006). La majorité des études concernant la capacité de rétention des moules (Trottet et al. 2008, Strohmeier et al. 2012a, Cranford et al. 2016, Sonier et al. 2016) concernent la moule bleu (*Mytilus edulis*). Une série d'expériences (Cranford et al. 2016) a montré que les moules avaient un taux de rétention maximum pour les particules > 8-11 µm et que ce taux diminuait progressivement, avec une rétention de 50-60 % pour des particules de 4 µm et de 30-40 % pour les particules de 2 µm. Sonier et al. (2016) ont quant à eux déterminé un taux de 20% pour les particules allant de 0,2 à 2 µm, alors que Strohmeier et al. (2012) ont déterminé des taux de rétention entre 14-64% et 12-86% pour les particules de 1 µm et 4 µm respectivement. Ces différentes observations amènent à s'interroger sur la capacité de filtration de *Picochlorum* par les différentes

espèces de bivalves élevés dans la lagune de Thau et plus globalement sur la potentielle capacité des coquillages en élevage dans Thau à exercer un contrôle sur le développement de *Picochlorum* via leur activité de filtration.

Au moment du phénomène d'eaux vertes, plusieurs conchyliculteurs de Thau ont observé que la présence de moules dans les bassins de stockage permettait d'éclaircir l'eau au cours du temps au contraire d'huîtres de taille commerciale. D'autres relataient avoir observé le phénomène avec du naissain d'huîtres.

Afin de valider scientifiquement ces observations, nous avons réalisé une série d'expérience afin de déterminer l'influence de différentes espèces de bivalves (*Crassostrea gigas, Mytilus edulis, Ostrea edulis*) et tailles d'huîtres creuses (naissain, juvénile, taille commerciale) sur l'abondance de *Picochlorum* pour explorer la variabilité de leur capacité de rétention. L'expérience a été mise en place avec une méthode d'analyse de la filtration effectué en système fermé (Dupuy et al. 1999) pour avoir des réponses dans les délais les plus courts. Cette méthode a l'avantage d'être peu couteuse, reproductible et permettant de tester simultanément l'influence de plusieurs facteurs sur l'évolution temporelle des abondances cellulaires du phytoplancton contenues dans les différents systèmes. L'efficacité globale de rétention des particules pouvant varier également en fonction des concentrations (Barillé et al. 1993) et de la nature du seston (Barillé et al. 1993, Dupuy et al. 2000a), il nous a paru intéressant de travailler à partir de différentes solutions phytoplanctoniques plus ou moins concentrées en pico- et nano-phytoplancton. Ainsi les tests ont été effectués à partir de l'eau de la lagune de Thau plus ou moins diluée et une solution de culture d'une espèce nanophytoplanctonique, nommée *Isochrysis galbana,* classiquement donnée comme espèce-fourrage aux bivalves en élevage (Wilson 1983).

3 Matériel et méthodes

Cette expérience a été réalisée entre le 8 et le 13 février 2019 à la station Ifremer Sète, dans une salle non chauffée pour permettre de travailler au plus proche de la température de la lagune de Thau (9°C) à cette saison.

3.1 Matériel biologique

3.1.1 Solution phytoplanctonique

Des prélèvements ont été réalisés le 11 février 2019 au niveau de la station de Bouzigues dans la lagune de Thau afin de déterminer la concentration de *Picochlorum* pour préparer au mieux la stratégie de dilution. La concentration de *Picochlorum* a été estimée à 60 x 10^6.L^{-1}. L'abondance de *Picochlorum* était en train de décroître dans la lagune.

Trois solutions phytoplanctoniques ont été préparées à partir de ce prélèvement : la première, appelée solution P, correspondait à cette eau brute. Afin de préparer les deux autres solutions, l'eau de la lagune (P) a été filtrée sur des filtres GF/F de porosité 0,7 µm pour obtenir une eau filtrée (F) dépourvue de pico- et nano-phytoplancton, de salinité (36 psu) et de composition chimique identiques à celle de P.

La seconde solution (D) a été préparée avec 8,33 L de P (théoriquement à 60 x 10^6 cellules.L^{-1}) diluée dans 11,67 L d'eau de mer filtrée F afin de se rapprocher des concentrations habituellement observées dans la lagune de Thau à cette même période (25 x 10^6 cellules.L^{-1} : Bec et al. 2005).

La troisième solution a été préparée avec de l'eau de mer filtrée (F) inoculée à l'aide d'une souche d'*Isochrysis galbana* (I), habituellement utilisée pour l'alimentation des bivalves en écloserie. Cette souche a été fournie par l'entreprise GreenSea avec une concentration de 10^{10} cellules.L^{-1}. Ayant inoculé 50 mL d'*Isocrhysis* galbana pour 19,95 L d'eau de mer filtrée, la concentration théorique d'*Isochrysis galbana* devait avoisiner 25 x 10^6 cellules. L^{-1} afin de se rapprocher au plus des concentrations du picophytoplancton de la solution D. Les solutions ont été homogénéisées à l'aide da barreaux aimantés et acclimatées dans des armoires réfrigérées à 9°C, température mesurée dans l'étang à cette période.

3.1.2 Bivalves

Trois espèces de bivalves ont été utilisées pour cette expérience : l'huître creuse *Crassostrea gigas* (HC), l'huître plate *Ostrea edulis* (HP) et la moule de Méditerranée *Mytilus galloprovincialis* (M). Les huîtres plates ont été élevées et fournies par JM Deslous Paoli, conchyliculteur de la lagune de Thau. Les moules, originaires d'Espagne, ont été fournies par E. Fournier. Trois calibres (*i.e*. tailles) d'huîtres creuses ont été sélectionnés : du naissain d'huîtres passant à travers un tamis de 6 mm (T6) des huîtres ayant la taille d'être collées sur cordes et passant à travers un tamis de 20 mm (T20) et des individus ayant la taille d'être commercialisés et correspondant à un calibre 3, c'est à dire avec un poids compris entre 66 et 85 g. Ces dernières ont été élevées dans la lagune de Thau au niveau de la zone de Bouzigues par JM Deslous Paoli. Les huîtres de calibre T6 et T20 ont été fournies par l'écloserie France Naissain.

En amont des expériences, le 8 février 2019, trente individus par type de bivalves ont été mesurés, pesés à l'aide d'un pied à coulisse et d'une balance de précision à la station de l'Ifremer Sète. La taille et le poids total moyen des individus étaient de 12,4 mm vs. 0,25 g pour les T6 ; 38,7 mm vs. 3,8 g pour

les T20 ; 82,5 mm pour 71,6 g pour les C3 ; 72,1 mm vs. 47,4 g pour les HP et de 69,2 mm vs. 21,4g pour les M (Figure 2).

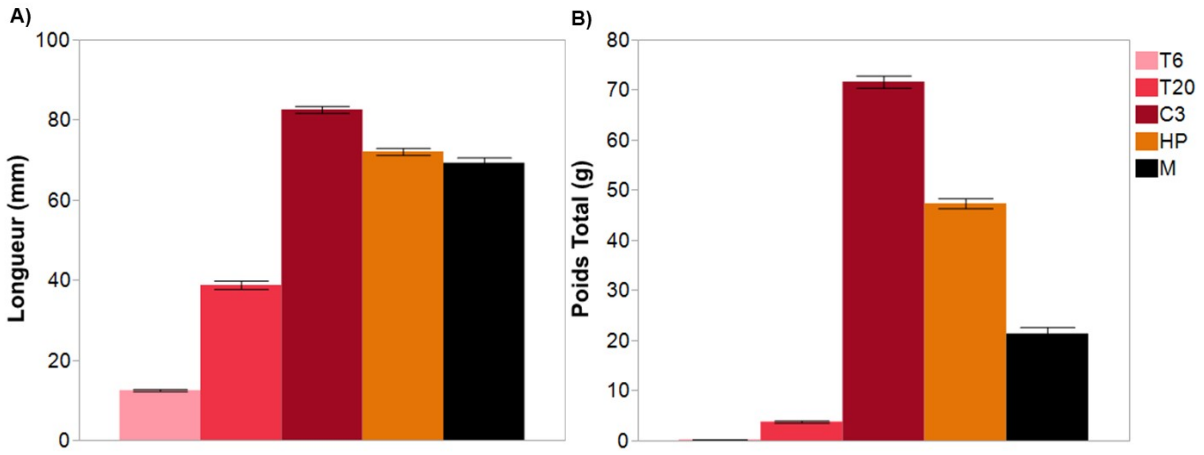


Figure 2: Moyennes (± écart type) de la longueur (A) et du poids total (B) mesurés à partir de 30 individus pour chacun des différents types de bivalves : huîtres creuses de calibre T6 (T6), T20 (T20) et C3 (C3), huîtres plates (HP) et moules (M).

3.2 Principe et Dispositifs expérimentaux

Toutes les expériences effectuées dans cette étude ont été réalisées dans des béchers en borosilicate de 2 L dans lesquels ont été disposés, ou non, un ou plusieurs bivalves avec trois types de solutions (I, D, P), à une température proche de celle du la lagune (11,4°C) afin de tester l'influence de la présence des différents bivalves (M, HP, T6, T20, C3) sur les abondances cellulaires pico- et nano-planctoniques en fonction de l'espèce, de la taille de bivalves et des solutions phytoplanctoniques testées. Le principe était d'évaluer les concentrations de picophytoplancton et de nanophytoplancton à différents temps d'incubation en présence ou en absence de bivalves afin d'en déduire le pourcentage d'abattement en lien avec l'activité de filtration des bivalves.

L'activité de filtration des bivalves variant en fonction du poids de l'organisme et la température, il a été nécessaire en amont des expériences de 1) calculer le taux de filtration théorique pour chaque bivalve testé en fonction de leur poids et de la température du milieu, 2) calculer le temps nécessaire au bivalve pour filtrer le volume total contenu dans le bécher, 3) ajuster l'abondance des bivalves dans un bécher pour chaque traitement afin que le temps nécessaire pour filtrer la totalité du volume du bécher soit équivalent pour chacun des traitements, pour *in fine* 4) déterminer un temps d'incubation et des temps de prélèvements adéquats à cette expérience et équivalent quelque soit le traitement.

3.2.1 Détermination des taux de filtration théoriques pour chacune des espèces de Bivalves étudiées en fonction de leur poids et de la température du milieu d'étude (11.4°C)

A partir de valeurs issues de la littérature, de la loi d'Arrhénius (Tableau 1a), des relations allométriques (Tableau 1b) et des relations biométriques (Tableau 1c), nous avons pu déterminer le taux de filtration pour chacun des bivalves testés à 11,4°C en fonction de leur poids total individuel (Figure 3)

.

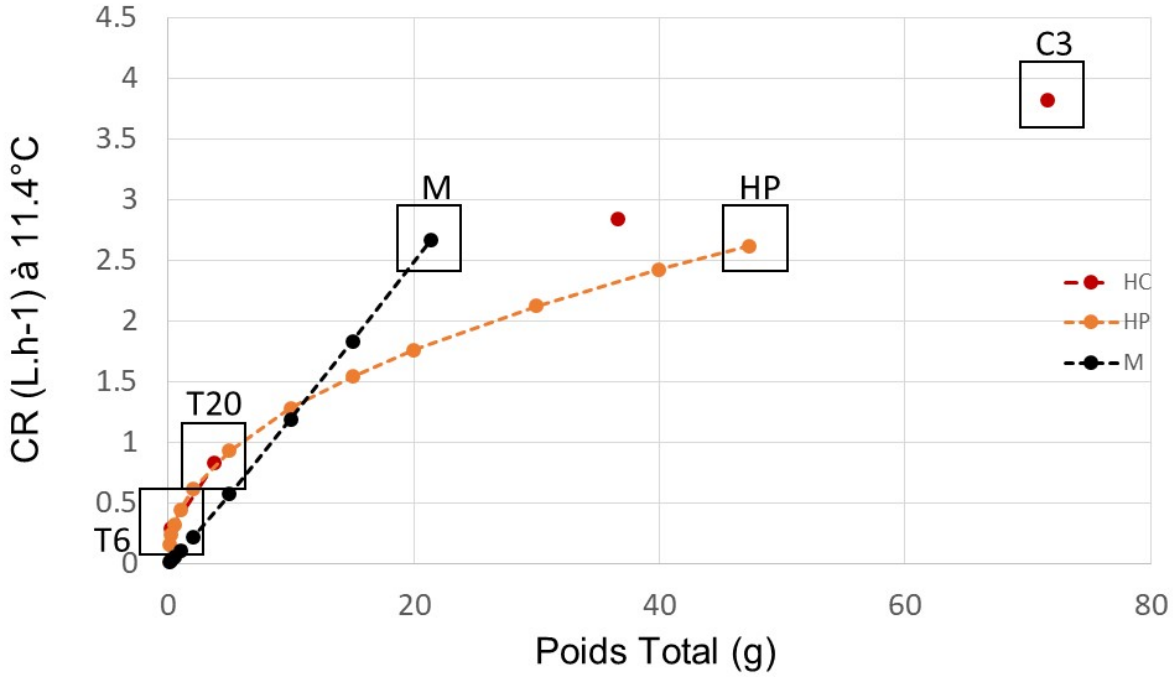


Figure 3: Variation du taux de filtration individuel des bivalves (CR Clearance Rate en L par heure) calculés à 11.4°C en fonction de leur poids total et de l'espèce (HC : Huître creuse, HP : Huître plate, M : Moule). Les carrés encadrent les valeurs de poids et de taux de filtration pour les 5 types de bivalves étudiés

Le taux de filtration des 5 bivalves sélectionnés pour l'expérience variaient théoriquement de 0,28 $L.h^{-1}$ pour les huîtres de taille T6 à 3,82 $L.h^{-1}$ pour des huîtres de taille C3 à 11,4°C (Figure 3). Les huîtres plates (HP) et les Moules de Méditerranée (M) avaient théoriquement un taux individuel de filtration équivalent d'environ 2,6 $L.h^{-1}$ (Tableau 1, Figure 3).

3.2.2 Détermination du temps nécessaire aux bivalves pour filtrer la totalité du volume contenu dans le bécher

Le temps nécessaire aux bivalves pour filtrer la totalité du volume contenu dans les béchers, fixé à 1 L dans cette expérimentation, a été préalablement déterminé en fonction de la biomasse individuelle des bivalves, de la température du milieu et du volume de solution (Tableau 1) selon la formule suivante :

$$t = (V/Ye) \times 60$$

avec : t : temps en minutes ; V : volume de solution dans le bécher en litres ; Ye ($L.h^{-1}$): taux de filtration théorique du bivalve pour un individu de poids (We) en fonction de son poids à 11,4°C.

3.2.3 Ajustement de l'abondance de certains Bivalves pour obtenir un volume filtré et une durée d'incubation équivalents en fonction des traitements

Afin que la durée d'incubation soit équivalente en fonction des traitements, nous avons fait le choix d'ajuster l'abondance des huîtres creuses de petites tailles (T6) et de taille intermédiaire (T20) afin que le volume filtré par ces organismes soit équivalent à celui filtré par une huître de taille C3 (Tableau 2). Le nombre d'individus (N) des T6 et T20 ont été déterminés à l'aide des formules suivantes :

$$N\ (T6 \text{ ou } T20) = Ye\ C3/Ye\ (T6 \text{ ou } T20)$$

où Ye = taux métabolique expérimental pour un individu de poids (We)

Tableau 2: Taux de filtration théorique par individu à 11.4°C, Temps nécessaire pour filtrer 1 L de solution pour un individu donné, Volume filtré théorique par heure après ajustement de l'abondance, Temps nécessaire à 11.4°C pour filtrer le volume de solution contenue dans le bécher après ajustement de l'abondance des différents types de bivalves (T6, T20, C3 : huitre creuse de taille T6, T20 et C3, HP : Huître plate, M : moules)

Type de Bivalve (code)	Taux de filtration théorique (Ye) ($L^{-1}.h^{-1}$) par individu à 11.4°C	Temps nécessaire pour filtrer 1L de solution (min) pour chaque individu	Nombre d'individus par bécher (N)	Volume filtré théorique par heure pour chacun des traitements	Temps nécessaire pour filtrer 1L de solution (min)
T6	0,28	215,3	13	3,64	16,5
T20	0,83	72,3	4	3,32	18,0
C3	3,82	15,7	1	3,82	15,7
HP	2,62	22,9	1	2,62	22,9
M	2,66	22,5	1	2,66	22,5

Le volume (exprimé en L) filtré théorique par heure pour l'ensemble des individus présents dans le bécher a été déterminé comme suit : V= N x Ye

L'abondance de T6 a donc été fixée à 13 individus et celle de T20 à 4 individus, tandis que celles des huitres creuses de taille C3, des huitres plates ou des moules de Méditerranée étaient de 1 (Tableau 2).

D'après ces calculs théoriques, le temps nécessaire aux bivalves pour filtrer 1L de solution contenue dans le bécher ont été du même ordre de grandeur (16,5 à 22,9 minutes) quelle que soit l'espèce après ajustement des abondances (Tableau 2), ce qui n'était pas le cas sans ajustement de l'abondance puisque le temps de filtration d'une huitre T6 était 13,7 fois inférieure à celui d'une huitre de C3 alors que leur biomasse était 286 fois inférieure. Si nous avions effectué nos calculs à biomasse équivalente, nous aurions fixé l'abondance de T6 à 286 individus. Les 286 individus auraient alors mis théoriquement moins d'une minute à filtrer un litre d'eau, ce qui aurait été significativement inférieur au temps nécessaire pour les bivalves C3, HP et M et beaucoup trop rapide pour être analysé correctement.

3.2.4 Détermination du temps d'incubation et des temps de prélèvements

Le temps d'incubation et les temps de prélèvement d'eau ont été déterminés en fonction du temps nécessaire pour les bivalves de filtrer théoriquement la totalité du volume de solution contenue dans le bécher en incluant régulièrement des temps de prélèvement en amont et en aval de cette période, avec un temps initial (0 min), juste après insertion du bivalve dans le bécher. Le temps nécessaire pour filtrer un litre ayant été estimé entre 16,5 et 22,9 minutes en fonction du type de bivalve après ajustement des abondances (Tableau 2), nous avons estimé qu'il serait intéressant de prélever de l'eau après 10 minutes et 20 minutes de contact avec le bivalve avant que la totalité du volume de la solution ne soit théoriquement filtrée et après 40 minutes lorsque le volume aurait été filtré au moins une fois.

3.3 Design expérimental et échantillonnage

Le design de cette expérience était composé 3 types de solutions phytoplanctoniques décrites précédemment (D pour « diluée », P pour « eau brute », I pour « Isochrysis ») et de 6 différents contenus de bécher (Figure 4). En effet les béchers contenaient ou non (0 : absence de bivalve) des bivalves, maintenus au préalable dans des coupelles contenant 13 huîtres creuses de taille T6, 4 huîtres creuses de taille T20, une huître creuse de taille C3, une huître plate (HP), ou une moule (M) (Figure 3). Les coupelles ont été préparées en amont des expériences le 11 février 2019. Les bivalves ont été acclimatés dans des aquariums contenant de l'eau de la lagune pendant 24 h en amont des incubations.

Le 12 février 2019, les solutions phytoplanctoniques maintenues dans des enceintes thermostatées à 9°C, ont été homogénéisées à l'aide d'agitateurs aimantés puis transférées dans 6 béchers par solution à raison d'1 L par bécher. Les 18 béchers ont été répartis aléatoirement sur 3 tables par lot de 6 (Figure 5) dans la salle d'incubation laissée au calme et à l'obscurité. Le contenu de chaque bécher a été attribué aléatoirement après disposition des coupelles contenant les différents bivalves. Les prélèvements d'eau (1 mL) ont été réalisés après homogénéisation à l'aide d'une pipette par trois opérateurs (Marion Richard, Cécile Mablouké, Matthew Hébert). Chaque opérateur s'occupait chacun de 6 béchers, attribués aléatoirement. Les prélèvements ont été chronométrés et espacés de 30 secondes entre deux béchers. Le premier prélèvement (T0) a été réalisé juste après avoir introduit délicatement les bivalves au fond des béchers à l'aide d'une cuillère. Les prélèvements suivants ont été effectués après 10, 20 et 40 minutes d'incubation (Figure 4) pour l'analyse des abondances phytoplanctoniques en cytométrie de flux.

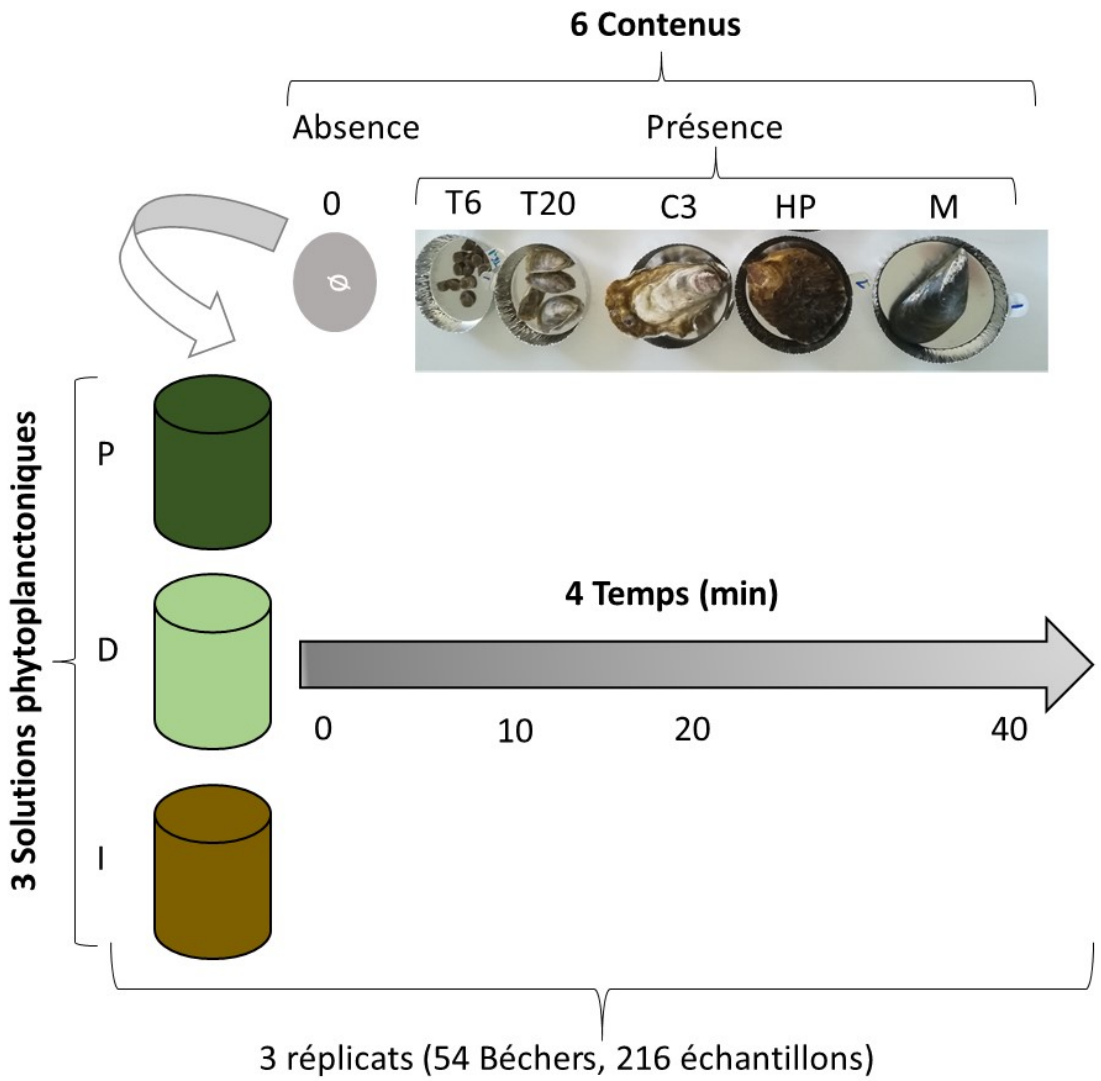


Figure 4: Plan expérimental composé de 3 solutions (eau brute de la lagune P, eau de la lagune diluée D, eau de la lagune filtrée contenant de l'Isochrysis I), 6 contenus (absence de bivalves : 0, présence de bivalves : T6 huitres creuses de taille T6, T20, C3, HP huître plate, M moule de Méditerranée), 3 réplicats, 4 Temps d'échantillonnage (0, 10, 20, 40 minutes) pour un total de 54 béchers et 216 prélèvements d'eau.

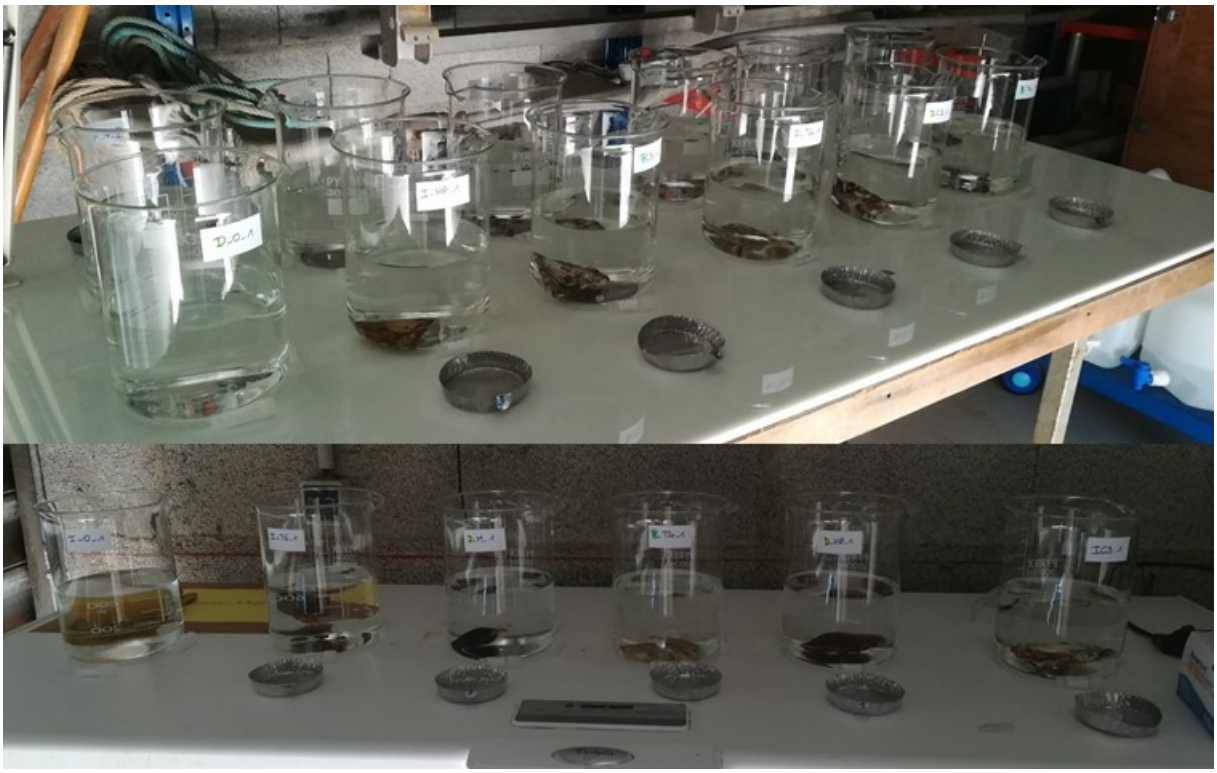


Figure 5: Photos du déploiement de 18 béchers contenant les 3 types de solutions (I, D, P) et les 6 différents contenus (0, T6, T20, C3, HP, M), répartis aléatoirement dans l'espace par groupe de 6 et échantillonnés séquentiellement à l'aide de 3 agents.

Cette expérience a été reproduite trois fois dans la journée du 12 Février 2019 avec de nouveaux béchers, solutions et bivalves. Les expériences ont tout d'abord été effectuées avec le réplicat 1, puis 2 puis 3. Ainsi un total de 54 béchers a été utilisé. Au total, 216 échantillons ont été prélevés et fixés avec 50 µL de formol 4% avant d'être stockés à -80°C pour l'analyse des concentrations de pico- et nano-phytoplancton.

3.4 Abondances du pico- et du nano-phytoplancton

Les abondances de pico- et de nano-phytoplancton ont été déterminées à l'aide d'un cytomètre FACSCalibur en suivant le protocole détaillé par Bec et al., (2011) (Figure 6). Cette méthode, adaptée au comptage des cellules bactériennes et phytoplanctoniques de petite taille (*i.e.* <20 µm), permet de compter et caractériser des particules en suspension selon différents critères de fluorescence (naturelle ou artificielle), de taille et de granulométrie. Les cellules entrainées par un flux liquide sous pression, défilent une à une à grande vitesse devant un faisceau laser (488 nm). Des signaux de fluorescence liée à la chlorophylle *a* et à la phycoérythrine, ainsi que des signaux de diffraction de la lumière émise à différents angles sont mesurés pour chaque cellule.

Deux analyses ont été réalisées pour chaque échantillon afin de prendre en compte l'intégralité des organismes compris entre 1 et 20 µm (*i.e*. pico- (<3 µm) et nanophytoplancton (3-20 µm)). Ainsi, sur la base de leur fluorescence et de leur taille, une population de picocyanobactéries (CYANO, < 1µm), deux populations de picoeucaryotes autotrophes (PEUK1, 2-3 µm ; PEUK2, 1-2 µm) et une population de nanophytoplancton (NANO, > 3 µm) ont été identifiées (Annexe 4A). *Picochlorum* était associé aux caractéristiques de taille de la population PEUK1. La culture d'*Isochrysis* avait une taille entre 6 µm et 10 µm (Annexe 4B). Les concentrations cellulaires ont été exprimées en 10^6 cellules.L^{-1}.

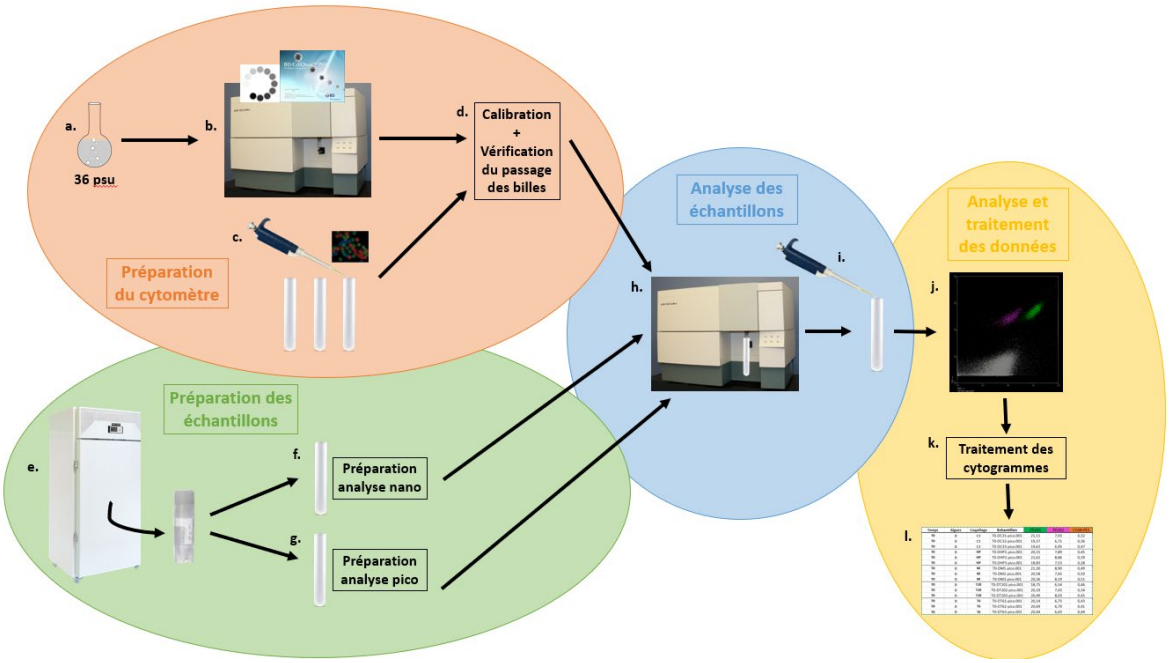


Figure 6: Protocole d'analyse d'échantillon en cytométrie en flux : a. préparation du liquide de gaine (i.e. le liquide vecteur transportant les cellules dans le cytomètre) : eau distillée + sels de mer filtrés sur cartouche de 0,2 µm de porosité ; b. Lancement et paramétrage du cytomètre ; c. Préparation des solutions de microbilles (1, 2, 3, 6 et 10 µm) pour la calibration du cytomètre ; d. Calibration du cytomètre avec les solutions de microbilles ; e. Sortie des échantillons du congélateur à -80°C et décongélation à température ambiante (~30 min) ; f. Préparation des échantillons pour l'analyse nano (430 µL échantillon + 21 µL de microbilles, soit 7 µL de microbilles de 3, 6 et 10 µm) ; g. Préparation des échantillons pour l'analyse pico (450 µL échantillon + 3 µL de microbilles, soit 1 µL de microbilles de 1, 2 et 3 µm) ; h. Passage de l'échantillon au cytomètre (6 min en analyse nano ; 3 min en analyse pico) ; i. mesure du volume final des échantillons post-passage à l'aide d'une micropipette ; j. Récupération des données sous forme de cytogrammes ; k. Traitement des cytogrammes ; l. Récupération des données sous forme de tableur .xlsx et calcul des concentrations en phytoplancton pour chaque échantillon via Excel. Figure issue du rapport de Stage de M2 de Lauriane Bergeon.

3.5 Mesures de flux ou abattement

A partir des données d'abondances de pico- et nano-phytoplancton, des flux ont été calculés à partir de la différence des abondances mesurées après 40 minutes de celles mesurées au temps initial. Les valeurs négatives correspondaient à de la consommation et/ou de la sédimentation alors que les valeurs positives correspondaient à de la production. Un pourcentage d'abattement a été déterminé en soustrayant les concentrations mesurées à 40 minutes de celles mesurées au temps initial (0) et en les rapportant en pourcentage à l'abondance initiale de phytoplancton. Les calculs ont été réalisés à l'échelle de chaque bécher. Ainsi 54 valeurs ont été calculées.

Dans ce contexte expérimental, nous définissons l'abattement comme une diminution des concentrations de cellules phytoplanctoniques dans l'eau. Le terme d' « abattement » a été préféré au terme « rétention » des particules puisque nos observations ont permis de mettre en évidence une diminution des concentrations des cellules dans l'eau en présence de bivalves et non pas de confirmer leur rétention par le filtre branchial, leur potentiel ingestion et assimilation par les bivalves étudiés. En effet, il se pourrait que ces particules, après avoir transité par le système branchial, soient rejetées par les bivalves sous forme de pseudofécès au lieu d'être ingérées et assimilées.

3.6 Statistiques

L'analyse de données (illustrations et tests statistiques) ont été réalisés avec JMP version 12 ainsi que PRIMER. Deux séries de PERMANOVAs, sur la base des distances euclidiennes, ont été réalisées pour tester 1) l'effet du type de bivalve, du temps et de leur interaction sur les abondances cellulaires de chacun de groupe de phytoplanctons analysés (PEUK1, PEUK2, CYANO, NANO) pour chacune des solutions phytoplanctoniques testées (P, D, I) ; 2) l'influence du type de solutions, de bivalves et leurs interactions sur les valeurs de flux en %. Des tests *a posteriori* réalisés avec PRIMER ont été utilisés pour comparer les moyennes en fonction des différents niveaux de traitements. Les résultats des tests *a posteriori* sont illustrés dans les figures à l'aide de lettres minuscules.

4 Résultats

4.1 Abondances initiales de pico- et nano-phytoplancton

Au temps initial et en l'absence de bivalves, la contribution aux abondances totales de chacun des quatre groupes phytoplanctoniques (CYANO, PEUK2, PEUK1, NANO) était similaire dans les solutions P et D (Figure 7). Les abondances totales étaient représentées à 96,5 % par les picoeucaryotes et plus majoritairement par *Picochlorum*, caractérisé par la population PEUK1 : 70,8% (Figure 7). Les contributions relatives des CYANO et NANO étaient respectivement de 1,7 et 1,8 %. Les abondances totales de cellules pico- et nano-phytoplanctoniques étaient respectivement de 57,3 et de 25,3 x 10^6 cellules.L^{-1} pour P et D. La solution I était constituée à 100% de NANO, correspondant à *Isochrysis galbana* pour une concentration de 9,4 ± 0,6 x 10^6 cell.L^{-1}.

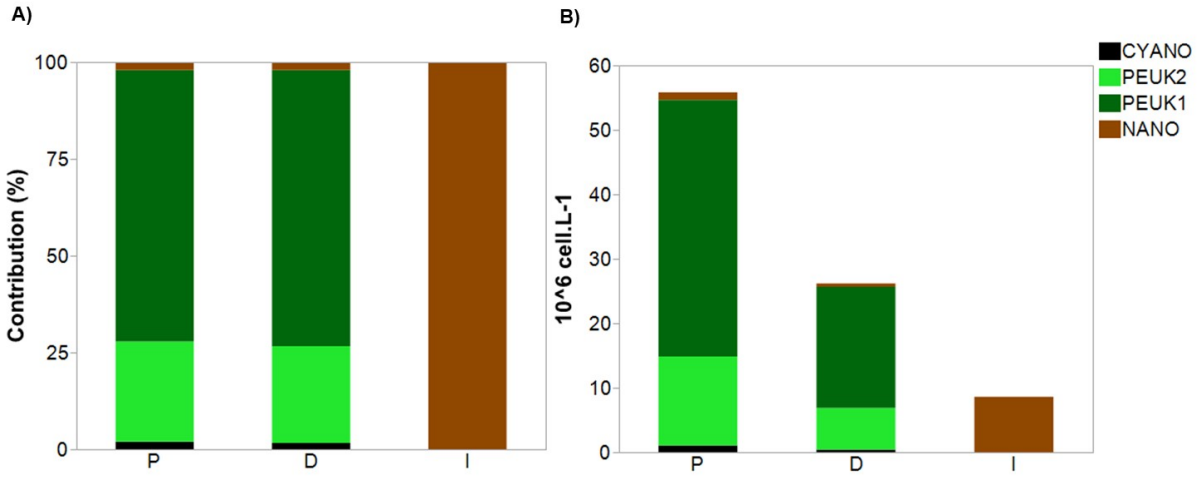


Figure 7: Moyenne A) de la contribution par rapport à l'abondance totale (%) et B) des abondances des 4 groupes d'organismes phytoplanctoniques étudiés : cyanobactéries (CYANO), picoeucaryotes 1 (PEUK1), picoeucaryotes 2 (PEUK2) et de nanophytoplancton, contenues dans les solutions P, D et I, et mesurées à T0 dans les béchers en absence de bivalve (0).

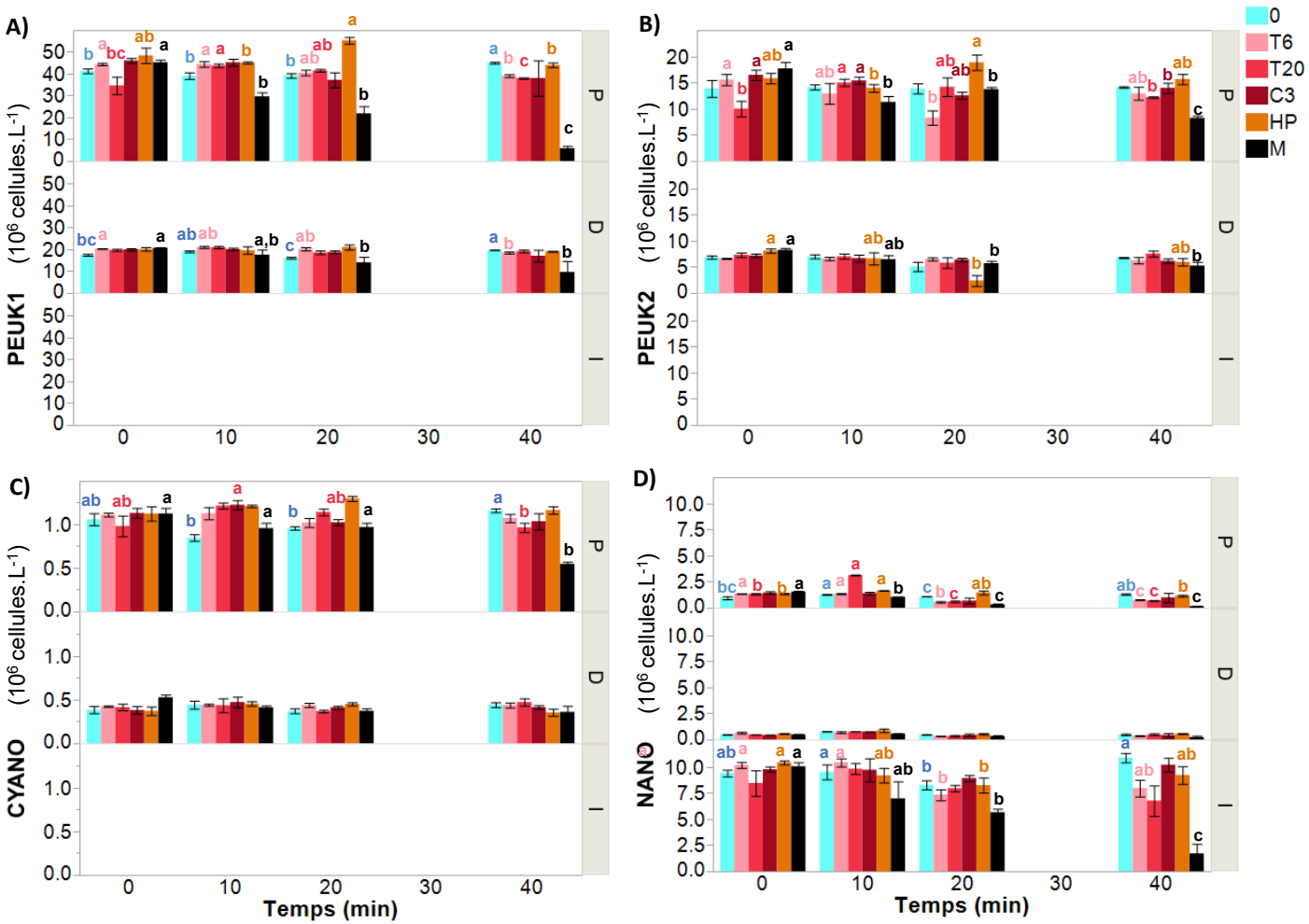


Figure 8 : Abondances moyennes (± ET) (x 10^6 cellules.L^{-1}) de A) picoeucaryotes PEUK1, B) PEUK2, C) cyanobactéries CYANO, D) nanophytoplancton NANO, mesurées en absence (0) ou en présence de bivalves, ie. d'huîtres creuses de taille T6, T20, C3, d'huîtres plates HP ou de moules M. Les résultats des tests a posteriori sont illustrés par des minuscules. Les moyennes associées à des lettres différentes varient significativement en fonction du temps pour le même bivalve. L'absence de lettre indique qu'il n'y a pas de différence des moyennes en fonction du temps pour le même bivalve. Les abondances des CYANO et du NANO ne variaient pas significativement en fonction du temps x bivalve dans la solution P. Ainsi aucun test a posteriori n'a été réalisé au sein de l'interaction.

4.2 Evolution temporelle des abondances de pico- et nano-phytoplancton en fonction de la présence des 5 types de bivalves et des solutions testées

Les résultats des analyses Permanova (Tableau 3) ont montré que les abondances des picoeucaryotes PEUK1 et PEUK2 variaient significativement en fonction de l'interaction du temps et du type de bivalves pour les solutions P et D.

Tableau 3: Résultats des Permanovas (p-values) testant l'effet de la présence de bivalve, du temps et de leurs interactions sur l'abondance cellulaire des 4 groupes d'organismes étudiés (PEUK1, PEUK2, CYANO, NANO) dans chacune des solutions (P, D, I). Les p values < 0.05 et identifiées en gras indiquent soit un effet de l'interaction Temps x Bivalve, soit un effet du Temps quelque soit le bivalve, ou du Bivalve quelque soit le Temps.

	P				D				I
	PEUK1	PEUK2	CYANO	NANO	PEUK1	PEUK2	CYANO	NANO	NANO
Temps	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,185	0,935	**0,007**	0,001
Bivalve	0,001	0,012	0,009	0,001	0,009	0,001	0,406	**0,001**	0,001
Temps x Bivalve	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,04**	**0,011**	0,11	0,632	**0,002**

Dans ces deux solutions, les abondances moyennes de PEUK1 et PEUK2 variaient significativement au cours du temps, avec une décroissance significative observée en présence de moules (Figure 8AB). En effet, les abondances de PEUK1 ont diminué de près de 87% après 40 minutes dans la solution P (0 : 45,25 vs. 40 : 5,94 x 10^6 cellules.L^{-1}, Figure 8A), et de 50% dans la solution D (0 : 20,74 vs. 40 : 9,74 x 10^6 cellules.L^{-1}, Figure 8A). En ce qui concerne PEUK2, les abondances ont diminué d'un facteur 2 en solution P (40 : 17,7 vs. 0 : 8,26 x 10^6 cellules.L^{-1}, Figure 8B) et d'un facteur 1,5 en solution D (0 : 8,24 à 40 : 5,25 x 10^6 cellules.L^{-1}, Figure 8B).

Les abondances de picocyanobactéries CYANO ont varié également significativement en fonction de l'interaction du temps et du type de bivalve dans la solution P (Tableau 3). Ce qui n'était pas le cas dans la solution D (Tableau 3). Dans la solution P, les abondances de CYANO (Figure 8C) ont diminué de 50% après 40 minutes d'incubation en présence de moules et plus particulièrement au cours des 20 dernières minutes (20 : 0,97 vs. 40 : 0,54 x 10^6 cellules.L^{-1}, Figure 8C).

Les abondances de nanophytoplancton NANO ont varié significativement en fonction de l'interaction de temps et du type de bivalve en solution P et I. Dans la solution D, les abondances variaient uniquement en fonction du temps et du type de bivalve sans effet de l'interaction (Tableau 3 ; Figure 7D). Les tests *a posteriori* ont montré qu'en présence de moules, une décroissance significative des abondances de NANO était observée au cours du temps d'un facteur 2,2 dans la solution P (0 : 1,55 vs. 40 : 0,7 cellules.L^{-1} , Figure 8D), d'un facteur 2 dans la solution D (0 : 0,50 vs. 40 : 0,25 cellules.L^{-1} , Figure 7D) et d'un facteur 5,9 dans la solution I (0 : 10,04 vs. 40 : 1,7 x 10^6 cellules.L^{-1} , Figure 8D).

En présence de moule, la décroissance des abondances de PEUK1, PEUK2, CYANO et NANO était significative et flagrante au cours de l'incubation. Il n'en était pas de même pour les abondances observées en présence d'autres bivalves (Figure 8).

4.3 Pourcentage d'abattement des abondances cellulaires en fonction de la présence des 5 types de bivalves et des trois types de solutions testées

Les résultats des Permanovas ont pu démontrer que le pourcentage de variation des abondances observées après 40 minutes variait en fonction du type de bivalves et non du type de solution et de leur interaction et ceci pour les 4 catégories d'organismes PEUK1, PEUK2, CYANO, NANO (Tableau 4).

Tableau 4: Résultats des Permanovas (p-values) testant l'effet de la solution, du type de bivalves et de leurs interactions sur le pourcentage de variation des 4 groupes d'organismes étudiés (PEUK1, PEUK2, CYANO, NANO). Les p values < 0.05 et identifiées en gras indiquent soit un effet de du traitement Bivalve quelque soit la Solution.

	PEUK1 %	PEUK2 %	CYANO %	NANO %
Solution	0.352	0.433	0.138	0.34
Bivalve	**0.001**	**0.001**	**0.001**	**0.001**
Solution x Bivalve	0.386	0.141	0.911	0.345

Ainsi les résultats ont pu être généralisés selon la Figure 9. Tandis que des flux positifs ont pu être attribués à une production dans le cas de PEUK1, CYANO et NANO en absence de bivalve (0 : Figure 9A, C, D), des flux négatifs, illustrant un abattement des abondances, ont été observés en présence de certains bivalves avec une variabilité observées en fonction des organismes étudiés. En ce qui concerne les huîtres de taille T6, un abattement des abondances a été observé pour les PEUK1, PEUK2 et NANO avec des pourcentages plus élevés pour le nanophytoplancton que les picoeucaryotes (NANO : -41,9%, PEUK1 : -10, PEUK2 : -11 %). En présence d'huîtres de taille T20, les abondances de PEUK1 et PEUK2 n'ont pas diminué, alors qu'un abattement de 22,6% a été observé pour les abondances de NANO (Figure 6 AB). Un abattement de 15,9%, 14,4% et 12,3% a été observé en présence d'huîtres de tailles C3, respectivement pour PEUK1, PEUK2, NANO (Figure 9 ABD). Pour les huîtres plates (HP) un abattement de 6,6% et 6,4% a été observé pour PEUK1 et NANO (Figure 9 AD). L'abattement des abondances de PEUK1, PEUK2 et NANO était significativement supérieur en présence de moules par rapport aux abattements observés en présence d'autres bivalves (Figure 9). Les pourcentages d'abattement moyen pour les solutions P, D et I étaient 69,8% pour PEUK1 ; 44,3% pour PEUK2 ; 70% pour NANO (Figure 9ABD). Tandis qu'un abattement des abondances de CYANO a été observé en présence de moules (M : 42, 3%), cela n'a pas été le cas en présence d'huîtres creuses (T6, T20, C3) ou d'huîtres plates (HP) (Figure 9 C).

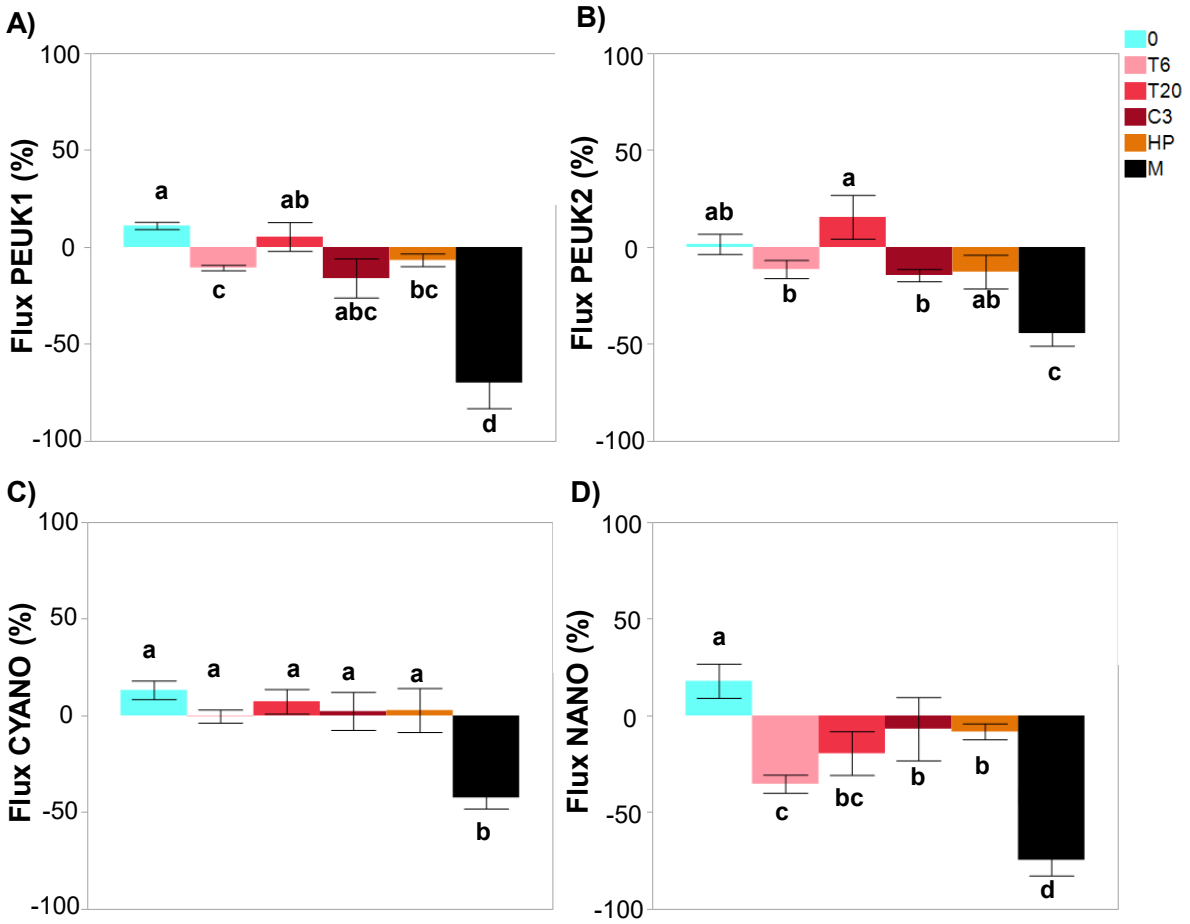


Figure 9 : Pourcentage moyen de variation des abondances de A) PEUK1, B) PEUK2, C) CYANO, D) NANO en fonction de l'absence 0 ou de la présence de différents types de bivalves (T6, T20, C3, HP, M) pour les solutions P, D et I. Les lettres indiquent une différence significative en fonction du type de bivalve pour chacun des 4 groupes de phytoplancton étudiés..

5 Discussion

Cette expérience a été réalisée en réponse à une demande de la profession conchylicole de la lagune de Thau dans le contexte de crise liée au phénomène d'eaux vertes observées en 2018-2019. Cette étude a permis de tester les capacités de différentes espèces (*Crassostrea gigas, Ostrea edulis, Mytilus galloprovincialis*) et de différentes tailles (naissain, juvénile, taille commerciale) de bivalves à abattre les abondances de *Picochlorum*, microalgue responsable du phénomène d'eaux vertes.

Cette série d'expérimentation a été effectuée en Février 2019 à partir de l'eau de la lagune Thau, prélevée dans la zone de production Bouzigues. Tandis que les abondances cellulaires de picoeucaryotes avaient atteint jusqu'à 1,4 milliards par litre en Janvier 2019 dans la lagune (Lagarde et al 2021), leurs abondances avoisinaient les 55 millions par litre au moment des expériences, *ie*. le mois suivant. L'efflorescence de picoeucaryotes était ainsi en phase de décroissance avec des abondances 20 fois moins importantes. Ces abondances restaient néanmoins anormalement élevées par rapport aux abondances observées habituellement en février dans la lagune (25 x 10^6 cellules.L^{-1} (Bec et al. 2005)). Alors que les abondances maximales de picophytoplancton pouvaient atteindre 90 x 10^6 cellules.L^{-1} l'été dans les années 2000 (Bec et al. 2005) les abondances moyennes n'excèdent plus 30 millions de cellules par litre l'été dans Thau depuis 2011 (Derolez et al. 2020a). Les picoeucaryotes sont connues dans la lagune de Thau pour contribuer significativement à la biomasse phytoplanctonique à hauteur de 40% en février (Bec et al. 2005). Les 60% restant sont constitués classiquement de nanophytoplancton (3-20 µm) et de microphytoplancton (> 20 µm). Au moment de notre étude, les communautés phytoplanctoniques étaient constituées à 96,5% de picoeucaryotes, ce qui est exceptionnel pour la lagune de Thau. Deux populations de picoeucaryotes ont été observées au moment des expériences. La première (PEUK1), majoritaire (72,5%), correspondait à des cellules de taille 2-3 µm assimilées majoritairement à *Picochlorum*. La seconde population de taille inférieure (1-2 µm) pouvait correspondre à plusieurs espèces de picoeucaryotes autotrophes dont *Bathycoccus* et *Micromonas* (Lagarde et al. 2021). Associées à ces deux populations de PEUK, des picocyanobactéries et du nanophytoplancton ont été également quantifiées par cytométrie pour une contribution aux abondances totales de moins de 2% respectivement. Les abondances de picocyanobactéries et de nanophytoplancton étaient de l'ordre de 1 million de cellules par litre, ce qui est très faible par rapport aux abondances observées dans la lagune (Derolez et al. 2020a), spécifiquement pour les abondances de picocyanobactéries pouvant atteindre des valeurs 80 fois plus élevées au cours de l'été (Lagarde et al. 2018) voir 300 fois supérieures au cours des malaïgues dans la lagune de Thau (Derolez et al. 2020a).

Deux types de solutions, plus ou moins diluées, ont été préparés avec l'eau de la lagune pour cette expérience. Dans les deux cas, notre étude a permis de démontrer scientifiquement que seule la moule de Méditerranée était capable d'abattre drastiquement les abondances de picophytoplancton et notamment de *Picochlorum* à 11,4°C. Ce résultat confirme le constat de professionnels qui, durant le phénomène d'eaux vertes, ont observé que la présence de moules dans les bassins de stockage permettait d'éclaircir l'eau au cours du temps au contraire d'huîtres de taille commerciale. Ceci va également dans le sens des observations issues de la littérature citées en introduction (Strohmeier et al. 2012b, Cranford et al. 2016, Sonier et al. 2016). A capacité de filtration théorique équivalente, les taux d'abattement des particules picoplanctoniques étaient supérieurs en présence de moule qu'en présence d'huitres plates ou d'huîtres creuses

quelles que soient leurs tailles. Ce résultat découle sans doute du fait que la porosité du filtre branchiale des moules est plus fine. Ainsi les moules de poids moyen de 21,4 g ont été capables de filtrer en 40 minutes à 11,4°C jusqu'à 87% des abondances de *Picochlorum* contenu dans un litre d'eau lorsque ce dernier était concentré à 45,2 millions de cellules par litre. Dans la solution diluée, le taux d'abattement était inférieur (53%). Le diminution de ce facteur vient probablement du fait qu'au-delà de la nature et de la taille des particules, l'activité de filtration des bivalves dépend également des concentrations phytoplanctoniques (Wilson 1983, Barillé et al. 1993). Nous y reviendrons plus bas.

La capacité moyenne des moules à abattre les concentrations de picoeucaryotes était supérieure pour la population PEUK1, incluant *Picochlorum* (69,8%) que la population de PEUK2 (44,3%) ou encore pour les picocyanobactéries dont les tailles étaient inférieures (1-2 µm). Les taux observés pour ces particules fines se rapprochent des valeurs observées pour la moule bleu (1 µm : 14-64 %, Strohmeier et al. 2012). A contrario, le taux d'abattement du nanophytoplancton était équivalent (70%) à celui de *Picochlorum*. Ce résultat serait induit par le fait qu'en fonction du positionnement des cils latéro-frontaux, le filtre branchial des moules serait composé de 50% de mailles de 2-3µm et de 50% de 5-6 µm (Dral 1967). Ainsi les populations PEUK2 et CYAN seraient moins bien retenues par les cils que *Picochlorum* et *Isochrysis* dont la taille est supérieure ou équivalente à la maille du filtre branchial.

En ce qui concerne les huîtres, nos expériences montrent que leur capacité de rétention des cyanobactéries était nulle à 11,4°C. Leur taille était probablement trop faible pour être piégée par les branchies. L'analyse de la variation temporelle des concentrations de picoeucaryotes en présence d'huîtres ne permet pas clairement d'illustrer le potentiel des huîtres à retenir le picophytoplancton. Le calcul du taux d'abattement permet de mettre en évidence un abattement faible (6,6%-15,9%) en ce qui concerne *Picochlorum* pour les huîtres plates et les huîtres creuses, voire inexistant pour les huîtres creuses de tailles T20. L'hypothèse que le naissain d'huîtres (T6) seraient capables d'abattre plus efficacement *Picochlorum* que les juvéniles de taille T20 ou que les huîtres de taille commerciale est rejetée.

Les expériences ayant été effectuées à capacités de filtration théoriquement équivalentes, nous nous attendions à ce que le taux d'abattement du nanophytoplancton soit du même ordre de grandeur pour chaque type de bivalves puisque a priori leur taille était suffisamment importante pour être retenue par le système branchial de tous les types de bivalves étudiés. Les expériences ayant été conçues pour que les bivalves aient le temps de filtrer au moins une fois la totalité du volume contenu dans le bécher, nous nous attendions également à ce que le pourcentage d'abattement se rapproche des 100%. Cela n'a pas été le cas. Les taux d'abattement du nanophytoplancton ont varié de 6,4 à 42,9% selon l'espèce avec des taux plus importants pour le naissain et les juvéniles d'huîtres suivies des huitres de taille C3 puis des huîtres plates. Ces taux, bien que supérieurs à ceux observés pour le picophytoplancton, étaient relativement bas pour des particules de tailles comprises en 3 et 10 µm qui classiquement, pour les plus grosses, sont bien retenues par le système branchial des huîtres et des moules (Dupuy et al. 2000b, Strohmeier et al. 2012b, Cranford et al. 2016). Ce résultat découle sans doute du fait que les concentrations en nanophytoplancton étaient relativement faibles dans les solutions P & D (0,97 et 0,5 x 10^6 cellules.L^{-1}) et moyennement élevées dans notre solution de culture (9, 4 x 10^6 cellules.L^{-1}).

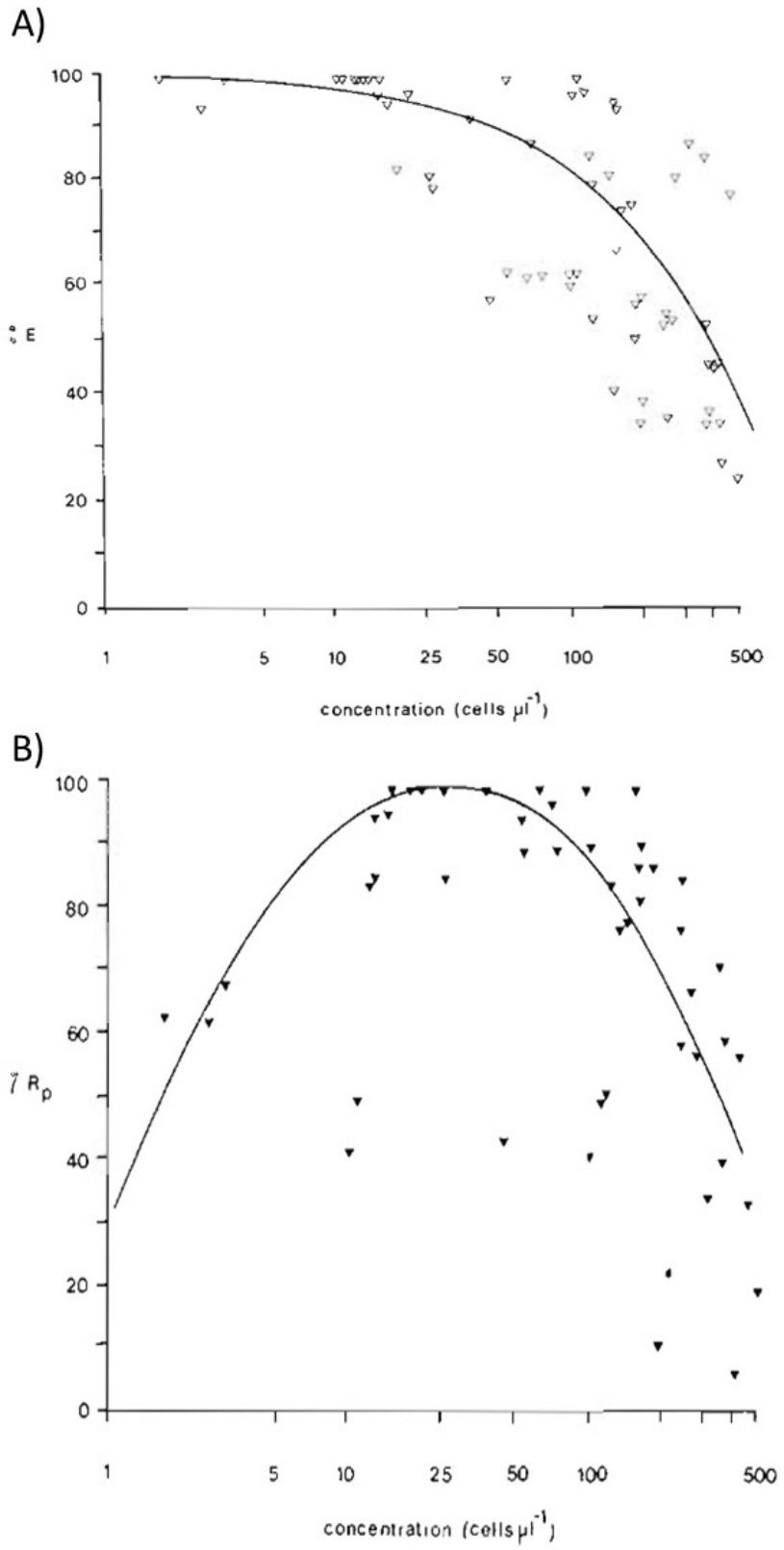


Figure 10: Variations A) des taux de rétention et B) taux de pompage en fonction de la concentration de microalgues du genre Isochrysis galbana, observés chez l'huitre plate (Issu de Wilson 1983)

En effet Wilson (1983) a démontré chez l'huître plate que bien que le taux de rétention des cellules d'*Isochrysis galbana* est de 100% à faible concentration (≈ 2 x 10^6 cellules.L^{-1} : Figure 10), le taux de pompage est minimal, ainsi les quantités retenues à ces faibles concentrations seraient inférieures à celles observées à 24 x 10^6 cellules.L^{-1} lorsque le taux de pompage est optimal et lorsque les taux de rétention sont encore très élevés (Figure 10). Passez ce seuil, le taux de pompage et le taux de rétention décroissent pour atteindre des valeurs minimales à 500 millions de cellules par litre.

Alors que l'expérience de Wilson (1983) est réalisée à 20°C, proche de l'optimal de l'huître plate et l'huître creuse (Tableau 1), notre étude a été réalisée à 11,4°C au plus proche des températures observées dans l'étang à cette période (9°C) et de l'optimum de température de la moule (15°C : Tableau 1). Ce constat pourrait également expliquer les plus faibles taux d'abattement de cellules nanophytoplanctoniques observés chez les huîtres par rapport aux moules.

Il se pourrait également que les huîtres, notamment les huîtres plates, soient plus sensibles au stress occasionné par la manipulation et la mise en bécher que les moules. En effet, dès les premières secondes les moules ont été observés filtrant de l'eau, ce qui n'était pas forcément le cas des huîtres plates et des huitres creuses de calibres 3. Pour s'affranchir d'un éventuel stress occasionné par les manipulations, ces expériences pourraient être reconduites dans un système à flux continu (Barillé et al. 1993, Strohmeier et al. 2012b, Cranford et al. 2016) pour laisser l'animal s'acclimater à l'enceinte de mesures. Ce type de dispositif a l'avantage d'effectuer des mesures de filtration à concentration constante, ce qui évite d'entrainer une modification de l'activité de filtration au cours de l'incubation.

Néanmoins cette expérience nous donne déjà un premier aperçu du potentiel de différentes espèces et taille de bivalves élevés sur Thau à abattre les concentrations de *Picochlorum* observées dans la lagune en phase de décroissance du bloom.

6 Conclusions et perspectives

Cette étude a permis de démontrer scientifiquement qu'au contraire des huîtres creuses et des huîtres plates, les moules d'un poids moyen de 21,4 g étaient capables d'abattre drastiquement les abondances de *Picochlorum* observées dans une solution d'un litre, et ainsi d'extraire près de 1 million de cellules de *Picochlorum* par minute à 11,4°C. Afin de répondre aux interrogations des professionnels par rapport au potentiel des moules à contrôler l'efflorescence de *Picochlorum* dans la lagune de Thau, nous avons réalisé une série de calculs simples sur la base de nos observations (Tableau 5). Ces estimations sont à considérer avec précaution puisque les calculs n'intègrent ni le renouvellement de *Picochlorum*, ni le renouvellement des masses d'eaux, ni le fait que le taux d'abattement peut varier avec les concentrations de *Picochlorum* observées dans le milieu ou encore que les moules soient capables ou pas de filtrer *Picochlorum* pendant de longues périodes. Néanmoins ces calculs permettent d'estimer le nombre minimum d'heures ou de jours nécessaires aux moules pour extraire la totalité des cellules de *Picochlorum* contenues à l'échelle d'une table ou de la lagune à 11,4°C dans des conditions de concentration de 45,5 millions de celllules.L^{-1}. Il faudrait ainsi 5 à 10 heures pour une table de moules pour extraire les abondances de *Picochlorum* contenues dans le volume d'eau de la table. Les 1228 tonnes de moules, mortes en 2018 avant l'efflorescence de *Picochlorum,* auraient pu, si elles avaient survécu aux chaleurs et à l'anoxie, participer au contrôle de l'efflorescence de *Picochlorum* : il aurait fallu plus de 6 mois à ce stock de moules pour abattre le bloom à l'échelle de la lagune (en supposant que la température n'évolue pas). Ce contrôle aurait été sans doute plus rapide aux températures automnales au moment de la croissance exponentielle de *Picochlorum*. Finalement, si les 2816 concessions dans la lagune de Thau avaient été attribuées à la mytiliculture, les moules auraient mis 14 jours à abattre les abondances de l'algue verte. A moitié de charge, ce contrôle aurait pris 1 mois. Aux vues de ces résultats, il serait sans doute important de garder des moules dans l'étang de Thau. Néanmoins il serait très important de les récolter avant les chaleurs estivales, pour éviter des mortalités massives fréquemment observées ces dernières années en lien avec le réchauffement climatique.

Il est important aussi de comprendre que ces expériences ont montré que les moules sont capables d'extraire à un instant t une quantité définie de *Picochlorum.* Il faudrait maintenant travailler sur le devenir de ces cellules, à savoir si elles sont ingérées et assimilées par les moules et non rejetées sous forme de pseudofécès. A priori quelques producteurs de la lagune ont obtenu de bonnes croissances de leurs moules au moment de l'efflorescence de *Picochlorum*. Si les observations de Wilson (1983) étaient applicables aux moules et aux cellules de *Picochlorum*, il serait intéressant de déterminer à quel seuil le taux de rétention diminuerait. A partir de ce seuil, le risque serait que les branchies de la moule se colmatent et que la moule enrobe les cellules de *Picochlorum* de mucus avant de les expulser sous forme de pseudofécès. Quels seraient alors l'influence de ce transfert et de ce changement d'état dans la lagune de Thau ? Des analyses complémentaires pourraient être envisagées pour définir la part des cellules assimilées de celles rejetées, en utilisant une approche isotopique comme utilisée par (Galimany et al. 2020). Cette étude pourrait être envisagée en travaillant à partir d'une souche de *Picochlorum* à plusieurs concentrations (25, 50, 500, 1000, 2000 x $10^{\wedge 6}$ de cellules par litres). Finalement, il serait intéressant de reproduire cette étude pour analyser l'effet de la température (5, 10, 15, 20, 25°C) sur les interactions des 3 espèces de bivalves étudiées avec la microalgue *Picochlorum*.

Tableau 5: Estimation du nombre d'heures ou du nombre jour nécessaire, à une moule, une table de 6 tonnes de moules de profondeur 4 ou 8 m, 1228 t de moules (équivalent 100% perte 2018), à 2816 tables de moules (scénarios de remplissage de toutes les tables concédées) pour filtrer la totalité des cellules initialement contenues dans le volume étudié (ie. bécher, table, lagune)

Quantité de moules	Poids de moules (Kg)	Nombre de cellules retenues par une ou les moules	Nature du contenant	Volume du contenant (L)	Quantité initiale de *Picochlorum* observée dans le volume étudié	Nbre d'heure pour filtrer la totalité des cellules initialement contenues dans le volume étudié	Nbre heure pour filtrer la totalité des cellules initialement contenues dans le volume étudié	Nbre jours pour filtrer la totalité des cellules initialement contenues dans le volume étudié
1	0,0214	39310000	Bécher	1	45 250 000	46,0		
280373,8	6000	1,10215E+13	1 Table (10 x 50 x 4 m)	2000000	9,05E+13	328,4	5,5	
280373,8	6000	1,10215E+13	1 Table (10 x 50 x 8 m)	4000000	1,81E+14	656,9	10,9	
57383177,6	1228000	2,25573E+15	Lagune	3,51E+11	1,58828E+19	281642,4	4694,0	195,6
789532710,3	16896000	3,10365E+16	2816 Tables	3,51E+11	1,58828E+19	20469,7	341,2	14,2

7 Références

Barillé L, Prou J, Héral M, Bourgrier S (1993) No influence of food quality, but ration-dependent retention efficiencies in the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. J Exp Mar Bio Ecol 171:91–106.

Bec B, Derolez V, Cesmat L, Pete R, Richard M (2018) Projet CAPATHAU : CAPAcité trophique de la lagune de THAU. Livrable 1. Evolution temporelle de l'état écologique de la lagune de Thau et des performances des coquillages en élevage au regard de la réduction des apports issus du bassin versant et des chang. Rapp Umr MARBEC, FEAMP DLAL:157.

Bec B, Husseni-Ratrema J, Collos Y, Souchu P, Vaquer A (2005) Phytoplankton seasonal dynamics in a Mediterranean coastal lagoon: emphasis on the picoeukaryote community. J Plankton Res 27:881–894.

Bergeon (2020) Analyse des interactions entre bivalves en élevage et *Picochlorum* sp., algue responsable du phénomène d'eaux vertes dans la lagune de Thau, Rapport de stage de Master II, Master Mention " Biodiversité, Ecologie, Evolution, B2E ", Parcours «EcoSystèmeS » , Université de Montpellier & Montpellier SupAgro, 38 p.

Bouchoucha M, Derolez V, Munaron D, Gonzalez J-L, Cimiterra N, Tomasino C (2019) Directive Cadre sur l'Eau. Bassin Rhône Méditerranée Corse - Année 2018. 83p. https://archimer.ifremer.fr/doc/00620/73224/

Boutière H, de Bovée F, Delille D, Fiala M, Gros C, Jacques G, Knoecpffler M, Labat J, Panouse M, Soyer J (1982) Effet d'une crise dystrophique dans l'étang de Salses-Leucate. Oceanol Acta:231–242.

Cannuel R, Beninger PG (2006) Gill development, functional and evolutionary implications in the Pacific oyster Crassostrea gigas (Bivalvia: Ostreidae). Mar Biol 149:547–563.

Cranford PJ, Strohmeier T, Filgueira R, Strand Ø (2016) Potential methodological influences on the determination of particle retention efficiency by suspension feeders: *Mytilus edulis* and *ciona intestinalis*. Aquat Biol 25:61–73.

Derolez V, Malet N, Fiandrino A, Lagarde F, Richard M, Ouisse V, Bec B, Aliaume C (2020a) Fifty years of ecological changes : Regime shifts and drivers in a coastal Mediterranean lagoon during oligotrophication. Sci Total Environ 732:139292.

Derolez V, Soudant D, Malet N, Chiantella C, Richard M, Abadie E, Aliaume C, Bec B (2020b) Two decades of oligotrophication : Evidence for a phytoplankton community shift in the coastal lagoon of Thau (Mediterranean Sea , France). Estuar Coast Shelf Sci 241:106810.

Dral A (1967) The movements of the latero-frontal cilia and the mechanism of particle retention in the mussel (*Mytilus edulis* L.). Netherrlands J Sea Res 3:391–422.

Dupuy C, Gall S Le, Hartmann H, Bréret M (1999) Retention of ciliates and flagellates by the oyster *Crassostrea gigas* in French Atlantic coastal ponds: protists as a trophic link between bacterioplankton and benthic suspension-feeders. Mar Ecol Prog 177:165–175.

Dupuy C, Vaquer A, Lam-Hoai T, Rougier C, Mazouni N, Lautier J, Collos Y, Le Gall S (2000a) Feeding rate of the oyster *Crassostrea gigas* in a natural planktonic community of the Mediterranean Thau Lagoon. Mar Ecol Prog Ser 205:171–184.

Foflonker F, Price DC, Qiu H, Palenik B, Wang S, Bhattacharya D (2015) Genome of the halotolerant

green alga *Picochlorum* sp . reveals strategies for thriving under fluctuating environmental conditions. Environ Microbiol 17:412–426.

Gagneraud S (1983) Etude de deux épizooties de l'huître plate Ostrea edulis.

Le Gal F (2019) Bilan de la production conchylicole dans le département de l'Hérault en 2018. Sète, France.

Galimany E, Lunt J, Freeman CJ, Houk J, Sauvage T, Santos L, Lunt J, Kolmakova M, Mossop M, Domingos A, Phlips EJ, Paul VJ (2020) Bivalve Feeding Responses to Microalgal Bloom Species in the Indian River Lagoon : the Potential for Top-Down Control. Estuaries and Coasts 43:1519–1532.

Gay M (2004) Infection expérimentale chez Crassostrea gigas : étude de deux souches pathogènes apparentées à Vibrio splendidus. Université de La Rochelle

Gendron L, Weise AM, Fréchette M, Ouellet P, Mckindsey CW, Girard L (2003) Évaluation du potentiel des moules d'élevage (*Mytilus edulis*) à ingérer des larves de homard (*Homarus americanus*) de stade I.

Gosling (2015) How bivalve feed? In: *Marine bilvalve molluscs*. p 99–156

Krasovec M, Vancaester E, Rombauts S, Bucchino F, Yau S, Hemon C, Lebredontchel H, Grimsley N, Moreau H, Sanchez-brosseau S, Vandepoele K, Piganeau G (2018) Genome analyses of the microalga *Picochlorum* provide insights into the evolution of thermotolerance in the green lineage. Genome Biol Evol 10:2347–2365.

Lagarde F, Atteia A, Gobet A, Richard M, Mostajir B, Roques C, Foucault E, Messiaen G, Hubert C, Cimiterra N, Derolez V, Bec B (2021) Phénomène d'Eaux Vertes à Picochlorum en lagune de Thau pendant les années 2018 et 2019, Observations environnementales. RST Ifremer ODE/UL/LERLR21/15. In prep. https://archimer.ifremer.fr/doc/00689/80087/

Lagarde F, Richard M, Bec B, Roques C, Mortreux S, Bernard I, Chiantella C, Messiaen G, Nadalini J, Hori M, Hamaguchi M, Pouvreau S, Roque E, Tremblay R (2018) Trophic environments influence size at metamorphosis and recruitment performance of Pacific oysters. Mar Ecolgy Prog Ser 602:135–153.

Lam-Hoai T, Rougier C, Lasserre G (1997) Tintinnids and rotifers in a northern Mediterranean coastal lagoon. Structural diversity and function through biomass estimations. Mar Ecol Prog Ser 152:13–25.

Préfet de l'Hérault (2018) Conchyliculture: Soutien aux conchyliculteurs touchés par l ' épisode du phénomène. Commun Press:1.

REPHY – French Observation and Monitoring program for Phytoplankton and Hydrology in coastal Waters (2021) REPHY dataset - French Observation and Monitoring program for Phytoplankton and Hydrology in coastal waters. Metropolitan data. SEANOE. http://doi.org/10.17882/47248.

Richard M, Bec B, Vanhuysse C, Mas S, Parin D, Chantalat C, Le P, Fiandrino A, Lagarde F, Mortreux S, Ouisse V, Luc J, Degut A, Hatey E, Fortune M, Roque E, Messiaen G, Munaron D, Callier M, Oheix J, Derolez V, Mostajir B (2019) Changes in planktonic microbial components in interaction with juvenile oysters during a mortality episode in the Thau lagoon (France). Aquaculture 503:231–241.

Richard M, Bourreau J, Montagnani C, Ouisse V, Le Gall P, Fortune M, Munaron D, Messiaen G, Callier MD, Roque E (2017) In fluence of OSHV-1 oyster mortality episode on dissolved

inorganic fluxes : An ex situ experiment at the individual scale. Aquaculture 475:40–51.

Richard M, Fiandrino A (2018) Expertise sur les mortalités constatées durant le mois d'août 2018 sur l'étang de Thau au moment de la canicule et de la malaïgue. Saisine DDTM34 du 19/09/2018 C Ref. ODE/U:12.

Sonier R, Filgueira R, Guyondet T, Tremblay R, Olivier F, Meziane T, Starr M, LeBlanc AR, Comeau LA (2016) Picophytoplankton contribution to *Mytilus edulis* growth in an intensive culture environment. Mar Biol 163.

Souchu P, Gasc A, Collos Y, Vaquer A, Tournier H, Bibent B, Deslous-Paoli J-M (1998) Biogeochemical aspects of bottom anoxia in a Meditterranean lagoon (Thau, France). Mar Ecol Prog Ser 164:135–146.

Strohmeier T, Strand Ø, Alunno-Bruscia M, Duinker A, Cranford PJ (2012a) Variability in particle retention efficiency by the mussel *Mytilus edulis*. J Exp Mar Bio Ecol 412:96–102.

Strohmeier T, Strand Ø, Alunno-Bruscia M, Duinker A, Cranford PJ (2012b) Variability in particle retention efficiency by the mussel *Mytilus edulis*. J exp 412:96–102.

Tamburri MN, Zimmer-Faust RK (1996) Suspension feeding: Basic mechanisms controlling recognition and ingestion of larvae. Limnol Oceanogr 41:1188–1197.

Troost K, Gelderman E, Kamermans P, Smaal AC, Wolff WJ (2009) Effects of an increasing filter feeder stock on larval abundance in the Oosterschelde estuary (SW Netherlands). J Sea Res 61:153–164.

Trottet A, Roy S, Tamigneaux E, Lovejoy C, Tremblay R (2008) Impact of suspended mussels (*Mytilus edulis* L.) on plankton communities in a Magdalen Islands lagoon (Québec, Canada): A mesocosm approach. J Exp Mar Bio Ecol 365:103–115.

Vaquer A, Troussellier M, Courties C, Bibent B (1996) Standing stock and dynamics of picophytoplankton in the Thau Lagoon (northwest Mediterranean coast). Limnol Oceanogr 41:1821–1828.

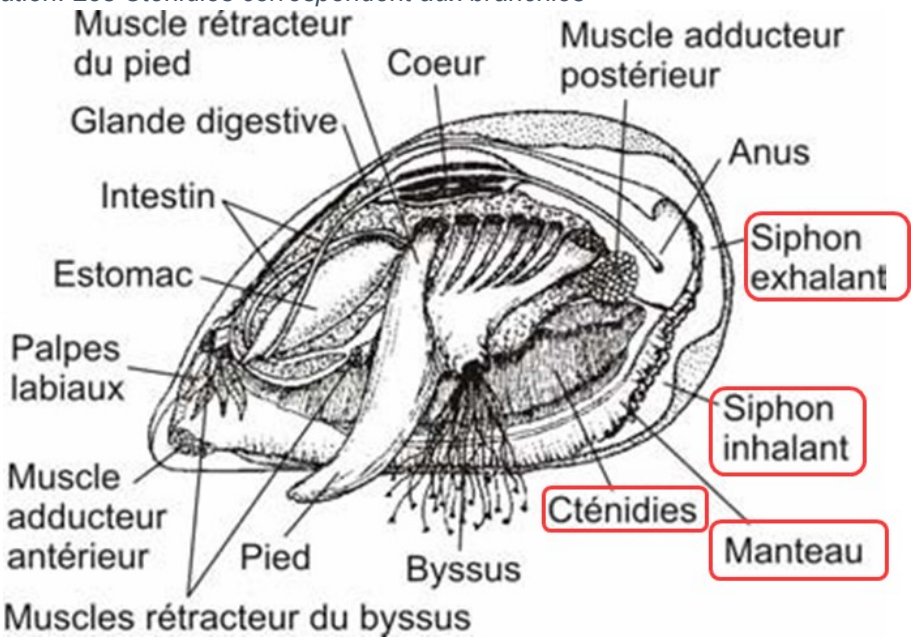
Weissman JC, Likhogrud M, Thomas DC, Fang W, Karns DAJ, Chung W, Nielsen R, Posewitz MC (2018) High-light selection produces a fast-growing Picochlorum celeri. Algal Res 36:17–28.

Wilson JH (1983) Retention efficiency and pumping rate of *Ostrea edulis* in suspensions of Isochrysis galbana. Mar Ecolgy Prog Ser 12:51–58.

Winter JE (1978) A review on the knowledge of suspension-feeding in lamellibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. Aquaculture 13:1–33.

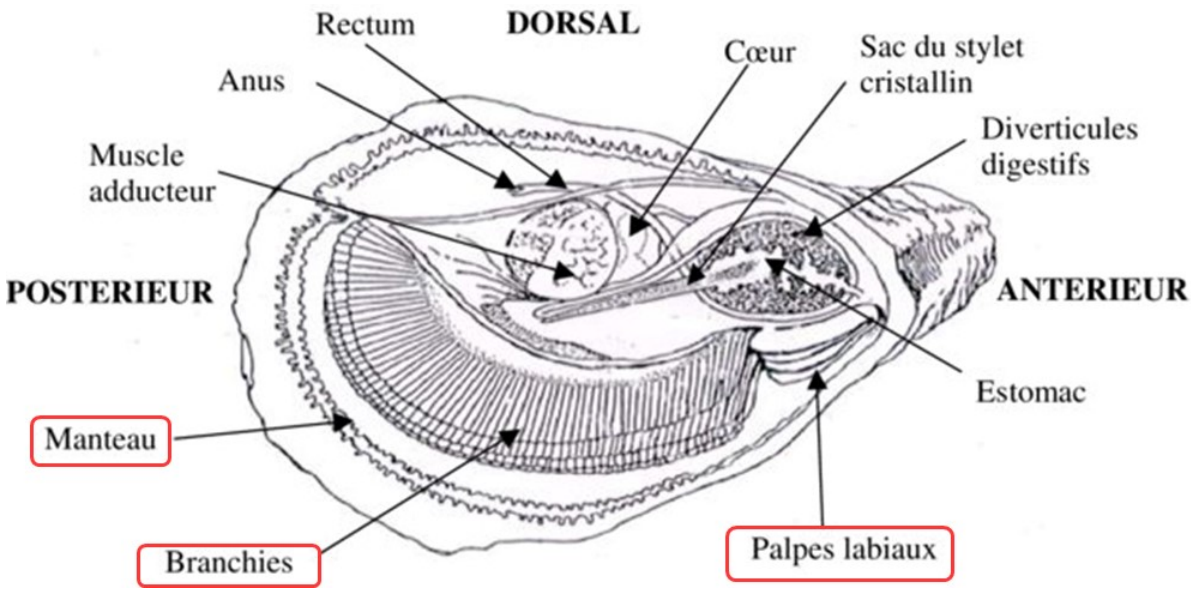
Annexe

Annexe 1 : Schéma anatomique d'une moule tiré de Meyer et Möbius (1872) publié dans Gendron et al. (2003). Les légendes encadrées en rouge représentent les principaux organes impliqués dans la filtration. Les Cténidies correspondent aux branchies



(Gendron et al. 2003)

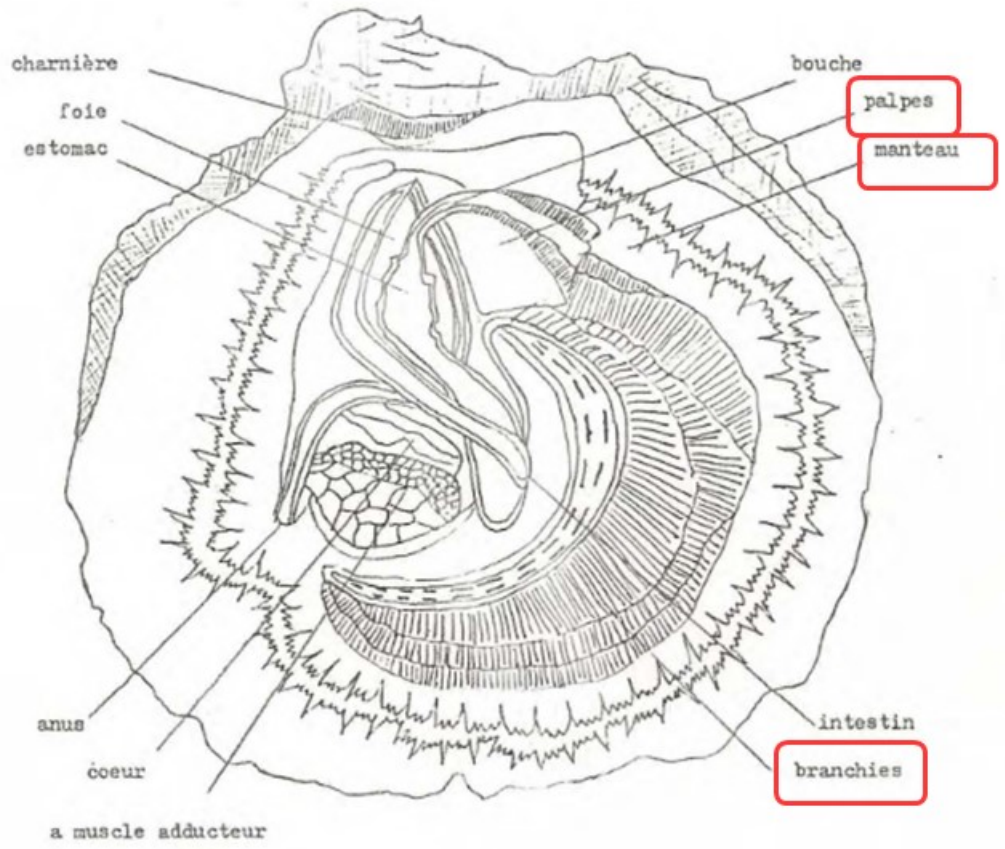
Annexe 2 Schéma anatomique d'une huître creuse d'après Howard & Smith (1983) publié dans Gay (2004). Les légendes encadrées en rouges représentent les principaux organes impliqués dans la filtration.



.

(Gay 2004)

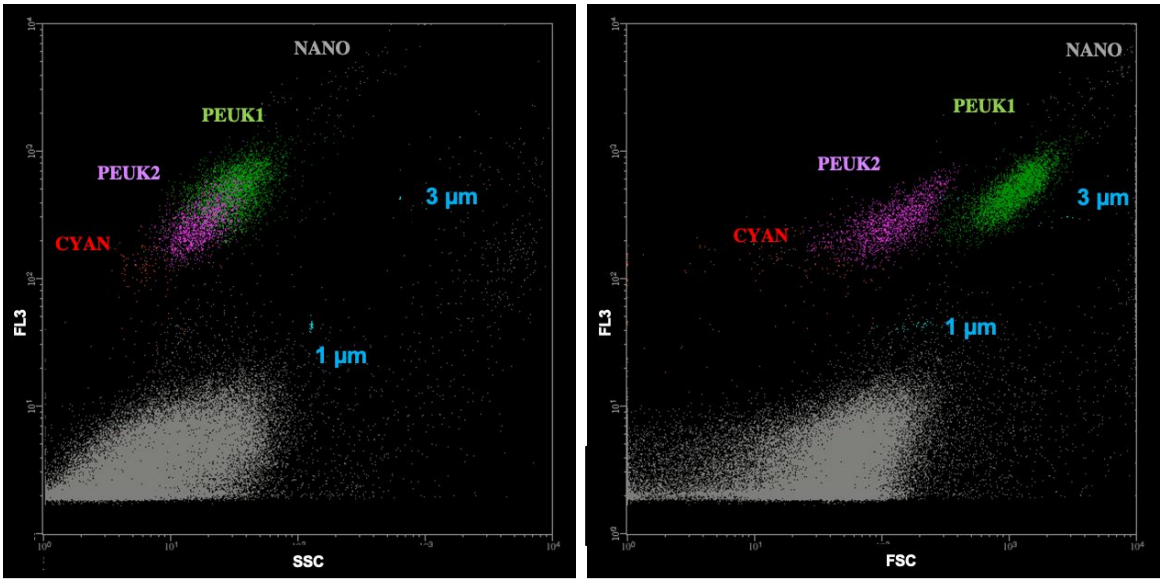
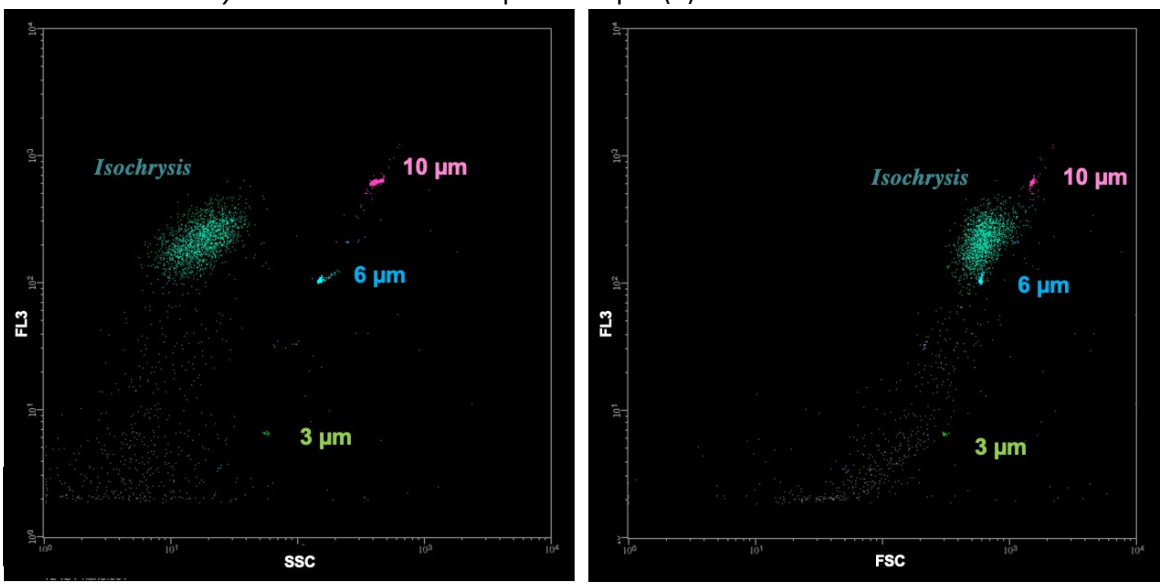
Annexe 3: anatomie de l'huître plate publié dans Gagneraud (1983)



(Gagneraud 1983)s

Annexe 4: cytogrammes d'échantillon de picophytoplancton et nanophytoplanton issu d'eau de la lagune (A) et d'échantillon de culture d'Isochrysis (B)

Les populations CYAN et PEUK2 ont une taille inférieure à 1-2 µm (FSC) et la population PEUK1 (associée à *Picochlorum*) a une taille plus importante proche de 3 µm. La population de NANO a une taille supérieure aux billes de 3 µm et apparaît très peu abondante (A)



La culture d'*Isochrysis* a une taille entre 6 µm et 10 µm (B)