

**UNIVERSITE DE BRETAGNE-SUD**

**UFR Sciences et Sciences de l'Ingénieur**

**DESS "ANALYSE ET VALORISATION DES PRODUITS NATURELS"**

**1999 – 2000**

**APTITUDE DE QUATRE TESTS SIMPLES  
A QUALIFIER LA VITALITE DE MOULES SOUMISES  
A DES EPREUVES GRADUELLES**

**Mémoire présenté le 5 septembre 2000  
par Christine PELVIN**



**Stage effectué au Laboratoire Conchylicole de Bretagne de l'IFREMER**

**Maître de stage : Joseph MAZURIE**

IFREMER, 12 rue des résistants, 56470 La Trinité sur Mer



**Ifremer**

**UNIVERSITE DE BRETAGNE-SUD**

**UFR Sciences et Sciences de l'Ingénieur**

**DESS "ANALYSE ET VALORISATION DES PRODUITS NATURELS"**

**1999 – 2000**

**APTITUDE DE QUATRE TESTS SIMPLES  
A QUALIFIER LA VITALITE DE MOULES SOUMISES  
A DES EPREUVES GRADUELLES**

**Mémoire présenté le 5 septembre 2000  
par Christine PELVIN**

**MOTS CLEFS** : moules, physiologie, vitalité, force d'adduction intervalvaire, perte de sel, choc thermique, refixation, byssus.

**Stage effectué au Laboratoire Conchylicole de Bretagne de l'IFREMER**

**Maître de stage : Joseph MAZURIE**

**IFREMER, 12 rue des résistants, 56470 La Trinité sur Mer**

**DESS ANALYSE ET VALORISATION DES PRODUITS NATURELS**  
**Année 1999 – 2000**

**APTITUDE DE QUATRE TESTS SIMPLES A QUALIFIER LA VITALITE DE**  
**MOULES SOUMISES A DES EPREUVES GRADUELLES**

Auteur : Christine PELVIN  
Maître de stage : Joseph MAZURIE  
Avec l'aimable collaboration de Pierre Gildas FLEURY

Stage effectué au Laboratoire Conchylicole de Bretagne de l'IFREMER,  
du 20 mars au 30 septembre 2000.

## **REMERCIEMENTS**

Je remercie tout d'abord mon maître de stage Joseph MAZURIE, chercheur à Ifremer la Trinité-sur-Mer, qui m'a encadrée et conseillée sur le travail de laboratoire ainsi que pour la rédaction de ce rapport.

Je souhaite remercier Pierre Gildas FLEURY, pour son aide et ses conseils tout au long de ce stage.

Je remercie également Robert POGGI, Directeur de la station de la Trinité-sur-Mer, pour m'avoir accueillie à la station.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à toute l'équipe de la station, pour leurs conseils et leur bonne humeur sans lesquels le déroulement de ce stage n'aurait pas été si agréable et si enrichissant.

## SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>p. 1</b>
<b>1<sup>ère</sup> PARTIE : LE CADRE DE L'ETUDE.....</b>	<b>p. 2</b>
1.1 - PRESENTATION DE L'IFREMER	
1.1.1 - Missions de l'IFREMER	
1.1.2 – Organisation de l'IFREMER	
1.1.3 – Implantations et moyens de l'IFREMER	
1.2 - LA MOULE : BIOLOGIE ET HABITAT	
1.2.1 – L'habitat	
1.2.2 – La physiologie	
1.2.3 – Les muscles adducteurs	
1.2.4 – Le byssus	
1.2.5 – L'influence de quelques paramètres physico-chimiques	
1.3 – PRESENTATION ET INTERET DE L'ETUDE	
1.4 – LES QUATRE TESTS PHYSIOLOGIQUES EXPERIMENTES SUR LA MOULE	
1.4.1 - La force d'adduction intervalvaire	
1.4.2 - La perte de sel intervalvaire en eau douce	
1.4.3 - La survie au choc thermique de 35°C	
1.4.4 - La temps de refixation par le byssus	
<b>2<sup>e</sup> PARTIE : L'EXPERIMENTATION DES QUATRE TESTS.....</b>	<b>p. 14</b>
2.1 – INTRODUCTION	
2.2 – MATERIEL ET METHODE	
2.2.1 - Les animaux	
2.2.2 - Les épreuves	
2.2.3 - Les tests physiologiques	
2.2.4 – L'analyse statistique des résultats	
2.3 – RESULTATS DE L'EPREUVE D'EXONDATION	
2.3.1 – L'épreuve	
2.3.2 – La force d'adduction intervalvaire	
2.3.3 – La perte de sel intervalvaire en eau douce	
2.3.4 – La survie au choc thermique de 35°C	
2.3.5 – Le temps de refixation par le byssus	

2.4 - RESULTATS DE L'EPREUVE D'IMMERSION EN EAU DOUCE

2.4.1 – L'épreuve

2.4.2 – La force d'adduction intervalvaire

2.4.3 – La perte de sel intervalvaire en eau douce

2.4.4 – La survie au choc thermique de 35°C

2.4.5 – Le temps de refixation par le byssus

2.5 – RESULTATS DE L'EPREUVE DE CHOC THERMIQUE A 30°C

2.5.1 – L'épreuve

2.5.2 – La force d'adduction intervalvaire

2.5.3 – La perte de sel intervalvaire en eau douce

2.5.4 – La survie au choc thermique de 35°C

2.5.5 – Le temps de refixation par le byssus

2.6 - DISCUSSION : COMPARAISON DES DIFFERENTS TESTS SUR LES TROIS  
EPREUVES

2.6.1 – Fiabilité

2.6.2 – Sensibilité

2.6.3 – Simplicité

2.6.4 – Allométrie

2.6.5 - Discussion générale

**CONCLUSION**.....p. 35

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**.....p. 36

**RESUME**.....p. 38

## LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 – Implantation des centres et stations de l'IFREMER en métropole.....	p. 4
Figure 2 – Anatomie interne de la moule.....	p. 5
Figure 3 – Le dynamomètre.....	p. 11
Figure 4 – Dispositif expérimental des mesures de perte de sel.....	p. 12
Figure 5 – Moules en situation d'exondation lors des mesures de choc thermique.....	p. 12
Figure 6 – Protocole général des expériences réalisées.....	p. 14
Tableau 1 – Données biométriques relatives aux animaux de chaque expérience.....	p. 14
Tableau 2 – Résultats de la mortalité observée au cours des 3 épreuves.....	p. 15
Tableau 3 – Conditions expérimentales des mesures de perte de sel.....	p. 17
Tableau 4 - Conditions expérimentales des mesures de choc thermique.....	p. 17
Tableau 5 - Conditions expérimentales des mesures de refixation par le byssus.....	p. 18
Tableau 6 – Résultats de force d'adduction intervalvaire des lots Ex0 , Ex3 et Ex5.....	p. 20
Figure 7 – Force d'adduction intervalvaire des lots Ex0, Ex3 et Ex5.....	p. 20
Tableau 7 – Analyse de variance à deux facteurs du test de force d'adduction intervalvaire sur les lots Ex0, Ex3 et Ex5.....	p. 20
Tableau 8 – Résultats de perte de sel des lots Ex0, Ex3 et Ex5.....	p. 21
Figure 8 – Perte de sel issue des lots Ex0, Ex3 et Ex5.....	p. 21
Tableau 9 – Résultats de survie au choc thermique des lots Ex0 et Ex3.....	p. 21
Figure 9 – Survie au choc thermique des lots Ex0 et Ex3.....	p. 21
Tableau 10 – Résultats de refixation par le byssus des lots Ex0, Ex3 et Ex5.....	p. 22
Figure 10 - Pourcentages cumulés de moules refixées en fonction du temps pour les lots Ex0, Ex3 et Ex5.....	p. 22
Tableau 11 – Résultats de force d'adduction intervalvaire des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.....	p. 24
Figure 11 – Force d'adduction intervalvaire des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.....	p. 24
Tableau 12 – Résultats de perte de sel des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.....	p. 24
Figure 12 – Perte de sel issue des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.....	p. 24
Tableau 13 – Résultats de survie au choc thermique des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.....	p. 25
Figure 13 – Survie au choc thermique des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.....	p. 25
Tableau 14 – Résultats de refixation par le byssus des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.....	p. 25

Figure 14 - Pourcentages cumulés de moules refixées en fonction du temps pour les lots Im0, Im1, Im2 et Im3.....	p. 25
Tableau 15 – Résultats de force d’adduction intervalvaire des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.....	p. 26
Figure 15 – Force d’adduction intervalvaire des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.....	p. 26
Tableau 16 – Résultats de perte de sel des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.....	p. 26
Figure 16 – Perte de sel issue des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.....	p. 26
Tableau 17 – Résultats de survie au choc thermique des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.....	p. 27
Figure 17 – Survie au choc thermique des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.....	p. 27
Tableau 18 – Résultats de refixation par le byssus des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.....	p. 27
Figure 18 - Pourcentages cumulés de moules refixées en fonction du temps pour les lots Th0, Th6, Th13 et Th14.....	p. 27
Tableau 19 – Bilan des résultats et analyses statistiques pour les différents tests.....	p. 29
Tableau 20 – Evaluation de la simplicité des différents tests.....	p. 30



## RESUME

L'étude des facteurs d'agression sur les mollusques bivalves, organismes sessiles qui subissent sans possibilité d'échappement l'influence des variations naturelles ou anthropiques d'environnement, implique la **disponibilité de critères d'évaluation de leur condition physiologique**.

Dans cette étude, nous avons considéré et tenté de démontrer qu'il était possible de mettre au point des **indicateurs d'état physiologique de moules basés sur des réactions globales** des organismes, **aisément mesurables ou observables**.

Une procédure originale a été élaborée, reposant sur la conduite en parallèle de quatre tests (force musculaire, perte de sel en eau douce, émission de byssus et survie au choc thermique) réalisés sur des sous-lots de moules venant de subir des épreuves standardisées (exposition de durée croissante à l'air, à l'eau douce ou à de l'eau de mer chauffée à 30 °C). Ces épreuves, relativement réalistes, représentaient un gradient allant jusqu'aux premières mortalités. Cette procédure a permis prioritairement de **juger des capacités discriminatives de ces tests**, et accessoirement d'obtenir une meilleure connaissance sur la tolérance des moules à l'exondation, à la dessalure ou à la température élevée de l'eau de mer.

L'ensemble des tests réalisés a mis en évidence des différences dans le sens attendu, pour la majorité des épreuves (différences plus ou moins significatives). Ces tests, même si chacun révèle une aptitude particulière, ont montré une certaine capacité à refléter "**l'état général**" des animaux, de manière **non spécifique à un type donné d'"agression"** (au moins pour les deux types très différents d'agressions consistant d'une part en une fermeture prolongée et d'autre part en une exposition prolongée à l'eau de mer à 30 °C). Cette réponse se révèle plus ou moins précoce et plus ou moins sensible. Certains tests spécifiques des espèces à byssus (positionnement) ou des bivalves (capacité d'herméticité intervalvaire), se sont révélés particulièrement sensibles. D'autres pourraient être améliorés en modifiant l'effort ou les conditions de mesure (choc thermique, force musculaire).

Dès à présent, des comparaisons relatives (ou contre témoins) de lots de « vitalité » différente, toutes choses égales par ailleurs (la taille des animaux notamment) sont possibles. Pour une application élargie (influence des conditions d'élevage, différenciation génétique, effet des agents infectieux...), les conditions de mesure ou de traitement des résultats seront à optimiser et surtout, l'influence propre de divers facteurs annexes (taille, saison, milieu...) devra être établie, fournissant des normes de réponses, auxquelles seront confrontées les mesures de lots particuliers.

## INTRODUCTION

La conchyliculture, activité traditionnelle pratiquée depuis le siècle dernier, a connu un développement important après la seconde guerre mondiale, grâce aux progrès zootechniques notamment. La France est aujourd'hui le premier pays producteur conchylicole de l'union européenne. Les espèces cultivées sont les huîtres et les moules essentiellement, auxquelles s'ajoutent des productions plus marginales de palourdes, coques et coquilles Saint-Jacques.

Le secteur conchylicole compte plus de 5 000 exploitants, ayant une activité de production mais aussi de commercialisation, et représente au total près de 18 500 emplois directs. On dénombre actuellement 60 000 concessions sur le domaine public maritime, représentant 19 000 hectares et 1 585 km de lignes de bouchots (source : site Internet OFIMER). Pour 1998, le comité National de la Conchyliculture estime à 220 000 tonnes la production de coquillages en France, dont 140 000 tonnes d'huîtres et 60 000 de moules (source : site Internet C.N.C.).

Jusqu'au 19<sup>ème</sup> siècle, la seule forme de mytiliculture connue en Europe était l'élevage sur bouchots, mais dans un petit secteur seulement ; partout ailleurs, on se contentait d'exploiter les gisements naturels. Dans le courant du siècle dernier, en même temps que les bouchots prenaient de l'extension sur le littoral français, deux nouveaux modes de culture apparurent : la culture à plat, qui commença à être pratiquée en Hollande vers 1860, et la culture en suspension, qui débuta en Espagne en 1846, mais ne devint vraiment importante qu'un siècle plus tard (Marteil – 1976).

La mytiliculture représente donc un secteur important pour l'économie des zones littorales, et une bonne connaissance des conditions de vie, de la physiologie et du comportement des animaux en élevage est nécessaire pour optimiser les techniques de culture. Aussi, la volonté de disposer d'outils pour **estimer quantitativement la condition physiologique ou l'état de santé de ces bivalves** est manifeste.

Dans cet objectif, la présente étude se propose d'étudier et de comparer plusieurs tests physiologiques et de déterminer s'ils peuvent représenter de bons outils pour comparer, classer des lots d'animaux de vitalité différente.

## **1<sup>ère</sup> PARTIE : LE CADRE DE L'ETUDE**

Ce stage s'est déroulé de mars 2000 à septembre 2000, au Laboratoire Conchylicole de Bretagne de l'Ifremer, à la Trinité-sur-Mer.

### **1.1 - PRESENTATION DE L'IFREMER**

L'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, Ifremer, a été créé par décret du 5 juin 1984, à la suite de la fusion du CNEXO ( Centre National pour l'Exploitation des Océans) et de l'ISTPM (Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes). L'Ifremer est le seul organisme de recherche français à vocation entièrement maritime. C'est un établissement public à caractère industriel et commercial, placé sous la tutelle conjointe des ministères respectivement chargés de l'Education nationale, de la Recherche et de la Technologie ; de l'Agriculture et de la Pêche ; de l'Equipeement, des Transports et du Logement.

#### **1.1.1 - Missions de l'IFREMER**

Les activités de recherche et de développement technologique menées par l'Ifremer concernent essentiellement l'ingénierie et la technologie sous-marine, la connaissance du milieu océanique et des fonds marins, l'environnement côtier, l'exploitation et la transformation des ressources vivantes (pêche et aquaculture).

L'Ifremer assure également une mission de service public en répondant à la demande exprimée par les pouvoirs publics, les professionnels de la mer, les élus, les consommateurs.

L'Ifremer recueille, diffuse et valorise les informations nationales et internationales, et s'associe à l'élaboration d'accords et de conventions de coopération internationales dans le domaine marin.

#### **1.1.2 - Organisation de l'Ifremer**

L'Ifremer est structuré en six grandes directions opérationnelles, cinq pour la recherche et une pour la flotte océanologique.

- ***La Direction des moyens et opérations navals (DMON)***

L'Ifremer est chargé de développer et de gérer la majeure partie de la flotte océanographique française. La DMON assure la programmation des campagnes à la mer. Elle constitue l'interface entre la communauté scientifique et l'armement GENAVIR (filiale de l'Ifremer).

- ***La Direction de la Technologie Marine et des Systèmes d'Information (TMSI)***

La TMSI est chargée, entre autres, de conduire des programmes à caractère technologique ou industriel et de mener des recherches sur les technologies de base.

- ***La Direction des Navires océanographiques et de l'Intervention Sous-marine (DNIS)***

La DNIS est chargée d'assurer la maîtrise d'ouvrage des nouveaux navires, systèmes sous-marins, équipements et systèmes informatiques embarqués, de mener et d'inciter des recherches et développements technologiques amont dans les domaines stratégiques de l'intervention sous-marine, et de rechercher la valorisation socio-économique et le transfert vers les industriels des projets et réalisations dont elle assume la responsabilité.

- ***La Direction des Recherches Océaniques (DRO)***

La DRO contribue par ses programmes de recherche à la compréhension de la circulation océanique, qui joue un rôle majeur dans les relations entre l'océan et le climat, ainsi qu'à la connaissance et à l'exploration des fonds océaniques.

- ***La Direction de l'Environnement et de l'aménagement Littoral (DEL)***

La DEL contribue à la connaissance des écosystèmes côtiers, au développement d'outils, de méthodes et de concepts utilisables par les acteurs de l'environnement. Elle opère des réseaux d'observation et de surveillance du littoral. Elle conduit des recherches sur le devenir des masses d'eau et sur différents processus biologiques et chimiques.

- ***La Direction des Ressources Vivantes (DRV)***

La DRV contribue à la gestion durable des ressources halieutiques, à l'optimisation et au développement des productions aquacoles, à la transformation, la valorisation et la qualité des produits de la mer, ainsi qu'à la surveillance et à l'évaluation des ressources conchylicoles et de l'économie des ressources marines.

Des directions fonctionnelles complètent cette organisation :

- La Direction des Ressources Humaines (DRH)
- La Direction du Plan, de la Programmation et du Budget (DPB)
- La Direction des Affaires Juridiques et Logistiques (DAJL)
- La Direction de la Politique Industrielle et de la valorisation (DPI)
- La Direction des Relations et de la Coopération Internationales (DRCI)
- La Direction de la Communication (DCOM)

### **1.1.3 - Implantation et moyens de l'Ifremer**

L'Ifremer est présent sur tout le littoral métropolitain et dans les DOM-TOM. L'institut est composé de 5 centres (Boulogne, Brest, Nantes, Toulon et Tahiti) auxquels sont rattachées une ou plusieurs stations (figure 1). Le siège social se situe à Issy-les-Moulineaux (Hauts de Seine).

Ses effectifs sont de 1 700 cadres, chercheurs, ingénieurs, marins, techniciens et administratifs, et son budget annuel représente un milliard de francs.

L'Ifremer dispose de 7 navires, 2 submersibles habités, un Remote Operated Vehicle (ROV) 6 000 m, et d'un ensemble de moyens d'essais.

- ***Le centre de Brest***

Le centre de Brest est le plus important des sites Ifremer. Il est implanté à l'entrée de la rade de Brest, et ce sont environ 1 000 personnes qui y travaillent.

Ce centre accueille un certain nombre de laboratoires d'autres organismes qui mènent, en collaboration avec Ifremer, des programmes de recherche en océanologie.

- ***La station de la Trinité sur Mer***

La station de La Trinité sur Mer dépend du centre de Brest. Elle s'est installée à La Trinité sur Mer en 1970, au cœur de la zone conchylicole de Bretagne Sud. Elle regroupe 20 chercheurs et techniciens, qui apportent leur soutien au développement conchylicole et participent par leurs recherches au maintien de la qualité des eaux littorales.

Deux laboratoires côtiers composent la station de La Trinité sur Mer :

- Le laboratoire de la Direction de l'Environnement Littoral, qui assure le suivi de la qualité des ressources du littoral et participe aux réseaux de surveillance et à l'expertise locale sur ces thèmes.
- Le laboratoire conchylicole de Bretagne (département Ressources Aquacoles), qui étudie plus particulièrement les facteurs d'amélioration de la conchyliculture : gestion des bassins conchylicoles, pathologie, amélioration génétique...

## **1.2 - LA MOULE : BIOLOGIE ET HABITAT**

Les moules appartiennent à l'embranchement des mollusques (invertébrés au corps mou), et à la classe des bivalves. La coquille des moules est donc composée de deux valves, reliées entre elles par un ligament (figure 2). Les moules font partie de la famille des mytilidés dont les membres se distinguent par leurs valves égales. Accolé à la partie interne de la coquille se trouve un large feuillet de tissu, le manteau, qui enserre les parties molles du corps à l'intérieur de la coquille. Le manteau assure la fabrication de la coquille, et comporte des organes sensoriels sensibles aux variations du milieu extérieur. Les moules appartiennent enfin au genre *Mytilus*. Il existe plusieurs espèces de *Mytilus*, dont deux seulement sont exploitées en Europe : *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*.

### **1.2.1 – L'habitat**

Solidement accrochée aux fonds rocheux ou sablonneux, la moule occupe principalement les zones intertidales (soumises aux marées) et subtidales relativement peu profondes. La distribution géographique des moules est très étendue. *Mytilus edulis*, la plus nordique, se rencontre en Baltique, en mer du Nord et en Atlantique. *Mytilus galloprovincialis*, commune surtout en Méditerranée, est trouvée également sur les côtes Atlantiques et jusqu'en Manche Occidentale.

### **1.2.2 – La physiologie**

La respiration est assurée par deux branchies, formées chacune de quatre fines lamelles placées en parallèle. La moule respire en extrayant une partie de l'oxygène qui est dissous dans l'eau circulant entre ces lamelles. De nombreux vaisseaux sanguins minuscules y extraient l'oxygène tout en rejetant les déchets gazeux de CO<sub>2</sub> (Bayne *et al.*– 1976). Les branchies jouent aussi un rôle important dans l'alimentation puisqu'elles agissent comme un tamis pour retenir les particules de nourriture présentes dans l'eau. Pour remplir ce rôle, les branchies sont couvertes d'une multitude de cils minuscules qui permettent de retenir les particules de nourriture et de les acheminer vers la bouche. La nourriture est ensuite entraînée vers l'appareil digestif. Pour contrôler et faire circuler l'eau à travers ses branchies, la moule entrouvre ses valves afin de permettre au manteau de former deux conduits appelés siphons. L'eau environnante est alors aspirée à l'intérieur de la moule par le siphon inhalant et est expulsée à l'extérieur par le siphon exhalant. La moule peut filtrer de 15 à 30 litres d'eau par jour.

Chez la moule, les sexes sont séparés. Les gonades sont disséminées dans l'organisme bien qu'on les retrouve surtout dans le manteau (Barnabé – 1989). Lorsqu'ils sont arrivés à maturité, les produits génitaux sont expulsés dans le milieu extérieur où a lieu la fécondation. Plusieurs pontes ont lieu chaque année et à chaque ponte, un million de larves environ sont ainsi laissées au soin de l'océan.

### **1.2.3 – Les muscles adducteurs**

Les muscles adducteurs, permettant de contrôler l'ouverture ou l'entrouverture des valves, sont d'une importance primordiale pour les bivalves. Ils jouent un rôle important dans de nombreux processus vitaux tels que la filtration, la ponte et les rejets de vase, mucus, et excréments. Ils sont surtout impliqués dans la fermeture valvaire, qui assure la protection des bivalves contre l'attaque de prédateurs, et les protègent de la dessiccation.

La majorité des bivalves ont deux muscles adducteurs, le postérieur et l'antérieur, comme c'est le cas pour la moule bleue *Mytilus edulis* (Marteil – 1976), tandis que d'autres espèces (dites monomyaires) comme la coquille Saint-Jacques n'en possèdent qu'un seul. Celui-ci est fait de 2 parties distinctes : le muscle strié, responsable des contractions fortes mais brèves (dites phasiques), et le muscle lisse, responsable des contractions longues (dites toniques) (Chantler - 1991).

#### 1.2.4 - Le byssus

Les moules sont généralement trouvées en population dense, attachées par des filaments de byssus à des surfaces dures ou caillouteuses. Ces filaments sont sécrétés par une série de glandes associées situées dans le pied de la moule, et qui forment "l'appareil byssal".

L'une des principales fonctions du pied chez la moule est donc l'attachement à un substrat dur, et le positionnement de la moule, pour lui permettre de résister aux mouvements d'eau. Cette fonction est en fait caractéristique de toutes les post-larves de bivalves, mais seuls la moule et le pétoncle noir conservent cette fonction au stade adulte. Le pied du bivalve est expulsé de la coquille par l'action combinée du muscle protracteur et l'engorgement du pied par des sécrétions. Le pied étendu est alors pressé contre le substrat, et un matériel protéique, sécrété par les glandes à la base du pied (Price – 1983), s'écoule d'un canal à l'extrémité du pied. Il y a deux types de sécrétions : l'une contenant essentiellement des protéines, l'autre contenant le matériel qui fait durcir les protéines. Quand les deux sécrétions sont mélangées et exposées dans l'eau de mer, les filaments de byssus sont formés et durcissent (Brylinsky – 1989). Le pied est alors retiré, laissant les filaments de byssus en place. Ce processus prend seulement quelques minutes et est répété jusqu'à ce qu'une masse de filaments suffisante soit formée pour attacher solidement la moule à son substrat. Pour se détacher, le bivalve place son pied contre le substrat et se décolle.

Parfois, et particulièrement aux stades de vie précoces quand la moule est de petite taille et qu'elle recherche un environnement favorable, le pied peut être utilisé pour le mouvement sur des courtes distances, en étant étiré, attaché à un substrat, puis contracté pour faire avancer la moule. Ce procédé est souvent aidé par une production temporaire de filaments de byssus.

#### 1.2.5 – L'influence de quelques paramètres physico-chimiques

Dans le cas des animaux à sang froid, comme les moules, la **température** est le facteur environnemental majeur qui contrôle le métabolisme. Aux températures faibles, la plupart des processus physiologiques sont lents. Lorsque la température augmente, il y a un accroissement notable de ces processus. Il y a cependant des limites et, dans le cas de la moule, la température optimale d'activité se situe entre 10°C et 20°C (Seed - 1976), tandis que des températures supérieures à 25°C deviennent stressantes, ou même létales si elles sont combinées à d'autres conditions non optimales comme de faibles concentrations en oxygène, en sel, ou en nourriture.



La température létale absolue dépend de l'âge, de la taille et des conditions générales de nutrition de la moule, ainsi que de la rapidité d'élévation de la température (Brylinsky – 1989). Les moules plus jeunes et de petite taille seraient capables de tolérer des températures plus élevées que les moules plus grosses ou plus âgées. De plus, si la température augmente lentement, sur une période de plusieurs jours ou plusieurs semaines par exemple, les moules sont alors capables de s'acclimater à des températures plus élevées que si le changement s'effectue sur une période courte de l'ordre de quelques heures.

La moule a la capacité de tolérer des variations de **salinité** importantes. Elle se développe dans des zones de salinités comprises entre 4 ‰ et 35 ‰. Toutefois, sa croissance est optimale à des salinités comprises entre 18 et 31 ‰. L'acclimatation de la moule aux variations de salinité est fonction de l'intensité du changement, et aussi de la température.

La plupart des organismes marins ont besoin d'**oxygène** pour vivre. Toutefois, contrairement à l'air, l'eau de mer contient une quantité d'oxygène dissous relativement faible, qui peut devenir insuffisante à la survie des animaux. La croissance de *Mytilus* est plus élevée lorsque les concentrations en oxygène dépassent 50 % du taux de saturation.

### **1.3 - PRESENTATION ET INTERET DE L'ETUDE**

Dans leur environnement naturel comme en condition d'élevage, les moules sont soumises aux variations du milieu. Ces variations peuvent être d'origine naturelle (exondation, variation de température, de salinité...), liées aux conditions d'élevage (transports, manipulations...) ou d'origine accidentelle (pollution). Ces changements du milieu peuvent affecter les moules, et avoir des conséquences telles qu'une diminution de la croissance, des dégrappages, voire même des mortalités. C'est pourquoi il serait intéressant de **disposer d'outils pour évaluer l'état de vitalité des moules**. La diminution de croissance, les dégrappages ou encore des mortalités importantes sont le résultat évident d'une baisse de vitalité, révélée trop tardivement en raison du manque d'outils sensibles.

Les études menées en routine sur les moules portent principalement sur leur salubrité, en relation avec la qualité du milieu (microbiologie, phytotoxines, contaminants chimiques), et sur les performances d'élevage. Dans ce domaine, les suivis les plus courants concernent la reproduction (émission des larves et suivi du captage), la pathologie (suivi d'agents infectieux

et analyse des mortalités anormales), les stocks en élevage et la croissance (biométrie, indices de condition...).

Actuellement, les outils les plus utilisés pour évaluer l'état de santé des bivalves sont essentiellement des mesures de métabolisme, des dosages biochimiques ou des tests immunologiques :

*Métabolisme* : le potentiel de croissance (Scope For Growth), index qui exprime la quantité d'énergie disponible pour la croissance et la reproduction.

*Dosages biochimiques* : taux de glycogène dans les tissus du manteau, dosage de protéines de stress telles que les Heat Shock Protein (HSP), charge énergétique adénylique.

*Indices immunologiques* : types hématocytaires, activité de phagocytose, activité lysosomiale.

Dans cette étude, l'accent est mis sur des outils susceptibles de refléter l'état de santé (ou de vitalité) générale de ces bivalves. **Les méthodes expérimentées dans cette étude se démarquent donc principalement des méthodes analytiques traditionnelles en s'intéressant prioritairement à des fonctions globales** de l'organisme (Viarengo & Canesi – 1991). Ces fonctions peuvent être évaluées en conditions normales (non stressantes), mais aussi en conditions extrêmes où les ressources vitales sont mobilisées ; l'état physiologique de l'animal détermine alors son aptitude à supporter plus ou moins longtemps un environnement défavorable.

Une autre caractéristique essentielle recherchée est la **simplicité des mesures** : nécessitant un équipement peu sophistiqué, elles pourront être mises en œuvre par tout laboratoire non spécialisé (les laboratoires régionaux de l'Ifremer notamment), et éventuellement par certains éleveurs eux-mêmes. Enfin, les méthodes étudiées doivent être **rapides**, pour renseigner immédiatement sur l'état de santé des bivalves. Ainsi, une fois mis au point, ces outils, ou tests physiologiques, pourraient être appliqués dans le cadre de réseaux de suivi, mais aussi de manière plus ponctuelle lorsqu'un problème est constaté (ex : dégrappage). Ils permettraient alors de juger immédiatement de la "vitalité" des moules, et de réagir pour éviter les mortalités.

Avant d'aborder la présentation et l'étude des différents tests, il convient de préciser quelques définitions.

Le **stress** est défini comme une altération de l'état physiologique, induite par un changement de l'environnement, qui rend les individus plus vulnérables à des changements additionnels.

La **vitalité** correspond à l'état de "forme" de l'animal. Elle est traduite par son aptitude à résister à un test ou à un état stressant, elle peut donc être assimilée à un potentiel de résistance.

La **sensibilité d'un test** est sa capacité à différencier des animaux ayant subi des conditions différentes. Un test sensible doit donc permettre de distinguer des animaux "en forme" et des animaux affaiblis.

La **fiabilité** d'un test est définie ici comme sa cohérence, c'est à dire l'homogénéité et la logique de ses réponses.

Le présent travail consiste à comparer les performances de quatre tests, à trouver les plus discriminants et les plus aptes à refléter l'état physiologique des moules. L'approche expérimentale retenue consiste à appliquer en parallèle les différents tests sur des lots de moules affaiblis de manière contrôlée. Pour ce faire, à partir d'un lot unique d'animaux, plusieurs sous-lots sont constitués, et chacun de ces sous-lots va subir une épreuve identique mais de durée variable, pour constituer un gradient de vitalité, allant autant que possible jusqu'à un niveau pré-létal, ou létal pour un faible pourcentage des animaux.

#### **1.4 - LES QUATRE TESTS PHYSIOLOGIQUES EXPERIMENTES SUR LA MOULE**

Les tests expérimentés sont les suivants :

- Force d'adduction intervalvaire
- Perte de sel intervalvaire en eau douce
- Survie au choc thermique de 35°C
- Temps de refixation par le byssus

La perte de sel et la force d'adduction intervalvaire font déjà l'objet d'un développement méthodologique au laboratoire de La Trinité, sur d'autres espèces (l'huître surtout, les coques et la coquille Saint-Jacques), et ont donc été retenues pour être étudiées sur les moules.

Ces deux tests reflètent la capacité du bivalve à s'isoler du milieu extérieur, tandis que les tests de refixation par le byssus et de survie au choc thermique sont des tests de comportement (l'un en condition normale, l'autre en condition extrême).

#### **1.4.1 – La force d'adduction intervalvaire**

Des mesures de force musculaire réalisées sur des juvéniles de coquilles Saint-Jacques (*Pecten maximus*) ont démontré la pertinence de cette mesure pour quantifier la "vitalité" de ces bivalves (Fleury *et al.* – 1997a). L'outil est particulièrement bien adapté à la coquille Saint-Jacques, étant donné le rôle majeur du muscle dans la nage et l'enfouissement ou comme stockage de réserves glucidiques. Il a été aussi étudié sur la coque (Fleury *et al.* – 1997b), et l'huître (North - 1999).

Le test consiste à mesurer la force d'adduction intervalvaire des moules. Les mesures se font au moyen d'un dynamomètre (figure 3), qui indique la force maximale nécessaire pour ouvrir la coquille. Les résultats sont donnés en Newton (N ; 1 kgf = 9,81 N). Il est nécessaire d'introduire dans l'animal les crochets de l'appareil de mesure. Pour les moules, cette insertion est faite facilement en poussant légèrement les 2 valves dans des directions opposées, de sorte qu'elles glissent l'une sur l'autre.

#### **1.4.2 – La perte de sel intervalvaire en eau douce**

La capacité à s'isoler du milieu extérieur, quand celui-ci devient défavorable, est l'une des conditions de survie des mollusques bivalves. Outre la fermeture des deux valves de la coquille par contraction musculaire, elle met en jeu une barrière supplémentaire interne par jointure des lobes du manteau (Berger *et al.* - 1979). On peut la mesurer assez simplement en immergeant les animaux à tester dans un milieu fortement dessalé (eau douce) et en enregistrant l'augmentation de salinité externe qui résulte du défaut d'herméticité (ou d'étanchéité) de l'animal. Sarantchova O. et Mazurié J. (1996) ont proposé d'utiliser cette aptitude comme indicateur physiologique. Leurs travaux, réalisés sur les huîtres, ont démontré que celles-ci présentaient une aptitude amoindrie à préserver leur salinité intervalvaire après un stress thermique important (5 mn à 50 °C). Par ailleurs, des différences ont pu être mesurées entre sites et saisons, sur des lots en élevage sur les parcs ostréicoles.

La mesure s'effectue en immergeant un échantillon des bivalves à tester (nombre et poids connus) dans un volume connu d'eau douce thermorégulée. L'augmentation de salinité est enregistrée en continu au moyen d'un conductimètre (figure 4).

Pour permettre les comparaisons, les corrections liées aux différences éventuelles de poids de l'échantillon et de volume d'eau douce sont réalisées, permettant de passer de valeurs de salinité (en g/l) à des valeurs pondérées (en mg de sel perdu par g de mollusque). La courbe représentant ces données peut être résumée en un minimum de valeurs numériques : vitesse de perte de sel entre 1 heure et 3 heures par exemple (calcul de pente qui s'affranchit des pertes de sel extra-valvaires des minutes initiales).

### **1.4.3 – La survie au choc thermique de 35°C**

Le test consiste à appliquer aux moules un choc thermique en eau salée, puis à placer les moules en condition d'exondation pour juger de leur temps de survie (Catois – 1999).

Pour ce test, plusieurs options sont envisageables pour juger de la réponse des moules. La première consiste à appliquer le choc thermique aux animaux, et à évaluer simultanément la mortalité au cours du test. Il est aussi possible, à l'issue d'un stress thermique d'une durée donnée, de replacer les animaux en eau à température ambiante, et de déterminer la mortalité en eau de mer dans les heures ou jours qui suivent le stress. Les animaux affaiblis ou très affaiblis évolueront vraisemblablement vers la mort, tandis que les autres pourront récupérer. Pour ces deux méthodes, la mortalité est estimée sur des moules immergées, ce qui n'est pas toujours aisé : les moules fermées sont-elles toutes vivantes ? les moules baillantes filtrent-elles ou sont-elles mortes ? De plus, il est nécessaire de retirer les moules mortes afin qu'elles n'accélèrent pas la mortalité des autres, cela implique de manipuler les animaux, ce qui n'est pas souhaitable non plus. Enfin, la mortalité peut être estimée en situation d'exondation. Le comportement typique de la moule est alors de fermer sa coquille. Aussi, le critère retenu pour évaluer la survie des moules pour le test de survie au choc thermique a été leur ouverture en condition d'exondation, une ouverture prolongée étant signe de mort. Un autre problème est l'ajustement du choc thermique à la vitalité des animaux. Malgré la variabilité interne d'un lot de coquillages, il est souvent difficile d'avoir un gradient de réponse entre 0 et 100 % de mortes (Maguire *et al.* – 1999). Pour pallier ce problème, nous avons choisi de tester une combinaison de durées plutôt qu'une durée unique (figure 5). Cela augmente la gamme des réponses au test, et permet d'éviter les réponses de type tout ou rien (0 ou 100 % de mortalité).

#### 1.4.4 – Le temps de refixation par le byssus

Le comportement des animaux est un indicateur de vitalité bien connu des éleveurs : enfouissement (coque, coquille Saint-Jacques), retournement (coquille Saint-Jacques, ormeau), dégrappage et regrappage (moule, pétoncle).

La production de byssus nécessite une certaine vitalité, un apport d'énergie. Pour la moule, la capacité de refixation par le byssus est donc un indicateur comportemental assez simple. Si cette énergie est déjà utilisée par la moule pour compenser un stress de l'environnement, alors elle ne sera plus disponible pour la production de byssus. Ainsi, en jugeant de la capacité de refixation des moules, il serait possible de différencier des individus "en forme" et des individus "affaiblis", les individus en forme étant a priori capables d'une refixation plus importante ou plus rapide que les individus stressés. Des travaux réalisés sur la moule *Mytilus edulis* suite à une pollution pétrolière en Suède ont notamment mis en évidence que les moules affectées présentaient un taux de refixation inférieur à celui des moules non affectées (Linden *et al.* – 1978).

## **2<sup>e</sup> PARTIE : L'EXPERIMENTATION DES QUATRE TESTS**

### **2.1 – INTRODUCTION**

Ces expériences sont menées pour étudier la fiabilité et la sensibilité de chacun des tests précédemment décrits, et comparer ces tests entre eux, du point de vue de leur praticabilité et de leurs performances.

Il s'agit d'étudier la réponse aux différents tests physiologiques de moules dont l'état de vitalité diffère. Pour constituer des lots d'animaux de vitalité différente, 3 épreuves ont été retenues : l'exondation, l'immersion en eau douce, et le choc thermique. Le choix de ces épreuves repose d'une part sur l'assurance qu'elles constituaient un stress pour les animaux, et d'autre part qu'elles étaient relativement simples à mettre en œuvre. Ces 3 épreuves ont été appliquées aux moules selon un gradient croissant de durée, pour obtenir des moules de plus en plus affaiblies, le niveau ultime correspondant aux premières mortalités significatives. L'état des moules au terme des différentes épreuves est évalué au moyen des quatre tests physiologiques (figure 6).

### **2.2 – MATERIEL ET METHODE**

#### **2.2.1 - Les animaux**

Les moules utilisées pour cette expérience sont de l'espèce *Mytilus edulis*, et sont issues de cultures sur bouchots de la Baie de Vilaine (Bretagne Sud). Ce sont des moules de 1 an, capturées au printemps 1999. A leur arrivée au laboratoire, les moules ont été rincées et mises en stabulation dans des bassins oxygénés de 2 m<sup>3</sup> avant leur utilisation. Des mesures biométriques (longueur, poids entier, poids de coquille, poids de chair frais, poids de chair sec) ont été réalisées sur 30 moules pour chaque lot (tableau 1), en vue de calculer certains indices et de réaliser des corrections d'allométrie. Les longueurs ont été déterminées au moyen d'un pied à coulisse (d = 0.1 mm), et les différentes pesées ont été réalisées sur une balance Sartorius (d = 0,001 g). Le poids de chair sec est obtenu après passage à l'étuve 72 heures à 60°C. L'indice de condition (IC) est défini comme le rapport poids de chair frais/poids entier.

## 2.2.2 - Les épreuves

- ***L'exondation***

3 lots ont été constitués : 1 lot témoin (Ex0), et deux lots devant subir respectivement 3 et 5 jours d'exondation (Ex3 et Ex5).

Le lot témoin a été mis en stabulation en grand bac 3 jours supplémentaires, pour être traité en même temps que le lot Ex3, et les 2 autres lots ont été disposés à l'air en salle thermostatée, le premier 3 jours et le second 5 jours. La température était de 15°C, et l'hygrométrie de l'air ambiant de 87 %. La mortalité a été observée pour chacune des durées de l'épreuve (tableau 2), l'épreuve de plus haut niveau correspondant à environ 20 % de mortalité. Au terme de l'exondation, certaines moules avaient perdu une partie de leur eau intervalvaire et flottaient. Pour les tests où les moules sont immergées (refixation par le byssus, choc thermique, perte de sel), cela rendait l'application du test problématique. Les moules ont donc été réimmergées 15 minutes en eau de mer à 15°C avant de subir les différents tests physiologiques (pour éliminer les effets physiques de l'épreuve). Le test de force musculaire, quant à lui, a été réalisé sur des moules réimmergées et non réimmergées, pour observer s'il y avait une différence due à la déshydratation des animaux.

- ***L'immersion en eau douce***

4 lots ont été constitués : 1 lot témoin (Im0) et 3 lots devant subir respectivement 1, 2 et 3 jours d'immersion en eau douce (Im1, Im2 et Im3).

L'immersion en eau douce a été menée en salle thermostatée, à 15°C. Les moules ont été disposées dans des bacs de 60 l (environ 250 moules par bac), dans de l'eau douce à 15°C, et sans aération. Les moules étant contraintes à maintenir leur coquille fermée durant cette épreuve, il n'était pas nécessaire d'oxygéner le milieu. La mortalité a été notée quotidiennement pendant la durée de l'épreuve (tableau 2), et les moules mortes retirées des bacs au fur et à mesure. L'épreuve la plus élevée correspond ici à environ 30 % de mortalité.

- ***Le choc thermique à 30°C***

4 lots ont été constitués : un lot témoin (Ch-Th0), et 3 lots destinés à subir respectivement 6, 13 et 18 heures de choc thermique en eau salée à 30°C (Ch-Th6, Ch-Th13 et Ch-Th18). Afin de réduire les risques de différences de taille entre lots, les moules utilisées pour cette épreuve étaient toutes d'une longueur comprise entre 40 et 55 mm. Le choc thermique a été réalisé dans un bain-marie thermorégulé à 30°C. Une oxygénation de l'eau a été ajoutée au moyen



d'un aérateur. La mortalité a été observée au terme de chacune des épreuves (tableau 2), et atteint 6 % pour le niveau de stress le plus important. La température choisie pour cette épreuve de choc thermique, tout en correspondant à une réalité que les animaux peuvent vivre au cours des périodes d'exondation lors de journées chaudes, permettait de réaliser l'épreuve sur des durées raisonnables.

### **2.2.3 - Les tests physiologiques**

- ***La force d'adduction intervalvaire***

La force d'adduction intervalvaire est déterminée au moyen d'un dynamomètre, sur un effectif de 30 moules pour les séries de mesure après exondation (avec/sans réimmersion) et après immersion en eau douce, et sur un effectif de 50 moules pour les séries de mesure après choc thermique. Les moules utilisées pour ce test sont les mêmes que celles ayant servi aux mesures de biométrie. L'effectif a été augmenté à la troisième épreuve pour être comparable à celui des autres tests, la précision du test en étant améliorée. Un indice de force est aussi calculé, il est défini comme le rapport force / poids. Cet indice permettra de comparer les 3 épreuves (3 lots d'animaux de tailles différentes).

Dans la pratique, les valves de l'animal sont écartées lentement jusqu'à l'obtention d'une force maximale qui est enregistrée par l'appareil de mesure. De fait, ce pic correspond aux premiers déchirements musculaires, et comporte à la fois une réaction active contre l'écartement (force d'adduction valvaire) et la résistance physique des fibres musculaires.

Il arrive aussi que la force brise la coquille avant le muscle, auquel cas l'animal est remplacé.

- ***La perte de sel intervalvaire en eau douce***

Les mesures ont été réalisées dans un bain-marie réglé à 30°C, au moyen d'un conductimètre "Consort", enregistrant une mesure toutes les 3 minutes. Le choix de cette température relativement élevée plutôt que la température ambiante répond à deux objectifs :

- mesurer la tolérance à la chaleur plutôt qu'à une très forte dessalure, le premier type de stress étant plus fréquemment rencontré,
- accélérer le temps de réponse et probablement la différenciation des lots.

Juste avant le test, les moules sont rapidement rincées à l'eau douce, pour lessiver le sel présent à l'extérieur de la coquille, à l'exception des moules ayant subi l'épreuve d'immersion en eau douce, où ce rinçage n'a pas lieu d'être. Pour cette épreuve, les moules ont été directement soumises au test, sauf celles des lots Im3, qui ont été réimmergées 20 minutes en

eau de mer, pour tenter de corriger la dessalure interne qui peut résulter de plusieurs jours d'immersion en eau douce, et biaiser les enregistrements (risque d'artefact).

Le test a été réalisé sur un seul lot de 100 animaux pour la première épreuve (exondation), et sur 2 lots de 50 (réplicats) pour les épreuves d'immersion en eau douce et de choc thermique (tableau 3).

- ***La survie au choc thermique de 35°C***

Les moules de chaque lot sont réparties en 6 groupes, chacun de ces 6 groupes étant destiné à subir un choc thermique à 35°C d'une durée différente (0 h 00, 0 h 30, 1 h 00, 1 h 30, 2 h 00 et 2 h 30). Les moules sont ensuite immergées dans un bain-marie d'eau de mer à 35°C pour la durée du choc thermique. Au terme de celui-ci, les moules sont disposées à plat sur paille, à température ambiante. La mesure consiste ensuite à comptabiliser le nombre d'animaux morts à l'issue du test. L'animal est considéré mort lorsque ses valves sont ouvertes et qu'un stimulus externe ne donne pas de réponse. Au cours des essais réalisés pour mettre ce test au point, la mesure a été faite à différentes durées après le choc thermique (5 mn, 1 h, 2 h, 3 h et 24 h). Les observations faites entre 5 minutes et 3 heures ont mis en évidence un comportement irrégulier des moules : elles s'ouvrent et se referment, sans qu'il soit possible de mettre en évidence un comportement global. C'est donc l'observation après 24 h qui a été retenue. Une pesée des animaux de chaque lot a été effectuée, et la température ambiante a été relevée pour chacune des dates d'expérimentation (tableau 4).

Le choix de la température du choc thermique a été déterminé suite aux résultats des essais menés pour mettre ce test au point. Les températures de 40°C et 50°C ont été étudiées, mais la mortalité était trop brutale, même pour des courtes durées, et cela ne répondait pas à l'objectif d'obtention d'une gamme. Des essais ont également été effectués à 30°C. Cette température aboutissait à la gamme de réponse attendue, mais les durées de l'expérimentation étaient trop longues pour être utilisées dans le cadre de tests physiologiques.

- ***Le temps de refixation par le byssus***

Au terme de l'épreuve, le byssus préexistant des moules est sectionné aux ciseaux. Les animaux sont ensuite disposés au fond d'un bac de 60 l (un bac pour chaque lot), dans de l'eau de mer sans aération ni circulation d'eau. Dans la première épreuve (exondation), la mesure a consisté à comptabiliser les moules fixées à la paroi du bac. Cela impliquait de manipuler les animaux, et cela pouvait provoquer une perturbation pour les individus non encore fixés. Aussi, pour les épreuves d'immersion en eau douce et de choc thermique, un autre critère a été

retenu pour la mesure : le positionnement de l'animal. Une moule placée à plat (c'est à dire avec le plan intervalvaire parallèle au substrat) va se positionner à la verticale pour se fixer (le plan intervalvaire perpendiculaire au substrat). Ainsi, les animaux considérés fixés sont ceux placés à la verticale, et les animaux non fixés ceux placés horizontalement.

Le comptage des animaux fixés a été fait toutes les 30 minutes. La température de l'eau a été relevée pour chaque expérience (tableau 5). Les effectifs ont été augmentés pour améliorer la précision du test, tandis que la durée d'observation a été réduite à 2 heures à l'issue des résultats du premier test, celui-ci apparaissant discriminant dès les 2 premières heures.

#### **2.2.4 – L'analyse statistique des résultats**

L'articulation des expériences repose sur la comparaison de tests physiologiques menés en parallèle à l'occasion de 3 séries d'épreuves de différents types. Chaque épreuve incluait un témoin (absence d'épreuve) et un gradient de durées d'épreuve. Les comparaisons ont été menées sans tenir compte du caractère quantitatif des différents niveaux d'une épreuve : on a ainsi renoncé à quantifier les résultats des tests en fonction de l'intensité de l'épreuve (techniques de régression), car ce gradient pouvait ne pas représenter une variation régulière d'épreuve réelle subie.

- *le premier niveau d'analyse* statistique vise à comparer les réponses d'un test particulier pour les différentes intensités d'une épreuve particulière. Les résultats bruts des mesures sont de 2 types : quantitatifs pour la force musculaire et la perte de sel, et qualitatifs (mortes/vivantes ou fixées/non fixées) pour les autres, ce qui conduit à des analyses différentes.

Les **résultats quantitatifs** ont été comparés par des analyses de variance, la comparaison globale étant faite par un test de Fisher. Par construction, les variations dans ce test sont calculées par rapport à la moyenne. Les analyses des différences deux à deux reposent sur le test de Newman et Keuls.

Les **résultats qualitatifs** s'expriment en effectifs ou pourcentages, une dimension supplémentaire venant enrichir l'information sur ces effectifs (nombre de mortes après différentes durées de choc thermique; nombre de fixées après différentes durées d'observation).

Les résultats du test-byssus ont été analysés par un test de Khi-2 d'indépendance entre l'intensité de l'épreuve et la répartition en classes de fréquence correspondant aux effectifs de nouveaux individus fixés à chaque intervalle de temps. La distribution théorique (ou attendue) choisie a été celle du témoin plutôt qu'une distribution moyenne. Des comparaisons deux à deux (qui minimisent le risque d'erreur) ont été faites par le même test.

Les résultats de mortalité au choc thermique ont été traités de deux manières complémentaires : une analyse de variance à 2 facteurs (durée de choc et intensité d'épreuve), sans répétition, sur données transformées par arcsinus (racine(proportion)), afin de stabiliser les variances ; puis un test de Khi-2 d'indépendance entre l'épreuve et la répartition en 2 classes (mortes/vivantes) représentant les fréquences cumulées pour l'ensemble des durées.

- *le deuxième niveau d'analyse*, qui constitue l'objectif principal de l'expérimentation, est la **comparaison des tests**, épreuve par épreuve (ou sensibilité des tests). Le résultat de cette comparaison dépend de l'importance relative de la variation entre les moyennes de lots (variation inter-lots) et de la variation résiduelle intra-lots. On a choisi de retenir comme critère les résultats comparés des tests globaux (risque alpha en particulier) et des tests deux à deux.

- *le troisième niveau d'analyse*, accessoire, peut consister à **comparer les types d'épreuves** test par test. Dans la mesure où les 3 épreuves ont été menées à des moments différents et sur des populations différentes (en taille notamment), seule une discussion sera conduite à ce niveau.

## **2.3 – RESULTATS DE L'EPREUVE D'EXONDATION**

### **2.3.1 – L'épreuve**

L'épreuve d'exondation constitue une méthode simple permettant d'affaiblir les moules. Elle nécessite peu de matériel et peu de temps de mise en œuvre ou d'observation. Cependant, l'application des tests a mis en évidence quelques inconvénients liés à cette méthode :

- elle entraîne une diminution du poids entier et du poids de chair frais des moules, et donc une variation de l'indice de condition utilisé pour comparer les animaux utilisés.
- au terme de l'épreuve, il a été constaté au cours des tests où les moules sont remises en eau, que certaines d'entre elles, bien que fermées, flottaient. Comme il était difficile de juger si ces moules étaient mortes ou très affaiblies, elles ont été utilisées dans l'expérimentation. En effet, retirer les moules peut-être les plus affaiblies risquait d'introduire un biais. En revanche, en les conservant, un autre biais a été introduit : pour chaque lot, toutes les moules ont été réimmergées de façon à ce que les moules qui flottaient aient le temps de couler. Ce temps de réimmersion peut donc être assimilé à un temps de récupération pour les autres moules.

### **2.3.2 – La force d'adduction intervalvaire**

La comparaison des résultats obtenus avec les deux méthodes (avec et sans retrempage) par une analyse de variance (tableau 7) montre qu'il n'y a pas de différence significative entre elles. Quelle que soit la méthode, la force d'adduction intervalvaire des moules diminue pour des durées croissantes d'exondation (tableau 6 et figure 7). L'analyse de variance révèle une différence hautement significative entre les forces musculaires de moules ayant subi des durées d'exondation croissantes ( $\alpha < 1\%$ ). Les tests de comparaisons deux à deux (Newmann et Keuls) montrent une différence significative ( $\alpha < 5\%$ ) entre les lots Ex0 et Ex3, et hautement significative ( $\alpha < 1\%$ ) entre Ex3 et Ex5. Cependant les 3 lots n'étaient pas de taille tout à fait comparable (longueurs de 36,6 mm pour Ex0, 34,0 pour Ex3 et 33,7 pour Ex5), et après pondération de ce problème d'allométrie en divisant la force par la longueur de chaque moule (par exemple), le test n'est plus significatif entre Ex0 et Ex3 ; il reste par contre hautement significatif entre Ex3 et Ex5. La mesure de la force musculaire permet donc de bien différencier les 3 lots.

### **2.3.3 – La perte de sel intervalvaire en eau douce**

Les résultats de perte de sel issue des lots Ex0, Ex3 et Ex5, durant les 3 premières heures, sont exprimés en mg de sel perdu par g de poids entier frais (tableau 8 et figure 8) : ils montrent que la perte de sel augmente avec la durée de l'exondation. Les courbes apparaissent sensiblement différentes les unes des autres, ce qui peut s'interpréter par la capacité du test à discriminer les 3 lots (ce qui est le résultat attendu). Toutefois, certaines réserves peuvent être émises, relatives à deux insuffisances :

- l'absence de répétition : chaque essai portant sur un lot et non sur des moules individuellement ou sur des sous-lots, on ne dispose pas de variation intra-traitement. Cependant, les mesures lors des épreuves suivantes montrent des écarts internes compris entre 0,5 et 1 mg de sel cumulé au bout de quelques heures, alors qu'on obtient ici des écarts entre traitements de l'ordre de 5 mg. Les différences observées peuvent donc être considérées comme significatives.

- un défaut de randomisation : une différence involontaire dans le poids moyen initial des moules est observée (les moules du témoin en particulier se révélant plus grosses). Il a été vu précédemment que les moules les plus grosses résisteraient le moins à la chaleur, le défaut de randomisation cité ne peut alors être responsable des différences observées entre lots.

Par ailleurs, l'augmentation plus rapide de salinité durant les premières minutes peut s'expliquer par le lessivage de la coquille (malgré le rinçage opéré).

### **2.3.4 – La survie au choc thermique de 35°C :**

Les courbes représentant le pourcentage de moules vivantes 24 heures après le choc thermique en fonction de la durée du choc thermique ont été réalisées pour les lots Ex0 et Ex3 seulement (tableau 9 et figure 9). Le manque de moules vivantes après 5 jours n'a pas permis de réaliser le test à 5 jours d'exondation.

Pour le lot initial comme pour le lot stressé, les moules subissent une mortalité d'autant plus élevée qu'elles ont été exposées à un choc thermique long. Le choc thermique constitue donc bien un stress pour les animaux. En revanche, contrairement au résultat attendu, le lot exondé 3 jours (Ex3) affiche une meilleure survie que le témoin, pour l'ensemble des durées de choc thermique.

La réponse des moules au test de survie au choc thermique à 35°C se révèle aberrante, puisque les individus du lot Ex3 semblent capables de mieux résister au choc thermique, alors qu'ils sont à priori affaiblis par rapport à ceux du lot initial.

Il se peut cependant que le lot ayant subi 3 jours d'exondation se soit adapté à ce stress. Il est aussi possible que la taille des individus ait influencé les résultats, les moules du lot initial étant de taille supérieure à celles du lot Ex3, et donc éventuellement moins résistantes aux variations de température. Ces résultats pourraient encore être expliqués par des effectifs trop faibles. L'expérience a été renouvelée ultérieurement dans les mêmes conditions sur 4 lots ayant subi une exondation de 0, 1, 2 ou 3 jours, et les résultats obtenus ne permettaient pas de différencier les lots. Il s'agirait donc plutôt d'un manque de sensibilité du test.

La combinaison température/durée retenue aboutit à la gamme de réponse attendue (0 à 100 % de mortalité). Par contre, ce test n'a pas permis de mettre en évidence une baisse de vitalité du lot ayant subi 3 jours d'exondation par rapport au témoin.

### **2.3.5 – Le temps de refixation par le byssus**

Les résultats de refixation en fonction du temps ont permis de mettre en évidence que la capacité de refixation des moules est d'autant plus faible que les animaux sont éprouvés (tableau 10 et figure 10).

En début d'expérience, c'est à dire avant 1 h 30, les trois courbes obtenues diffèrent très nettement. Le pourcentage de refixation est le plus important pour le lot témoin, puis pour le lot Ex3. Pour le lot Ex5, le pourcentage de refixation est nul pendant cette période. Dans la suite de l'expérience, les courbes du lot témoin et du lot Ex3 se rejoignent. Pour le lot Ex5, la refixation reste nulle jusqu'à 2 heures, puis quelques individus se refixent, mais les résultats restent bien inférieurs à ceux obtenus pour le lot témoin et pour le lot Ex3.

Les 3 séries de résultats ont été testées par un test du Khi-2. Il a été nécessaire d'effectuer des regroupements pour réaliser ce test, en raison du faible nombre d'animaux à se refixer pendant certaines périodes de l'observation. Les animaux ont été répartis en trois classes : ceux refixés la première demi-heure, ceux refixés entre 30 minutes et 2 heures, et ceux non encore refixés à 2 heures. La différence entre les temps de refixation des lots est hautement significative ( $\alpha < 10^{-6}$ ). De plus, les lots sont différenciés deux à deux de manière très significative.

La capacité de refixation des moules semble alors effectivement influencée par leur état de vitalité. De plus, une durée de mesure de 2 heures apparaît suffisante pour différencier les lots. La mesure à 24 heures permet de préciser qu'après une exondation de 3 jours, les moules

semblent capables de récupérer (les courbes de Ex0 et Ex3 se rejoignent), tandis qu'une épreuve de 5 jours a un effet plus prononcé puisque seulement 25 % des moules sont refixés à 24 heures.



## **2.4 – RESULTATS DE L'EPREUVE D'IMMERSION EN EAU DOUCE**

### **2.4.1 - L'épreuve**

L'épreuve d'immersion en eau douce, tout comme l'exondation, est une épreuve simple à appliquer. Toutefois, pour les mesures de perte de sel, il semble que l'épreuve ait entraîné une différence de salinité intervalvaire initiale entre les différents lots, ce qui rend les résultats de ce test difficiles à interpréter.

### **2.4.2 – La force d'adduction intervalvaire**

La force de Im1 (13,9 N) est comparable à celle du témoin Im0 (13,6 N). La force diminue ensuite les lots Im1, Im2 et Im3 (12,2) (tableau 11 et figure 11), mais l'analyse de variance réalisée ne révèle pas de différence significative entre les lots.

Le test de la force musculaire ne permet donc pas dans le cas présent de bien différencier les lots.

### **2.4.3 – La perte de sel intervalvaire en eau douce**

Les résultats de perte de sel issue des lots Im0, Im1, Im2 et Im3, durant les 3 premières heures, sont exprimés en mg de sel perdu par g de poids entier frais (tableau 12 et figure 12). Les courbes du témoin et du lot Im3 manifestent une augmentation initiale de salinité plus forte (durant quelques minutes) car les moules de ces essais étaient préalablement dans l'eau de mer. Cette perte initiale, non intervalvaire, a été positionnée en valeurs négatives. Les courbes sont relativement similaires entre les réplicats. L'immersion préalable en eau douce se traduit par une perte de sel plus forte, comparativement au témoin, ce qui est le résultat attendu. Par contre, les moules ont perdu de moins en moins de sel entre les traitements 1 jour, 2 jours ou 3 jours d'eau douce, contrairement à l'hypothèse d'affaiblissement progressif. L'analyse de variance limitée aux séries témoin et 1 jour d'immersion aboutit à une différence significative ( $\alpha < 5 \%$ ).

L'inversion des résultats attendus entre 1, 2 et 3 jours d'immersion en eau douce pourrait être due à une différence de salinité intervalvaire initiale. En effet, la perte de sel ne peut être comparable entre lots que s'ils ont la même salinité intervalvaire initiale. Or, cette salinité s'est probablement abaissée durant l'immersion préalable en eau douce. L'asymptote (perte de sel finale) est de plus en plus faible entre 1, 2 et 3 jours, ce qui tend à confirmer cette

différence de salinité interne initiale. La tentative d'éliminer cet artefact dans les séries 3 jours (en réimmergeant les moules 20 mn dans l'eau de mer) n'a pas suffi.

#### **2.4.4 – La survie au choc thermique de 35°C**

A l'exception de deux points, il est observé pour les 4 lots une baisse du pourcentage de moules vivantes lorsque la durée du choc thermique augmente (tableau 13 et figure 13). Les moules sont en effet mortes ou très affaiblies à l'issue du choc thermique, et vont donc s'ouvrir. Il apparaît surtout que pour des durées d'immersion en eau douce croissantes, le pourcentage de moules vivantes diminue. La capacité des moules à résister au choc thermique est donc bien inverse à la durée de l'épreuve subie.

Le test Khi-2 global indique une différence hautement significative entre les lots, de même que l'analyse de variance. Le test Khi-2 réalisé sur les données deux à deux ne donne une différence significative qu'entre Im1 et Im2.

Le test de survie au choc thermique indique donc une différence globale entre les lots, mais ne permet pas de les discriminer de façon beaucoup plus précise, sans doute en raison des faibles effectifs utilisés (10 moules pour chaque mesure).

#### **2.4.5 – Le temps de refixation par le byssus**

Les courbes de refixation obtenues pour les différents lots indiquent que les animaux sont moins nombreux à se refixer après avoir subi un choc thermique (tableau 14 et figure 14).

Le témoin montre le pourcentage de moules refixées le plus élevé, et se distingue très nettement des lots stressés. Les lots Im1 et Im2 apparaissent peu différents, tandis que Im3 se différencie avec un pourcentage de refixation plus faible.

Les données obtenues pour les 4 lots ont été testées par un test Khi deux, sur les répartitions de demi-heure en demi-heure entre 0 et 2 heures. Avec un Khi-2 de 21,54, la différence entre les traitements est significative ( $\alpha < 5\%$ ). Le test de Khi-2, appliqué aux séries de résultats deux à deux, ne révèle une différence significative qu'entre les deux lots extrêmes Im0 et Im3 ( $\alpha < 5\%$ ).

## **2.5 – RESULTATS DE L'EPREUVE DE CHOC THERMIQUE A 30°C**

### **2.5.1 – L'épreuve**

Le choc thermique a été simple à réaliser. Il est à noter que pour cette épreuve, les animaux des différents lots sont plus homogènes que dans les épreuves précédentes, en raison du choix initial qui a été fait de ne garder que les moules de taille comprise entre 40 et 55 mm.

### **2.5.2 – La force d'adduction intervalvaire**

Les résultats font apparaître une diminution de la force d'adduction intervalvaire entre les lots ayant subi 6, 13 et 18 heures de choc thermique (tableau 15 et figure 15) mais l'analyse de variance réalisée sur ces résultats amène à la conclusion qu'il n'y a pas de différence significative entre les lots ( $\alpha = 8 \%$ ).

### **2.5.3 – La perte de sel intervalvaire en eau douce**

La quantité de sel perdu augmente avec la durée de l'épreuve (tableau 16 et figure 16). Les mesures ont été réalisées ici pendant 18 heures, mais l'analyse de variance porte sur l'enregistrement de 1 heure à 3 heures, pour permettre la comparaison avec les autres épreuves. Cette analyse statistique révèle une différence significative globale entre les traitements ( $\alpha < 1 \%$ ). Sur cette période de 1 heure à 3 heures, tous les lots peuvent être discriminés, à l'exception des 2 premières modalités de l'épreuve (témoin et Th6), qui ne sont différenciées qu'en considérant l'enregistrement jusqu'à 8 heures.

Les courbes illustrant la perte de sel, réalisées pour cette épreuve sur une durée plus longue, présentent une allure caractéristique et interprétable, de type sigmoïde, que l'on peut schématiser en 3 phases :

- une phase relativement linéaire, d'au minimum 3 heures, dont on peut penser qu'elle reflète essentiellement la perte de sel de moules vivantes,
- une phase d'accélération, qui doit correspondre à la période de mortalité principale : elle est d'autant plus précoce que l'épreuve est forte,

- une phase de plateau, qui correspond à la diminution du gradient de salinité entre l'intérieur des moules et l'extérieur (gradient qui détermine la migration des molécules de sel).

#### **2.5.4 – La survie au choc thermique de 35 °C**

Le pourcentage de survie diminue lorsque la durée du choc thermique augmente, pour les 4 lots. Plus globalement, les lots les plus éprouvés montrent un pourcentage de survie plus faible (tableau 17 et figure 17). Les lots témoin et Th6 sont peu différenciés, en comparaison des lots Th13 et Th18, pour lesquels le pourcentage de survie diminue de façon plus conséquente. Le test Khi-2 global sur les sommes ainsi que l'analyse de variance concluent à une différence très significative entre les traitements ( $\alpha < 1\%$ ). Les tests Khi-2 réalisés sur les lots deux à deux permettent de différencier les lots Th6 et Th13, ainsi que Th13 et Th18.

#### **2.5.5 – Le temps de refixation par le byssus**

Les courbes des 4 lots apparaissent là encore différentes, avec un pourcentage de refixation d'autant plus faible que les moules ont subi un choc thermique long (tableau 18 et figure 18). Le témoin affiche un pourcentage de refixation nettement supérieur à celui des autres lots éprouvés. Les lots Th6 et Th13 se distinguent moins nettement, tandis que pour le lot Th18, la refixation reste nulle pendant toute la durée de l'observation.

Le test de Khi 2 global est hautement significatif ( $\alpha < 1\%$ ). Les comparaisons deux à deux donnent aussi des différences significatives entre les lots, sauf pour Th6 et Th13.

## 2.6 – DISCUSSION : COMPARAISON DES DIFFERENTS TESTS SUR LES 3 EPREUVES

Il s'agit à ce stade de mieux définir les compétences globales de chaque test, et de juger lesquels peuvent être les plus pertinents et les plus performants comme indicateurs de l'état de vitalité des moules, en prenant en compte l'ensemble des critères précédemment décrits (fiabilité, sensibilité, simplicité et corrections d'allométrie).

### 2.6.1 – Fiabilité

La fiabilité des tests n'a pas été étudiée de manière "quantitative" dans cette étude, mais les résultats des trois épreuves fournissent certains éléments. Pour chaque test, par exemple, il est a priori établi l'évolution de la réponse des animaux. En effet, les moules affaiblies sont sensément moins vigoureuses et devraient donc présenter une force d'adduction intervalvaire plus faible, une résistance moindre à la perte de sel ou au choc thermique, et une refixation moins efficace.

Pour la **force d'adduction** et la **refixation par le byssus**, l'évolution de la réponse des animaux est bien celle attendue, ce pour toutes les épreuves.

Pour la **perte de sel**, les résultats de l'immersion en eau douce sont en partie inverses de ceux attendus, mais de nombreux éléments tendent à prouver qu'il s'agit d'un artefact de salinité initiale des lots testés. La cohérence de ce test ne serait donc pas à remettre en cause, sous réserve de veiller à la salinité initiale des lots d'animaux étudiés.

Pour la **survie au choc thermique**, il y a une contradiction apparente entre un défaut de sensibilité dans l'épreuve d'exondation, et une très bonne sensibilité pour l'épreuve qui semble la moins stressante (choc thermique) au vu des autres tests et des mortalités. Ce manque de fiabilité peut correspondre à une certaine spécificité de ce test pour un type d'épreuve.

Par ailleurs, pour certains tests, la mesure s'avère parfois subjective. C'est notamment le cas des tests comportementaux.

En effet, pour le test de refixation par le byssus, la position des moules étant quelquefois intermédiaire, c'est à l'expérimentateur de trancher. Il en est de même pour la survie au choc thermique, où il n'est pas toujours aisé de déterminer si une moule ouverte est morte ou vivante. Toutefois, ce défaut dû à la subjectivité de la mesure est inclus dans les résultats.

Malgré ces quelques remarques, **les tests se sont avérés fiables dans l'ensemble**, dans une moindre mesure pour la survie au choc thermique.

### 2.6.2 – Sensibilité

La sensibilité de chacun des tests est résumée dans le tableau 19, qui prend en compte l'analyse statistique globale du test, et les différences entre les lots deux à deux.

La sensibilité de chacun des tests s'est avérée variable entre les 3 épreuves. Dans l'ensemble, les tests ont été plus discriminants dans l'épreuve d'exondation que dans l'épreuve de choc thermique. La première constituerait donc un stress plus fort pour les moules. C'est aussi ce que les résultats de mortalité des différentes épreuves ont mis en évidence (20 % de mortes pour l'épreuve maximale d'exondation, contre 6 % pour de choc thermique). L'épreuve d'immersion, quant à elle, aurait un niveau de stress assez proche de celui de l'exondation.

Le test de **la force d'adduction intervalvaire** a mis en évidence la diminution de la force dans les différentes épreuves, mais n'est significatif que pour l'épreuve la plus stressante (exondation). Ce test montre une **sensibilité faible**.

Le **test de perte de sel** a présenté un artefact dû à la salinité dans la deuxième épreuve. Cependant, sa sensibilité est excellente dans les autres épreuves. Les lots sont différenciés deux à deux, à l'exception de Th0 et Th6 dans l'épreuve de choc thermique, qui n'ont pu être différenciés au bout de 3 heures d'enregistrement. Mais ces lots étaient vraisemblablement de vitalité très proche (0 % de mortalité après l'épreuve pour Th6 comme pour le témoin). Le test de perte de sel manifeste une **bonne sensibilité**.

Le **test de survie au choc thermique** s'est avéré discriminant essentiellement dans la troisième épreuve (pourtant la moins stressante), mais il faut noter que les effectifs avaient été triplés pour ces mesures. Ce test présente une **sensibilité moyenne**.

Le **test de refixation par le byssus** a montré des différences dans chaque épreuve, et plus particulièrement dans l'exondation (différences hautement significatives entre chacun des 3 lots). Pour l'immersion en eau douce, seuls les lots extrêmes sont différenciés, tandis que pour le choc thermique, la majorité des lots sont discriminés. Ce test a donc une **bonne sensibilité**.

Toutefois, il faut noter que les comparaisons des risques d'erreurs entre les tests, réalisés les uns sur des données quantitatives et en référence à la moyenne des lots (anova), et les autres

sur des données qualitatives et en référence au témoin (test Khi-2) ne peuvent être strictement réalisés.

### 2.6.3 – Simplicité

La simplicité de chacun des tests est résumée dans le tableau 20, où sont considérés pour chaque test la simplicité de l'appareillage, de la mise en œuvre, le temps agent ainsi que la simplicité du traitement des résultats et le délai de réponse.

Pour **la force d'adduction intervalvaire**, la mesure s'effectue directement sans nécessité de préparation préalable dans le cas des moules, à l'inverse d'autres bivalves (perçage des huîtres, meulage des coques). La mesure pour 30 moules s'effectue en une heure, et la lecture est immédiate. De plus, le dynamomètre est un appareil simple d'utilisation, facilement transportable, et pourrait être utilisé sur le terrain.

Pour **la perte de sel**, l'expérimentation est simple, mais les résultats des mesures nécessitent d'être transformés pour être exploités (courbe de salinité à transformer en quantité de sel perdu par g de poids frais). Il est aussi nécessaire d'étalonner les conductimètres. Par ailleurs, l'enregistrement pourrait être court et non légal (3 heures par exemple), mais on améliore la caractérisation du lot à tester en recensant non seulement la pente initiale de perte de sel (avant mortalité), mais aussi la courbe en accélération après le début des mortalités (courbe intégratrice du nombre de mortes et du moment de mortalité) : durée de 18 heures par exemple, selon la température et l'état du lot. La simplicité de ce test est donc moyenne. Ce test présente toutefois la particularité d'être réalisé sur un pool d'animaux, contrairement aux autres tests, où la mesure est individuelle. Ainsi, en augmentant l'effectif, il est possible, à effort égal, d'améliorer la sensibilité du test.

Le test de **survie au choc thermique**, assez simple lui aussi sur le principe, nécessite toutefois un temps de réalisation assez long : le test est réalisé en 2 h 30, mais la lecture des résultats ne se fait qu'après 24 heures. Cette lecture est parfois délicate, en raison de la difficulté de juger si l'animal est effectivement mort ou très affaibli. D'autre part, des facteurs externes tels que la température de l'eau ou la température de l'air peuvent influencer la capacité de résistance des animaux au choc thermique. La gamme des durées de stress retenue pour cette étude ne sera donc pas toujours la plus adaptée, et nécessitera d'être réestimée. Le

besoin éventuel d'un pré-test permettant d'appréhender la gamme de survie des animaux peut être un handicap de ce type de test quant à sa simplicité et à son utilisation immédiate. Cependant, l'emploi d'une grille de tests (différentes durées) au lieu d'une seule épreuve comme c'est souvent cité dans la littérature, est une amélioration importante de ce test qui permet d'obtenir des réponses assez bien réparties entre mortes et vivantes.

Le test de **refixation par le byssus**, quant à lui, ne nécessite aucun appareil de mesure, et la lecture consiste uniquement à comptabiliser le nombre d'animaux refixés. La préparation des animaux, consistant à couper le byssus le long de la coquille, est extrêmement simple. C'est aussi un test rapide, puisque les mesures sur 2 heures permettent de différencier les lots.

#### **2.6.4 - Allométrie**

Les problèmes d'allométrie ne sont pas l'objet de cette étude, mais ils méritent tout de même d'être abordés, du fait que les 3 épreuves ont été réalisées avec des lots d'animaux de différentes grosseurs, et qu'il sera nécessaire d'exprimer la réponse des animaux en tenant compte de cette allométrie dans une application plus large des tests.

Pour la force d'adduction intervalvaire, il est possible par exemple de calculer un indice de force (rapport force/poids), pour comparer la force d'animaux de taille différente. Une étude des performances de croissance des moules en Baie de Vilaine, réalisée en parallèle de l'expérimentation des tests physiologiques, montre en effet une relation de proportionnalité entre la force et le poids des animaux ( $\text{Force} = 2.84 \text{ Poids} - 0,01$  ; avec  $r = 0,89$ ). Les résultats de perte de sel, réalisés sur un lot dont le poids total est connu, ont été exprimés en mg de sel perdu par g de poids entier frais. Il a en effet été démontré, lors de l'étude menée sur les huîtres, que la perte de sel est sensiblement proportionnelle au poids. Pour compléter la présente étude, il serait d'ailleurs intéressant de mieux comprendre l'influence de la taille des animaux (poids, longueur) sur la réponse des animaux dans chacun des tests, et plus particulièrement pour la survie au choc thermique et la refixation par le byssus, tests pour lesquels on ne sait pas réellement dans quel sens l'allométrie influence les résultats.

D'autres facteurs peuvent encore influencer la réponse des animaux, comme par exemple le cycle saisonnier, l'origine intertidale ou subtidale des animaux, leur stade de maturité sexuelle..., et pourraient être étudiés. Il demeure aussi des facteurs non quantifiables, tels que l'humeur des animaux, et aussi pour plusieurs tests une certaine subjectivité de la mesure.



## 2.6.5– Discussion générale

- *Des épreuves différentes*

Pour comparer les différents tests, nous avons choisi trois épreuves bien différentes. Pour chacune de ces épreuves, des pré-essais ont été réalisés en vue de définir les durées de stress à appliquer, en fonction de la résistance des animaux à l'épreuve. C'est l'observation des mortalités survenant au cours de l'épreuve qui a été utilisée comme référence a priori pour estimer l'état de fatigue des animaux. Les moules mortes ont été retirées des lots pour chaque épreuve. Cependant, étant donné la difficulté de reconnaître un animal vivant d'un mort, des animaux très affaiblis ont pu être retirés avec les morts. Les mesures sont alors réalisées sur les animaux les plus résistants, et les tests peuvent paraître moins sensibles.

En plus du fait que les trois épreuves diffèrent par le niveau de stress qu'elles occasionnent, elles se distinguent aussi par la nature du stress. Cela permet ainsi de préciser que les tests physiologiques étudiés ne sont pas spécifiques d'un type de stress, mais qu'ils peuvent différencier l'état de santé d'animaux ayant subi des stress d'origines diverses.

- *Des animaux différents*

A l'issue des différentes épreuves, les animaux ne présentaient pas le même niveau d'affaiblissement. Au vu des tests réalisés, comme au vu des mortalités observées pendant ces épreuves, il apparaît que les animaux sont plus éprouvés après 3 jours d'immersion en eau douce ou 5 jours d'exondation qu'après 18 heures de choc thermique à 30°C. Ces différences peuvent être liées à la nature de l'épreuve (aux durées appliquées, les 3 épreuves n'entraînent pas un stress de même importance), ou liées aux animaux eux-mêmes. En effet, les épreuves ayant été décalées dans le temps, les 3 lots initiaux de moules ne sont pas comparables. Les mesures de biométrie montrent bien l'évolution des animaux pendant la durée de l'étude (taille moyenne des lots allant de 34,8 mm pour l'exondation à 46,75 mm pour le choc thermique). Les résultats obtenus aux différents tests pour les lots témoins laissent aussi apparaître cette tendance : les animaux les plus gros montrent une force d'adduction intervalvaire plus élevée, et sont plus résistants aux tests de perte de sel et de survie au choc thermique. Cependant, la résistance accrue des moules au choc thermique au cours de la troisième épreuve peut aussi être due à ce que, prélevées au mois de juillet, elles ont pu s'acclimater à des variations de température plus importantes que les moules prélevées en avril et mai. Quant au test de refixation par le byssus, les animaux plus âgés affichent des taux de refixation plus faibles. La capacité de refixation, même si c'est un caractère permanent, est peut-être plus sollicitée chez

les juvéniles que chez des animaux plus âgés. Ces différences de résistance entre les témoins ne sont pas réellement problématiques, puisqu'il ne s'agit pas ici de comparer les épreuves, mais les tests physiologiques. Elles permettent au contraire de déterminer si les tests physiologiques peuvent mettre en évidence des réponses au stress plus faibles.

- ***Perspectives d'application des différents tests***

Chaque test est apparu bien différent, avec ses problèmes et son domaine d'application.

La **force d'adduction intervalvaire**, qui s'est révélée efficace pour évaluer la vitalité de juvéniles de coquilles Saint-Jacques notamment, paraît moins adaptée pour différencier les moules. Même si les résultats sont cohérents (force décroissante quand le stress augmente), comme sur les coques (Fleury *et al.* –1997b, Mary – 1998), l'intérêt de ce test de force musculaire est plus limité (car moins sensible) sur des bivalves dimyaires (moule, coque) que sur des monomyaires (coquille Saint-Jacques, huître). Pour ces bivalves monomyaires, le muscle joue en effet un rôle plus important, tant dans l'herméticité de la coquille face à l'environnement extérieur que comme organisme de réserve glucidique. La variabilité interne est apparue relativement importante (autour de 20 %). Cette variabilité peut être en partie due à la force de déchirement du muscle qui s'ajoute à la force active réelle d'adduction valvaire. La force utilisée ici se révèle une mesure peu sensible. L'utilisation de ce test implique donc son amélioration vers une mesure de la seule force d'adduction active du muscle, qui permettrait une mesure non létale et probablement plus sensible.

Le test de **perte de sel**, dont l'efficacité avait déjà été démontrée sur les huîtres, s'avère aussi performant sur les moules. Ce test présente donc l'avantage de ne pas être spécifique d'une espèce. Par contre, la combinaison température/durée appliquée doit être réadaptée en fonction de l'espèce. D'autre part, l'artefact observé dans l'épreuve d'immersion en eau douce montre qu'il sera nécessaire de contrôler la salinité initiale des lots testés.

La **survie au choc thermique** est la méthode la plus complexe des 4 tests étudiés. Elle implique aussi de réestimer la gamme des durées du test selon les animaux étudiés (taille, espèce...). Elle n'en est pas moins une méthode assez universelle et d'ailleurs couramment utilisée (Cotter *et al.*- 1982, Liu & Morton – 1994).

Enfin, le test de **refixation par le byssus** s'est avéré très efficace. Il serait encore amélioré en espaçant suffisamment les animaux dans le bac de mesure, car les moules ont tendance à se regrouper, et leur position peut alors être influencée par celle des animaux voisins. Ce test présente l'inconvénient de ne pas être utilisable pour tous les bivalves, en raison de la spécificité du caractère étudié. Son application mérite cependant d'être envisagée pour déterminer la vitalité des post-larves de bivalves (Fleury – 1996 b), ou encore du pétoncle noir, qui ont aussi la capacité de se fixer au moyen de filaments de byssus.

## CONCLUSION

Les tests physiologiques étudiés ont, en général, répondu à l'attente qui était de mettre en évidence la baisse de vitalité d'animaux affaiblis. En ce sens ils se sont révélés rustiques, pertinents et fiables. Leurs performances à différencier tous les lots ont été par contre inégales, avec une sensibilité excellente pour la perte de sel et la refixation par le byssus, moyenne pour la survie au choc thermique, et médiocre pour la force musculaire. De par leurs avantages et inconvénients respectifs, ces tests peuvent être placés à un niveau de simplicité comparable, simplicité d'ailleurs très grande. Sans les rendre plus complexes, des améliorations peuvent être envisagées pour chacun d'entre eux, qui pourront augmenter leur sensibilité.

Les tests physiologiques tels que ceux étudiés ici paraissent être des outils séduisants pour qualifier l'état de vitalité des moules, et éventuellement d'autres bivalves. Toutefois, l'influence de nombreux paramètres (allométrie, température, lumière, bruit...) sur la réponse aux différents tests reste à être étudiée pour mieux les maîtriser.

Il faudra encore veiller à minimiser les stress additionnels dus à l'expérimentation, et notamment les conditions de maintenance des animaux, et les multiples manipulations.

De plus, les tests ne s'étant pas avérés performants face aux mêmes épreuves, l'usage d'une batterie de quelques tests peut être plus fiable qu'un seul test.

Ces tests pourront permettre de progresser dans la connaissance des conditions de vie des animaux en élevage, et ainsi contribuer à l'amélioration des techniques de culture.

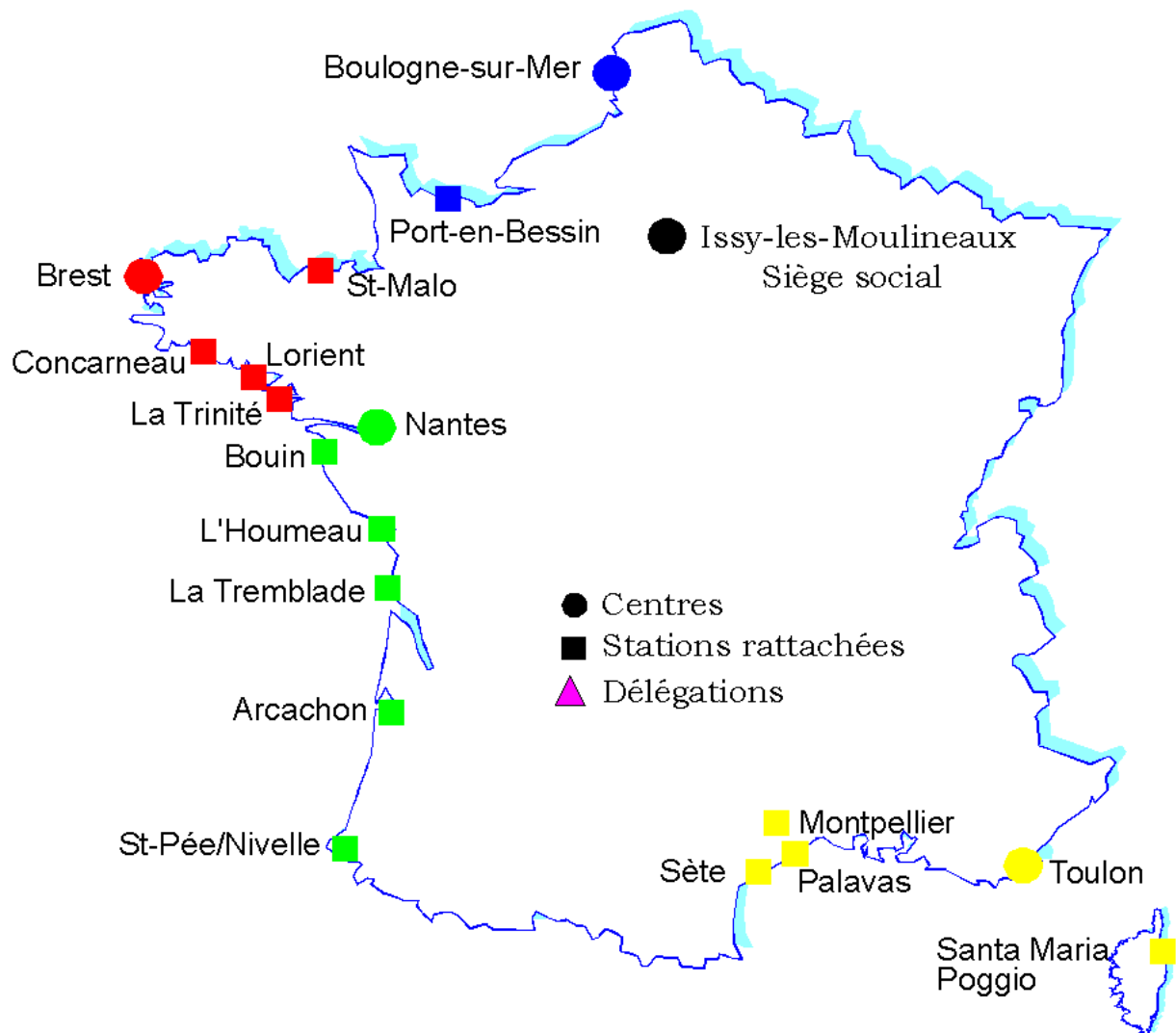
Ces tests présentent enfin un autre intérêt du à la capacité de filtration des bivalves. Si l'eau filtrée présente des polluants, ceux-ci seront accumulés dans l'organisme du coquillage, avec comme conséquence possible d'affecter sa vitalité. De ce fait, les moules peuvent être de très bons indicateurs de pollution. Ainsi, l'évaluation de l'état de vitalité des moules au moyen des tests physiologiques pourrait par exemple permettre l'identification de problèmes de pollution.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barnabé G., 1989. Aquaculture ; volume 1. *Lavoisier tec & Doc*. 565 p.
- Bayne B.L. & cool., 1976. Marine Mussels : their ecology and physiology. *Bayne ed.* 506p.
- Berger, V.J., Kharazova, A.D., 1979. Mechanisms of salinity adaptations in marine molluscs. *Hydrobiologia*. pp. 115-126.
- Brylinsky M., 1989. Biology of the blue mussel (*Mytilus edulis*) and Water Quality Monitoring Programme for Mussel Growers. *Nova Scotia dep. Of Fisheries*. 56 p.
- Chantler P.D., 1991. The structure and function of scallop adductor muscles. in *Scallops : biology, ecology and aquaculture*, *Shumway S.E ed.*, Elsevier. pp 225-247.
- Catois S., 1999. Optimisation d'une méthode standardisée de choc thermique sur des juvéniles de *Crassostrea gigas* : application à des populations d'écloseries. *Rapport de stage IFREMER /DESS Univ. Caen*. 59 p.
- Cotter A.J.R., Phillips, D.J.H., Ahsanullah, M., 1982. The signifiante of temperature, salinity and zinc as lethal factors for the mussel *Mytilus edulis* in a polluted estuary. *Mar. Biol.* **68-1** : pp; 135 – 141.
- Fleury P.G., Mingant C. and Castillo A., 1996a. A preliminary study of the behaviour and vitality of reseeded juvenile great scallops, of three sizes in three seasons. *Aquaculture International* 4, 325-337.
- Fleury P.G., Mingant C., Philippe R. & Budimawan, 1996b. Transfer of scallop (*Pecten maximus*) post-larvae from hatchery-nursery to off-shore cages : stress and re-settlement. *Oral presentation at International symposium on settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. Plymouth (U.K.) 15-18 July 1996*.
- Fleury P.G., Croguennec E., Pennec S. & Maguire J., 1997a. A muscle-strength-recorder ('muscle-meter') for quantifying juvenile scallop vitality. *11<sup>th</sup> International Pectinid Workshop. 10-15 April 1997, La Paz, Mexico. Book of abstracts*. pp.7-9.
- Fleury P.G., Allenou J.P. & Thébault A., 1997b. Examen des causes de mortalités massives de coques survenues à la mi-août 1997 dans le traict du Croisic (Loire-Atlantique). *Rapport d'expertise pour la commission des calamités agricoles de Loire-Atlantique*. 14 p.
- Linden O., Foberg M., Kineman J.J., Elmgren R. & Hansson S., 1980. The Tsesis oil spill. Report of the first year scientific study ; a cooperative international investigation. *NOAA /Outer Continental Shelf Environmental Assessment Program; Boulder*. pp. 210-212.
- Liu J.H., Morton B., 1994. The temperature tolerances of *Tetraclita squamosa* (Crustacea :Cirripedia) and *Septifer virgatus* (Bivalvia : Mytilidae) on a sub-tropical rocky shore in Hong Kong. *J.Zool.* **234-2** : pp. 325-339.
- Maguire, J.A., Fleury, P.G., & Burnell, G.M. 1999 Some methods for quantifying quality in the scallop *Pecten maximus* (L.). *J. of Shellfish Research* **18-1**: 59-66.
- Marteil L., 1976. La conchyliculture française (deuxième partie) : la biologie de l'huître et de la moule. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.* **40-1** pp. 125-320.

- Mary S., 1998. Le comportement de certains bivalves appliqué à des tests de vitalité. *Rapport de stage IFREMER /ESITPA*. 28 p.
- Mazurié J., O. Sarantchova, A. Barnaud et E. Esnault, 1998. Salt loss of oysters *Crassostrea gigas* experimentally immersed in freshwater : a test of physiological condition ? *Poster. Bordeaux Aquaculture, 6-10 octobre 1998*.
- North B., 1999. The development and application of the measurement of muscular strength as a vitality index for Bivalves. *Rapport de stage IFREMER*
- Price H.R., 1983. Structure and formation of the byssus complex in *Mytilus edulis* (Mollusca, Bivalvia). *J. Molluscan Study*, **49-1**, pp. 9-17.
- Sarantchova O. & Mazurié J., 1996. Salt loss and mortality of oysters, *Crassostrea gigas*, experimentally exposed to high temperature freshwater : preliminary attempt to define a simple health indicator. *Poster at 31st European Marine Biology Symposium. St-Pétersbourg, 1996*.
- Seed, 1976. Ecology (of marine mussels) : Chapter 2. In : Marine mussels : their ecology and physiology. *Bayne ed.* 506p
- Viarengo A. & Canesi L., 1991. Mussels as biological indicators of pollution. *Aquaculture*, 1994, pp. 225-243
-

Figure 1 – Implantation des centres et stations de l'IFREMER en métropole.



**Figure 2 – Anatomie interne de la moule.**



Figure 3 – Le dynamomètre.



Figure 4 – Dispositif expérimental des mesures de perte de sel.

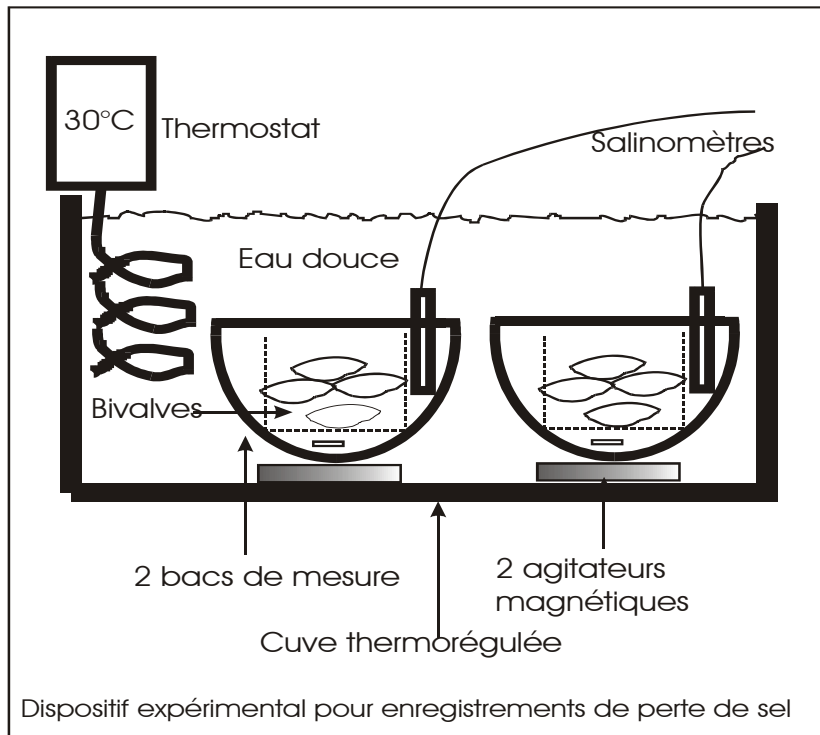
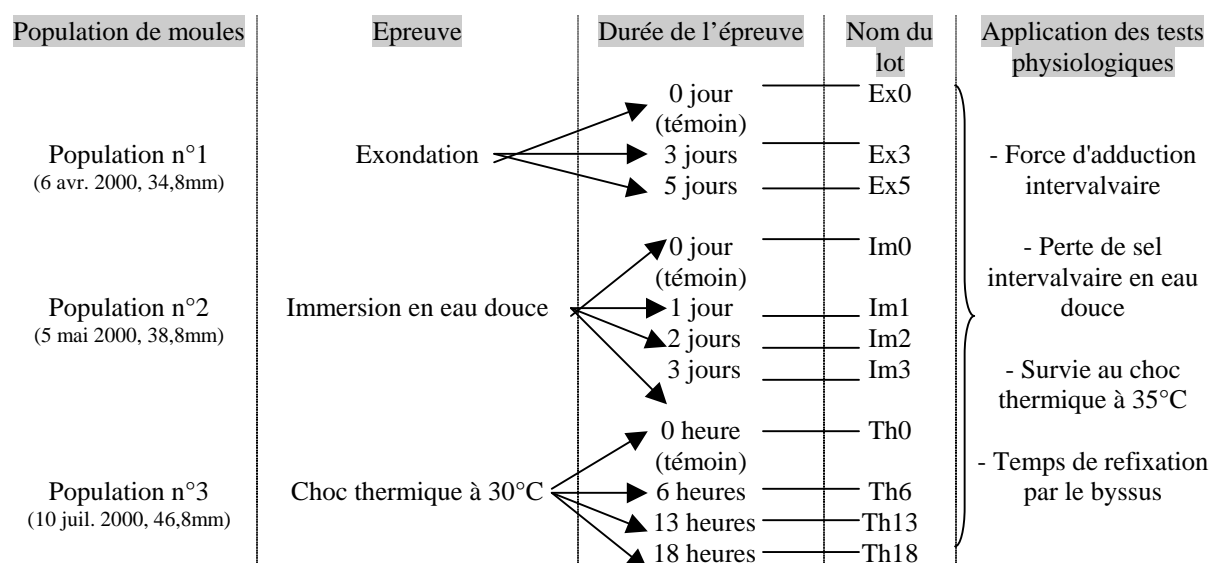


Figure 5 – Moules en situation d'exondation lors des mesures de choc thermique.



**Figure 6 – Protocole général des expériences réalisées.**



Remarque : les moules des 3 populations proviennent du même secteur d'élevage, mais elles ont été prélevées à des dates différentes.

**Tableau 1 – Données biométriques relatives aux animaux de chaque expérience.**

	Ex0	Ex3	Ex5	Im0	Im1	Im2	Im3	Th0	Th6	Th13	Th18
<b>Date d'arrivée des animaux au laboratoire</b>	6-avr			5-mai				10-juil			
<b>Pré-traitement</b>	Rinçage et dégrappage										
<b>Durée de stabulation en bac avant les expériences</b>	15 heures			4 jours				4 heures			
<b>Longueur (mm)</b>	36,6	34,0	33,7	38,9	39,6	39,0	37,6	46,9	46,8	46,5	46,8
<b>Poids entier (g)</b>	4,13	2,55	1,93	5,01	4,85	4,82	4,52	9,12	9,17	9,10	9,17
<b>Poids de coquille (g)</b>	1,49	1,13	1,18	1,71	1,76	1,69	1,56	3,53	nd	nd	nd
<b>Poids de chair frais (g)</b>	1,14	0,80	0,61	1,23	1,43	1,50	1,28	3,00	2,76	2,83	2,88
<b>Poids de chair sec (g)</b>	0,25	0,22	0,19	0,29	0,31	0,30	0,26	0,92	nd	nd	nd
<b>Indice de condition (%)</b>	28,2	31,6	30,4	24,7	30,0	31,3	28,4	33,0	30,1	30,8	31,8
<b>Pourcentage de matière sèche (%)</b>	21,9	28,5	33,8	24,2	21,9	20,3	20,3	30,8	nd	nd	nd

**Tableau 2 – Résultats de la mortalité observée au cours des 3 épreuves.**

	<b>MORTALITE (%)</b>			
<b>EXONDATION</b>	Ex0 <b>0</b>	Ex3 <b>4,8</b>	Ex5 <b>18,3</b>	
<b>IMMERSION EN EAU DOUCE</b>	Im0 <b>0</b>	Im1 <b>6</b>	Im2 <b>16,43</b>	Im3 <b>30,88</b>
<b>CHOC THERMIQUE A 35°C</b>	Th0 <b>0</b>	Th6 <b>0</b>	Th13 <b>0,43</b>	Th18 <b>6,13</b>

**Tableau 3 – Conditions expérimentales des mesures de perte de sel.**

<b>Lot</b>	<b>Effectif</b>	<b>Poids moyen (g)</b> (après réimmersion)		<b>Volume du bac d'essai (l)</b>
<b>Ex0</b>	100	4,93		3,5
<b>Ex3</b>	100	3,97		3,5
<b>Ex5</b>	84	3,67		3,5
		Série 1	Série 2	
<b>Im0</b>	2*50	4,78	4,98	3,5
<b>Im1</b>	2*50	4,98	5,00	3,5
<b>Im2</b>	2*50	5,35	4,98	1,2
<b>Im3</b>	2*46	4,60	4,57	1,2
<b>Th0</b>	2*50	9,38	9,41	2,4
<b>Th6</b>	2*50	10,01	9,94	2,4
<b>Th13</b>	2*50	9,80	9,86	2,4
<b>Th18</b>	2*50	9,34	9,30	2,4

**Tableau 4 – Conditions expérimentales des mesures de survie au choc thermique.**

<b>Lot</b>	<b>Effectif</b>	<b>Poids moyen (g) après réimmersion</b>	<b>Température ambiante (°C)</b>
<b>Ex0</b>	6 x 10	7,69	15,4
<b>Ex3</b>	6 x 10	5,50	15,4
<b>Im0</b>	6 x 10	5,02	21,5
<b>Im1</b>	6 x 10	5,14	21,5
<b>Im2</b>	6 x 10	5,35	20,9
<b>Im3</b>	6 x 10	4,94	20,3
<b>Th0</b>	6 x 30	9,43	19,8
<b>Th6</b>	6 x 30	9,39	19,2
<b>Th13</b>	6 x 30	9,69	19,6
<b>Th18</b>	6 x 30	9,51	19,0

**Tableau 5 - Conditions expérimentales des mesures de refixation par le byssus.**

	<b>Exondation</b>	<b>Immersion en eau douce à 15°C</b>	<b>Choc thermique à 30°C en eau salée</b>
<b>Effectif</b>	30	50	100
<b>Température de l'eau</b>	12°C	15°C	17°C
<b>Durée des mesures</b>	24 heures	2 heures	2 heures
<b>Fréquence des mesures</b>	toutes les 30 mn pendant 2 heures, puis 1 mesure après 24 heures	toutes les 30 mn pendant 2 heures	toutes les 30 mn pendant 2 heures

Tableau 6 – Résultats de force d'adduction intervalvaire des lots Ex0, Ex3 et Ex5.

	Ex0	Ex3	Ex5
<i>Sans retrempage</i>			
FORCE (moyenne)	11,51	10,44	8,95
1/2 int. conf. 95 %	0,76	0,70	0,85
<i>Avec retrempage</i>			
FORCE (moyenne)	11,51	10,73	8,69
1/2 int. conf. 95 %	0,76	0,91	1,22
<b>MOYENNE</b>	<b>11,51</b>	<b>10,59</b>	<b>8,82</b>

Figure 7 – Force d'adduction intervalvaire des lots Ex0, Ex3 et Ex5.

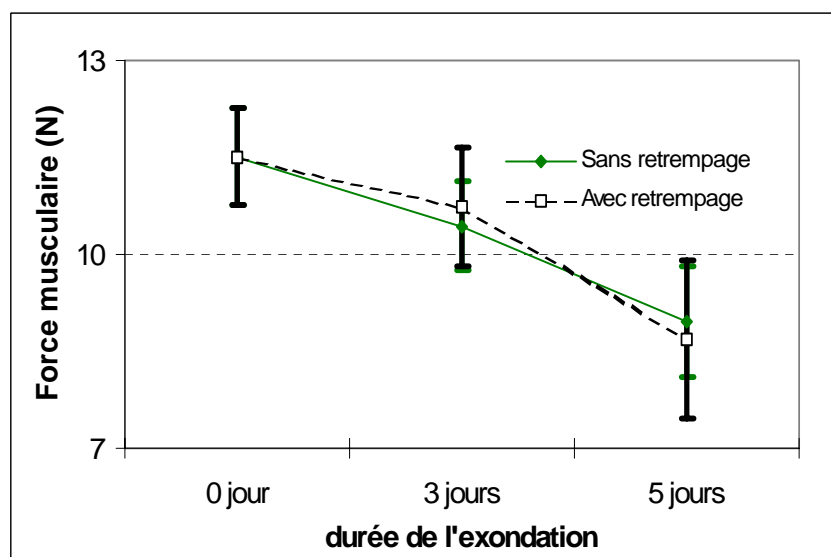


Tableau 7 – Analyse de variance à deux facteurs du test de force d'adduction intervalvaire sur les lots Ex0, Ex3 et Ex5.

Facteurs	S(x2)	Ddl	Moy(x2)	F	F 5%	F 1%o	Risque
Méthode	0,003	1	0,003	<b>0,001</b>	3,90	11,23	98,2%
Durée	<b>210</b>	<b>2</b>	<b>105</b>	<b>18,56</b>	<b>3,05</b>	<b>7,21</b>	<b>0,00%</b>
Interaction	2,1	2	1,0	<b>0,18</b>	3,05	7,21	83,2%
Résidu	918	162	5,67				
Total	1130	167					

Tableau 8 – Résultats de perte de sel des lots Ex0, Ex3 et Ex5.

	Ex0 (témoin)	Ex3	Ex5
Perte de sel entre 1 h et 3 h (mg de sel par g de moule)	0.74	2.04	2.69
Mortalité des moules au bout de 3 heures	Non observée	importante	Non observée

Figure 8 – Perte de sel issue des lots Ex0, Ex3 et Ex5.

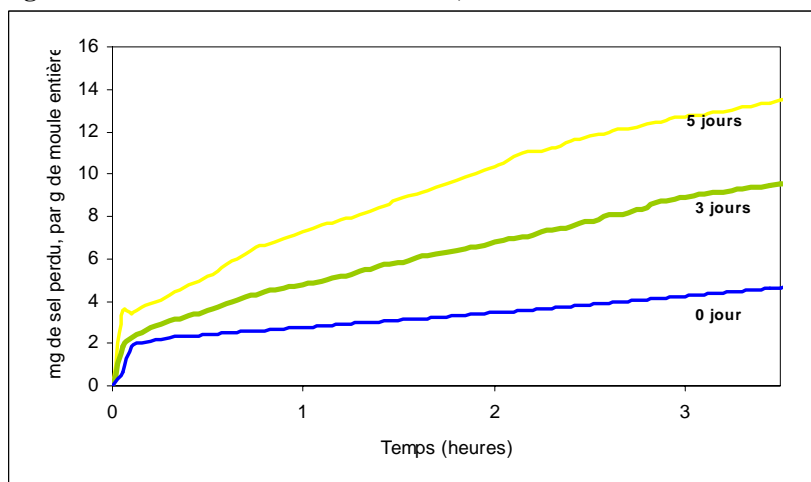
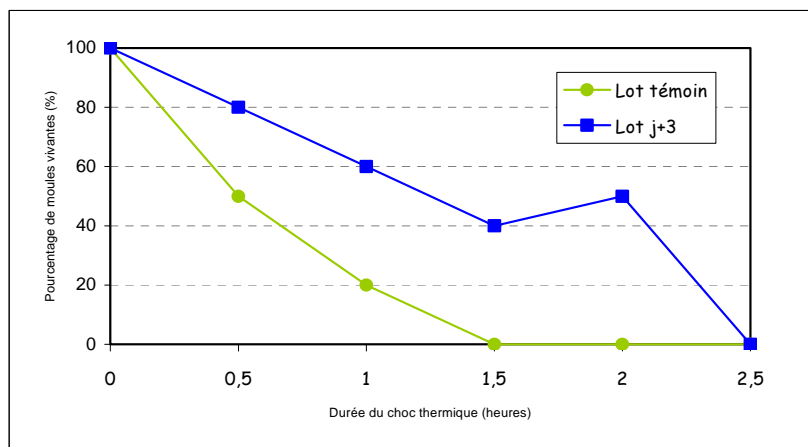


Tableau 9 – Résultats de survie au choc thermique des lots Ex0 et Ex3.

		Durée du choc thermique à 35°C (heures)					
		0	0,5	1	1,5	2	2,5
Pourcentage de moules vivantes après 24 heures	Ex0	100	50	20	0	0	0
	Ex3	100	80	60	40	30	0

Figure 9 – Survie au choc thermique des lots Ex0 et Ex3.

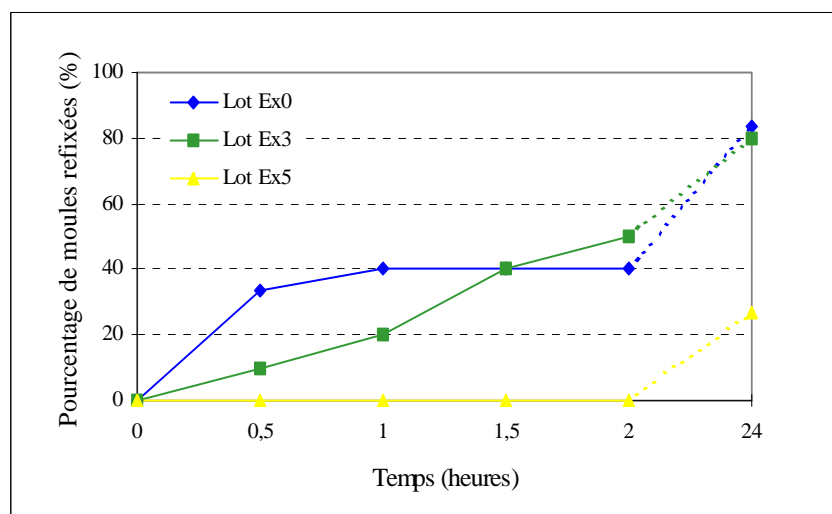




**Tableau 10 – Résultats de refixation par le byssus des lots Ex0, Ex3 et Ex5.**

	Nombre de moules refixées en fonction du temps (en effectifs non cumulés)					
	Temps (heure)					
	0 h	0 h 30	1 h	1 h 30	2 h	24 h
<b>Ex0</b>	09	10	2	0	0	13
<b>Ex3</b>	0	3	3	6	3	9
<b>Ex5</b>	0	0	0	0	0	8

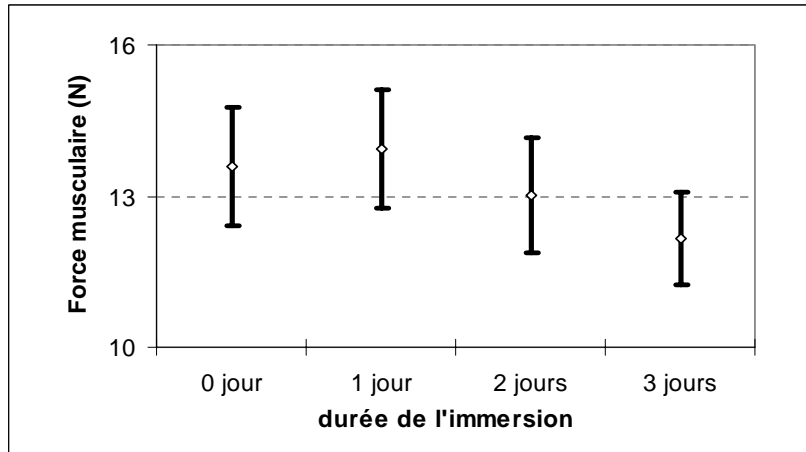
**Figure 10 - Pourcentages cumulés de moules refixées en fonction du temps pour les lots Ex0, Ex3 et Ex5.**



**Tableau 11 – Résultats de force d'adduction intervalvaire des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.**

	<b>Im0</b>	<b>Im1</b>	<b>Im2</b>	<b>Im3</b>
<b>FORCE</b>	<b>13,59</b>	<b>13,93</b>	<b>13,01</b>	<b>12,16</b>
effectif	30	30	30	30
<b>variance</b>	10,771	10,917	10,071	6,480
1/2 int. conf. 95 %	1,174	1,182	1,136	0,911

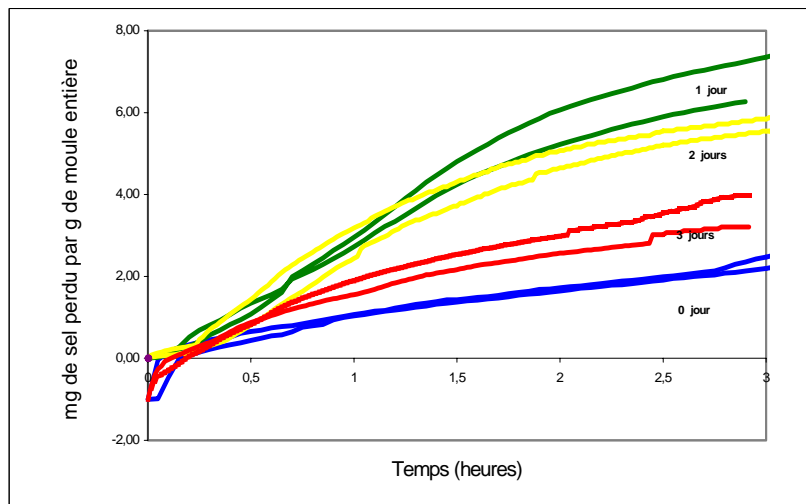
**Figure 11 – Force d'adduction intervalvaire des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.**



**Tableau 12 – Résultats de perte de sel des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.**

	<b>Im0 (témoin)</b>	<b>Im1</b>	<b>Im2</b>	<b>Im3</b>
<b>SERIE 1</b>				
Perte de sel entre 1h et 3h (mg/g/h)	<b>0.74</b>	<b>1.81</b>	<b>1.55</b>	<b>1.13</b>
Mortalité au terme du test	2/50, au bout de 4 h	26/50, au bout de 3 h	43/50 au bout de 3.5 h	34/50 au bout de 3 h
<b>SERIE 2 (réplicat)</b>				
Perte de sel entre 1 h et 3h (mg /g)	<b>0.6</b>	<b>2.2</b>	<b>1.33</b>	<b>1.52</b>
Mortalité au terme du test	30/50, au bout de 10 h	46/50 au bout de 4 h	45/50 au bout de 3.5 h	33/50 au bout de 3 h

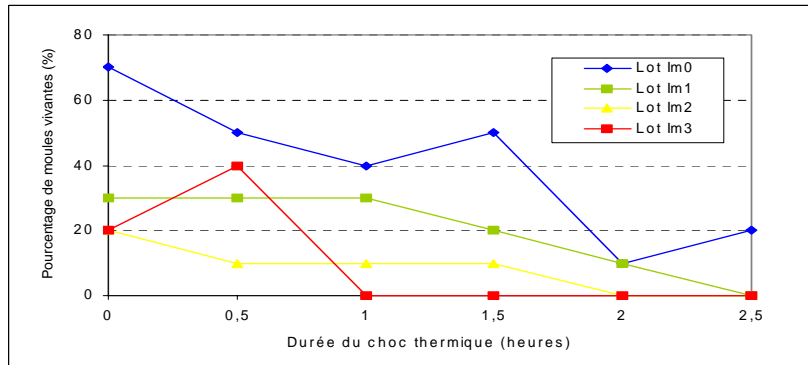
**Figure 12 – Perte de sel issue des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.**



**Tableau 13 – Résultats de survie au choc thermique des lots Im0, Im1, Im2 et Im3 .**

		Durée du choc thermique à 35°C (heures)					
		0	0,5	1	1,5	2	2,5
Pourcentage de moules vivantes après 24 heures	Im0	70	50	40	50	10	20
	Im1	30	30	30	20	10	0
	Im2	20	10	10	10	0	0
	Im3	20	40	0	0	0	0

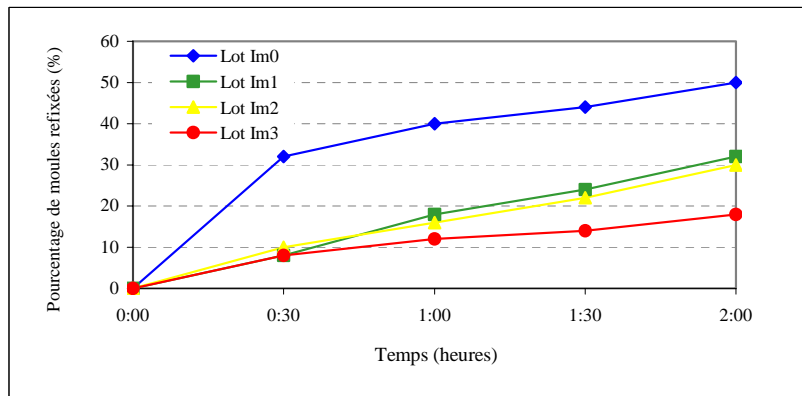
**Figure 13 – Survie au choc thermique des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.**



**Tableau 14 – Résultats de refixation par le byssus des lots Im0, Im1, Im2 et Im3.**

	Nombre de moules refixées en fonction du temps (en effectifs non cumulés)				
	Temps (heure)				
	0 h	0 h 30	1 h	1 h 30	2 h
Im0	0	16	4	2	3
Im1	0	4	5	3	4
Im2	0	5	3	3	4
Im3	0	4	2	1	2

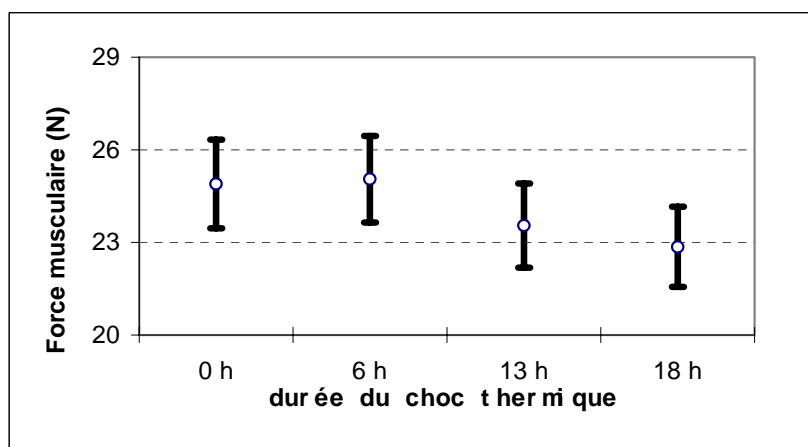
**Figure 14 - Pourcentages cumulés de moules refixées en fonction du temps pour les lots Im0, Im1, Im2 et Im3.**



**Tableau 15 – Résultats de force d'adduction intervalvaire des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.**

	Th0	Th6	Th13	Th18
<b>FORCE</b>	24,89	25,05	23,55	22,86
effectif	50	50	50	50
<b>variance</b>	26,893	25,719	24,304	21,981
1/2 int. conf. 95 %	1,437	1,406	1,366	1,300

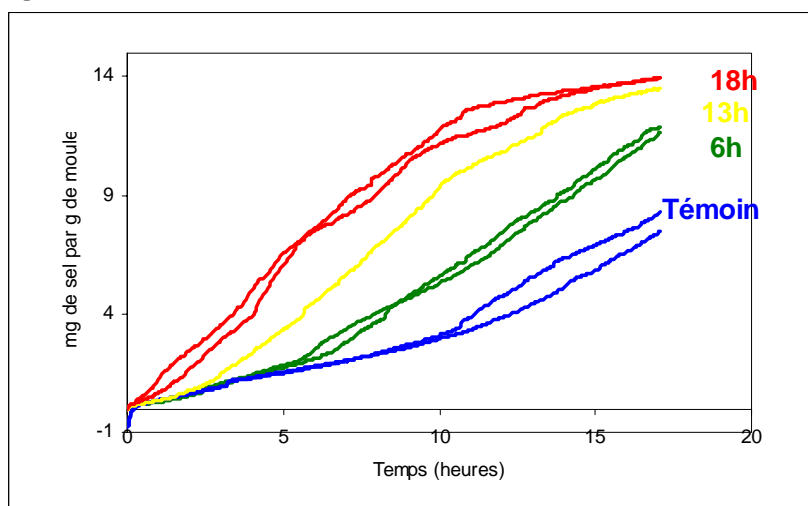
**Figure 15 – Force d'adduction intervalvaire des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.**



**Tableau 16 – Résultats de perte de sel des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.**

		Ch-Th0 (témoin)	Ch-Th6	Ch-Th13	Ch-Th18
<b>penetration 1-3h</b>	Lot 1	0.27	0.40	0.56	1.12
	Lot 2	0.28	0.32	0.60	1.15
<b>Mortalités en cours de mesure</b>	initiale	Pas de morte à 3h		quelques	quelques
	Finale (au bout de 18 h)	Environ 27 sur 50	Environ 45 sur 50	50 sur 50	50 sur 50

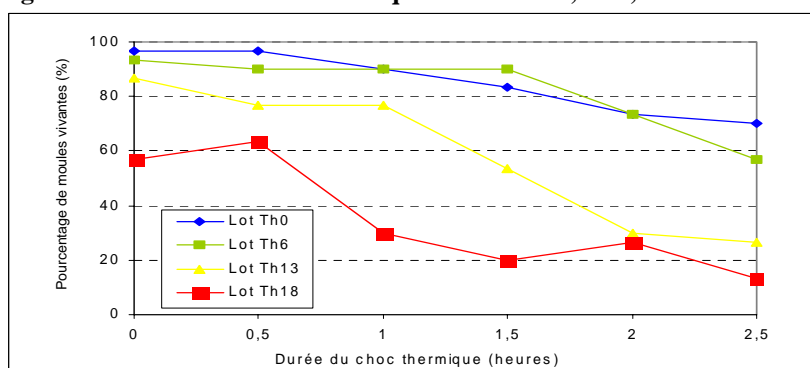
**Figure 16 – Perte de sel issue des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.**



**Tableau 17 – Résultats de survie au choc thermique des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.**

		Durée du choc thermique à 35°C (heures)					
		0	0,5	1	1,5	2	2,5
Pourcentage de moules vivantes après 24 heures	Th0	97	97	90	83	73	70
	Th6	93	90	90	90	73	57
	Th13	87	77	77	53	30	27
	Th18	57	63	30	20	27	13

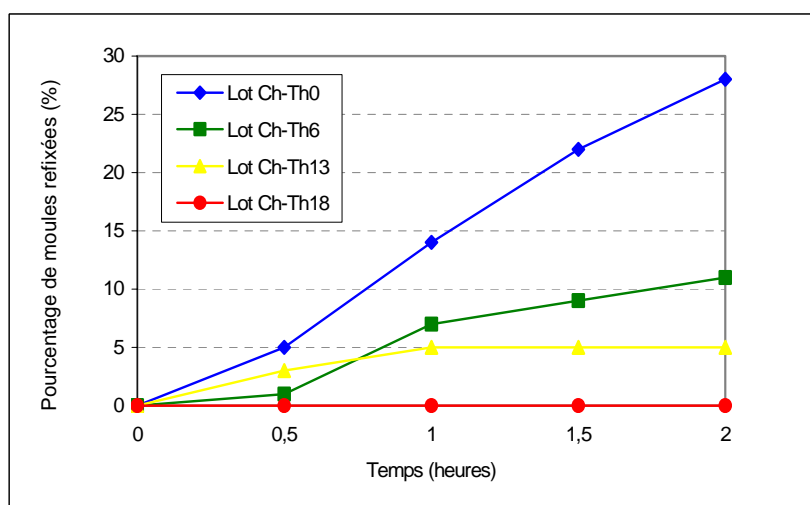
**Figure 17 – Survie au choc thermique des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.**



**Tableau 18 – Résultats de refixation par le byssus des lots Th0, Th6, Th13 et Th18.**

	Nombre de moules refixées en fonction du temps (en effectifs non cumulés)				
	Temps (heure)				
	0 h	0 h 30	1 h	1 h 30	2 h
Th0	0	5	9	8	6
Th6	0	1	6	2	2
Th13	0	3	2	0	0
Th18	0	0	0	0	0

**Figure 18 - Pourcentages cumulés de moules refixées en fonction du temps pour les lots Th0, Th6, Th13 et Th14.**



**Tableau 20 – Evaluation de la simplicité des différents tests.**

	Force d'adduction intervalvaire	Perte de sel intervalvaire en eau douce	Survie au choc thermique à 30°C	Temps de refixation par le byssus
Appareillage	Dynamomètre  **	bain-marie conductimètre  *	Bain-marie  **	Bac de stockage  ***
Simplicité de mise en œuvre	**	*	**	***
Temps agent	***	***	**	**
Traitement des résultats	***	*	**	**
Délai de réponse	*** (1 h)	*** (5 à 8 h)	** (24 h)	*** (2 h)
<b>TOTAL</b>				
<b>SIMPLICITE RELATIVE</b>	*** <b>Très Simple</b>	** <b>Simple</b>	** <b>Simple</b>	*** <b>Très Simple</b>

**Tableau 19 - Bilan des résultats et analyses statistiques pour les différents tests**

		Emersion			Eau douce				30°C			
		0 jour	3 j	5 j	0 jour	1 j	2 j	3 j	0 heure	6 h	13 h	18 h
Conditions expérimentales	Date	avril 2000			mai 2000				juillet 2000			
	Poids (g)	4.13	3.81	3.29	5.01	4.85	4.82	4.52	9.12	9.17	9.10	9.17
<b>TEST FORCE MUSCULAIRE</b>												
	Effectif	58	58	58	30	30	30	30	50	50	50	50
<b>Résultats</b>	<b>Force (Newtons)</b>	<b>11.51</b>	<b>10.59</b>	<b>8.82</b>	<b>13.59</b>	<b>13.93</b>	<b>13.01</b>	<b>12.16</b>	<b>24.89</b>	<b>25.05</b>	<b>23.55</b>	<b>22.86</b>
Analyse statistique	Anova globale (risque $\alpha$ )	1‰			N.S. (14%)				N.S. (8%) (1)			
	Comparaisons 2 à 2 (N&K)	N S. <1 ‰			sans objet				sans objet			
Variations inter-lots	Variations relatives /témoin	0%	-8%	-23%	0%	3%	-4%	-11%	0%	1%	-5%	-8%
Variations intra-lots (résiduelles)	Variations intra : coeff. variation	21% w			23%				20%			
	1/2-IC des moyennes (5%) relatif	6%			9%				6%			
<b>TEST PERTE DE SEL</b>												
	Effectif	1(*100)	1(*100)	1(*84)	2(*50)	2(*50)	2(*50)	2(*46)	2(*50)	2(*50)	2(*50)	2(*50)
<b>Résultats</b>	<b>Perte de sel 1à3h (mg/h/g)</b>	<b>0.74</b>	<b>2.04</b>	<b>2.69</b>	<b>0.67</b>	<b>2.00</b>	1.44	1.32	<b>0.27</b>	<b>0.36</b>	<b>0.58</b>	<b>1.14</b>
Analyse statistique	Anova globale (risque $\alpha$ )	très probablement significatif			2%		artéfacts dessalure		<1‰			
	Comparaisons 2 à 2 (N&K)	très probablement significatif			2%				NS (2)		<1%	<1%
Variations inter-lots	Variations relatives /témoin	0%	176%	264%	0%	199%	115%	97%	0%	33%	115%	322%
Variations intra-lots (résiduelles)	Variations intra : coeff. variation	---			16%				6%			
	demi-IC des moyennes 5% relatif	---			49%				17%			
<b>TEST CHOC THERMIQUE</b>												
	Effectif	60	60	non fait	60	60	60	60	180	180	180	180
<b>Résultats</b>	<b>% cumulé de vivantes</b>	<b>28%</b>	<b>55%</b>	---	<b>30%</b>	<b>20%</b>	<b>8%</b>	<b>10%</b>	<b>85%</b>	<b>82%</b>	<b>58%</b>	<b>35%</b>
Analyse statistique	Chi-2	Sans objet (résultat aberrant)			<1‰				<1‰			
	Comparaisons 2 à 2 (Chi-2)				différence significative entre J1 et J2				différence significative entre 6-13 h et 13-18 h			
Variations inter-lots	Variations relatives /témoin	0%	96%		0%	-33%	-73%	-67%	0%	-4%	-32%	-59%
Variations intra-lots (résiduelles)	Variations intra : coeff. variation	21%	12%	---	20%	26%	44%	39%	3%	3%	6%	10%
	demi-IC des moyennes 5% relatif	41%	23%	---	39%	51%	86%	76%	6%	7%	12%	20%
<b>TEST BYSSUS</b>												
	Effectif	30	30	30	50	50	50	50	100	100	100	100
<b>Résultats</b>	<b>Byssus (refixation après 2 h)</b>	<b>40%</b>	<b>50%</b>	<b>0%</b>	<b>50%</b>	<b>32%</b>	<b>30%</b>	<b>18%</b>	<b>28%</b>	<b>11%</b>	<b>5%</b>	<b>0%</b>
Analyse statistique	Chi-2	<1‰			<1‰				<1‰			
	Comparaisons 2 à 2 (Chi-2)	4 ‰ 10 <sup>-4</sup>			différence significative entre J0 et J3				< 5%		NS	<1‰
Variations inter-lots	Variations relatives /témoin	0%	25%		0%	-36%	-40%	-64%	0%	-61%	-82%	-100%
Variations intra-lots (résiduelles)	Variations intra : coeff. variation	22%	18%	0%	14%	21%	22%	30%	16%	28%	44%	0%
	demi-IC des moyennes 5% relatif	44%	36%	0%	28%	40%	42%	59%	31%	56%	85%	0%

(1) Différence significative sur l'indice de force IF = F/Poids entre 0 ou 6 heures et 18 heures

(2) Différence significative de perte de sel 1à8h entre 0 et 6 heures