



SODIM

Société de développement de l'industrie maricole inc.

*Transfert technologique et adaptation de l'outil
de mesure de la vitalité du pétoncle géant
(*Placopecten magellanicus*) par
« musculométrie » à des fins d'applications
pectinicoles*

Rapport final

Dossier n° 710.138

Rapport commandité par la SODIM

20 octobre 2006

**Transfert technologique et adaptation de l'outil de mesure de la vitalité
du pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) par « musculométrie » à
des fins d'applications pectinicoles**

Rapport final déposé à la SODIM

Madeleine Nadeau¹
Xavier Janssoone²
Helga Guderley²

¹ CeMIM-MAPAQ, 107-125 chemin du Parc, Cap-aux-Meules, G4T 1B3

² Université Laval, Département de biologie, Québec, G1K 7P4

20 octobre 2006

TABLE DES MATIÈRES

1. Introduction.....	1
2. Description du matériel de base.....	2
3. Méthode de mesure standard.....	3
4. Mode de traitement des données.....	5
4.1. Choix des informations à traiter.....	6
4.2. Valeurs limites de musculométrie.....	7
4.3. Correction de valeurs en fonction de la taille du muscle.....	7
5. Méthode de mesure simplifiée.....	8
5.1. Étoile de mer vs mécanique.....	8
5.2. Eau vs air.....	10
5.3. Pétoncles <25 mm.....	11
5.4. Design expérimental : importance d'un groupe témoin et SOS.....	13
6. Conclusion et recommandations.....	15
7. Références bibliographiques.....	15

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Valeurs limites obtenues chez des groupes contrôles, toutes tailles confondues pour une période d'enregistrement de 10 minutes	7
Tableau 2. Valeurs limites obtenues sur des pétoncles de 13 à 15 mm pour une période d'enregistrement de 5 minutes	13

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Crochet et pince utilisés pour les mesures.....	2
Figure 2. Système de mesure de musculométrie.....	3
Figure 3. Exemples d'écartement des valves pour des pétoncles de 12 à 15 mm.....	4
Figure 4. Relation entre la taille des pétoncles et la distance d'écartement des valves.....	4
Figure 5. Méthode utilisée pour maintenir le pétoncle en place lors des enregistrements.....	4
Figure 6. Mode de stimulation avec une étoile de mer.....	5
Figure 7. Muscles strié (A) et lisse (B).....	6
Figure 8. Exemple d'un enregistrement des contractions musculaires à l'aide du logiciel Dataplot.....	6
Figure 9. Corrélation entre la taille des pétoncles et la taille du muscle.....	8
Figure 10. Mode de stimulation mécanique.....	9
Figure 11. Graphiques représentant les résultats de musculométrie pour des stimulations avec étoile de mer et mécanique (n=30, ±SE).....	9
Figure 12. Pince hémostatique utilisée pour fixer les pétoncles lors des mesures à l'air.....	10
Figure 13. Graphiques représentant les résultats de musculométrie pour des stimulations dans l'air et dans l'eau (n=30, ±SE).....	11
Figure 14. Contractions musculaires enregistrées sur un pétoncle de 15 mm (en haut), 12 mm (au centre) et 8 mm (en bas) avec le dynamomètre Quantrol (50 N).....	12
Figure 15. Contractions musculaires enregistrées sur un pétoncle de 15 mm avec le dynamomètre Mecmesin (25 N).....	13
Figure 16. Graphiques représentant les résultats de musculométrie après une période d'émersion de 1, 3 et 6 heures (n=10, ±SE).....	14

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Exemple de la feuille de compilations de données.....	16
---	----

1. Introduction

Pour avoir du succès en aquaculture, il faut s'assurer que les individus soient maintenus dans des conditions favorisant une production maximale. Pour ce faire, on doit développer des technologies et des conditions d'élevage et manutention qui permettent une croissance et une survie maximales, tout en diminuant les stress vécus par les animaux. Or, un individu stressé doit investir davantage d'énergie pour maintenir son équilibre interne, ce qui en laisse moins pour la croissance. Perturbé, il peut devenir plus vulnérable à des stress additionnels comme, par exemple, une température élevée, une attaque par un prédateur, etc. Dans certains cas, il n'est pas en mesure de résister au stress supplémentaire et meurt. Les mariculteurs manquent d'indicateurs de stress opérationnels (i.e simple, rapide et peu coûteux) pour évaluer l'état des individus en élevage. Sans un tel indicateur, il devient difficile d'améliorer les technologies ou d'établir les manutentions les plus appropriées. En pectiniculture, les deux principales approches de production consistent à réensemencer sur le fond des juvéniles jusqu'à l'obtention d'une taille commerciale ou à conserver les pétoncles dans des structures en suspension jusqu'à la taille commerciale. La vitalité des pétoncles est une considération centrale dans ces processus d'élevage que ce soit en cours d'élevage en suspension ou à l'ensemencement. La vitalité est également importante lors de la vente de pétoncles vivants entiers sur les marchés éloignés. Une évaluation de la vitalité des pétoncles via des indicateurs simples pourrait donc améliorer la performance des entreprises pectinicoles.

Les indicateurs comportementaux offrent plusieurs attributs intéressants dans le contexte de l'évaluation de la vitalité. L'intégration de plusieurs systèmes (e.g. sensoriel, moteur) lors de ces réponses, le fait de pouvoir les observer sans appareillage complexe ainsi que la possibilité de transférer les approches aux pectiniculteurs comptent parmi ces avantages. Les travaux de Lafrance et al 2003a,b.; Brokordt et al. 2000a,b) ont démontré que les réponses de fuite changeaient selon l'état physiologique des pétoncles. En 2003, un projet a été mené par Helga Guderley PhD de l'Université Laval, dans le cadre du Réseau Aquaculture Québec (RAQ) afin de caractériser la variabilité naturelle (de juin à octobre et à trois états reproducteurs différents : avant, pendant, et après la ponte) de certains indicateurs de vitalité potentiels du pétoncle géant *Placopecten magellanicus*. Vers la fin des travaux de 2003, une collaboration avec Pierre-Gildas Fleury, chercheur à l'IFREMER, dans le cadre de l'entente MAPAQ-IFREMER, a permis de développer une nouvelle approche pour évaluer la vitalité des pétoncles : les réponses de fuites mesurées sur musculométrie (Fleury et al. 2005). En 2004, des travaux ont été menés afin de développer et valider cette approche dans le contexte des opérations pectinicoles. La validation consistait dans la comparaison des réponses de fuite des individus suite à la sortie de la lagune, à leur passage sur la chaîne de tri et à l'entreposage dans les viviers. De plus, la réponse des pétoncles à un stress semblable à celui de l'ensemencement a été analysée de façon saisonnière. Les réponses comportementales entres autres au niveau du nombre de clap et des forces maximales tonique et phasique ont permis de cerner des situations particulières de stress chez l'animal.

Le présent guide décrit l'approche méthodologique utilisée généralement lors des mesures comportementales à partir d'un dynamomètre. Divers travaux de validation de cette approche ont été réalisés et les données sont présentement sous analyse. L'outil permet de mesurer le comportement de fuite du pétoncle suite à un stress et peut s'appliquer directement à la capacité

de fuite de l'animal face à un prédateur lors d'un ensemencement. La réponse musculaire d'un pétoncle est également un indicateur important de l'état physiologique général de l'animal. Le guide propose également certains ajustements à la méthode standard afin d'appliquer l'outil dans le cadre de projet de recherche appliquée ou lors de mesures réalisées directement dans les entreprises en support à l'amélioration des pratiques pectinicoles. Lors de l'élaboration du guide, diverses manipulations et analyses ont été réalisées afin de revoir certaines approches dont la nécessité de procéder à des mesures à l'eau et de stimuler le pétoncle avec une étoile de mer. La possibilité de mesurer la vitalité sur des pétoncles de taille inférieure à 25mm a également été évaluée.

2. Description du matériel de base

Le matériel nécessaire est assez simple à mettre en place :

- Un dynamomètre muni d'un crochet plat, monté sur un support
- Un bassin d'eau muni d'une pince afin de maintenir l'animal en position fixe
- Un ordinateur relié au muscromètre muni du logiciel approprié pour enregistrer les données

Le dynamomètre utilisé jusqu'à présent est un appareil de la marque Quantrol, modèle AFG50N, avec une limite maximale de mesure de force de 50 newtons. La compagnie est aujourd'hui rachetée par la compagnie Mecmesin - www.mecmesin.com. Un appareil Mecmesin AFG25N, avec une limite de 25 N, a été utilisé dans le cadre des présents travaux. Selon les besoins, il est possible de choisir différentes sensibilités de force lors de l'achat (de 2,5N à 1000N). Un appareil allant jusqu'à 50N permet la mesure de pétoncles adultes atteignant des forces de 30N. Un appareil de 25 N est plus limité mais offre une sensibilité plus grande (la sensibilité de l'appareil correspond à $\pm 0.01\%$ de l'échelle maximale de l'appareil, donc $\pm 0.0025N$ pour le 25N). Une extension en acier inox de 13cm fournie avec l'appareil permet la mise en place d'un crochet plat (Figure 1). Ce crochet sert de surface de contact entre la coquille supérieure du pétoncle et le muscromètre. Le crochet a été fixé à l'extension par 2 boulons. Le dynamomètre muni de son extension, est monté sur le support MDD – Manual Test Stand de Mecmesin. Ce dernier est muni d'une vis sans fin qui permet de faire varier la position verticale du dynamomètre. Un bloc de bois (d'environ 4cm d'épaisseur) a été ajoutée entre le dynamomètre et le support afin d'éloigner le dynamomètre de la structure du support dans le but d'augmenter l'espace disponible à l'intérieur du bassin d'eau pour les mesures.

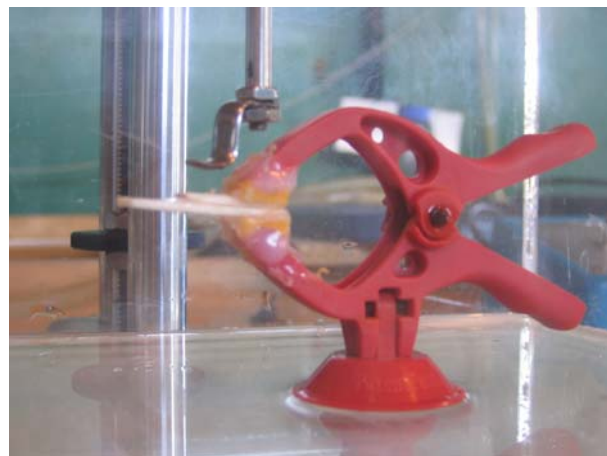


Figure 1. Crochet et pince utilisés pour les mesures.

Le bassin consiste en un aquarium en plexiglas d'une capacité d'une dizaine de litres et mesure approximativement 30cm x 30cm. Le fait que les parois soient transparentes facilite les mesures et l'observation du pétoncle lors de celles-ci. Le bassin est muni d'une arrivée d'eau

reliée à une pompe péristaltique et d'une sortie d'eau qui permet un renouvellement d'eau constant à l'intérieur du bassin. Si aucune pompe n'est disponible pour renouveler l'eau, il est important de changer l'eau du bassin manuellement si l'écart de température entre le bassin de mesure (petit volume qui chauffe vite) et celui de contention dépasse 2°C. Une pince est utilisée pour fixer le pétoncle par la valve inférieure lors des mesures. La pince en plastique (*Spring clamp* de Wolfcraft) est montée sur une ventouse qui permet de la fixer dans le fond du bassin (Figure 1). À cause de la forme trop arrondie de la pince, nous avons dû prolonger horizontalement cette dernière avec des tiges de plastique rigide fixées à l'aide d'un pistolet à colle chaude. La position de la pince dans le bassin varie en fonction de la taille des pétoncles. Pour des pétoncles de taille inférieure à 50mm, la pince peut être positionnée dans le centre du bassin pour faciliter la manipulation. Pour des pétoncles de taille supérieure (et donc de force supérieure), il est important de positionner la pince contre la paroi du bassin afin de s'assurer qu'elle se maintienne en tout temps en position fermée.



Figure 2. Système général de mesure de musculométrie.

Le dynamomètre doit être branché à un ordinateur pour le suivi de l'évolution des forces musculaires (phasique et tonique) et l'enregistrement des mesures. Un câble spécifique (9-PIN RS-232) sert à cet effet. L'ordinateur doit également être pourvu du logiciel Dataplot-X (version 1.05A) pour l'enregistrement des données. Le logiciel ne requiert aucun système d'exploitation récent. Les données enregistrées peuvent être exportées en format Texte et traitées ultérieurement avec le logiciel Excel. Un aperçu de l'ensemble du système une fois monté est présenté en figure 2.

3. Méthode de mesure standard

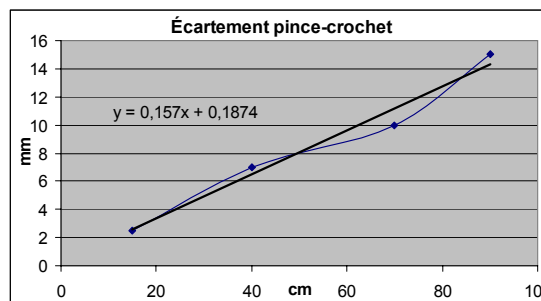
Avant de débiter les mesures, il est important de contrôler l'écartement entre la pince et le crochet plat pour éviter de léser le muscle des animaux et éviter l'enregistrement d'une tension de base. Nous avons défini des écartements standards en observant les ouvertures naturelles de

pédoncles en filtration (Figure 3). Il a été également possible d'établir une corrélation entre la taille du pédoncle et la distance d'écartement des valves (Figure 4).

Au moment des mesures, le pédoncle doit être transféré rapidement entre le bassin d'entreposage et celui de mesure. Durant le transfert, l'expérimentateur doit entrouvrir les valves du pédoncle afin de pouvoir y insérer rapidement le crochet plat et la pince de fixation. Cette étape doit également être faite avec délicatesse de façon à ne pas stresser l'animal et occasionner le bri des coquilles. La valve supérieure du pédoncle est alors appuyée sur le crochet plat et la valve inférieure est lentement écartée en refermant le crochet du bas. Il est important que les extrémités du crochet et de la pince ne soient pas trop insérées dans le pédoncle pour ne pas occasionner des blessures au manteau. Une fois le pédoncle fixé, on doit le maintenir en place en appuyant un doigt en arrière de la charnière (Figure 5). Ainsi on s'assure que le pédoncle ne se dégage pas de la pince et se maintienne à l'horizontale. En effet, sans le maintien du doigt, le pédoncle a tendance à se mettre en position oblique à cause de la forme de la coquille et peut influencer à la baisse la force enregistrée lors des contractions musculaires car la force appliquée n'est plus verticale.



Figure 3. Exemples d'écartement pour des pédoncles de 12-15 mm.



Taille pédoncles	Écartement
12 à 15 mm	2,5 mm
30 à 40mm	7 mm
70 à 80 mm	1 cm
80 à 90 mm	1,5 cm

Figure 4. Relation entre la taille des pédoncles et de la distance d'écartement des valves.



Figure 5. Méthode utilisée pour maintenir le pédoncle en place lors des enregistrements.

Tout comme pour les tests de fuite traditionnels, les mesures sur musculomètre se réalisent en stimulant le manteau du pétoncle de manière continue à l'aide d'un bras d'étoile de mer (Figure 6). Pour ce faire, l'expérimentateur dépose l'extrémité d'un bras d'étoile de mer sur le manteau et le déplace doucement par un mouvement de va et vient. La taille de l'étoile de mer est choisie en fonction de la taille du pétoncle. En effet, le bras doit pouvoir aisément être inséré entre les 2 valves pour stimuler le manteau. La pince et le crochet étant placé en plein centre du pétoncle, la zone de stimulation est séparée en deux. Il est donc important de ne pas stimuler uniquement la partie du manteau qui se trouve face à l'expérimentateur, mais également celle qui se situe en arrière de la pince. Généralement, la durée d'une mesure a été fixée à 10 minutes à partir du moment où le pétoncle est installé sur la pince. La détermination de la durée d'enregistrement peut varier selon la taille des spécimens ou le niveau de sensibilité demandé. Cette variable demande toutefois à être davantage documentée.



Figure 6. Mode de stimulation avec une étoile de mer.

Il est préférable de prévoir une équipe de 2 personnes pour faire les mesures. La première personne se concentre sur le pétoncle et la stimulation alors que la seconde s'occupe de l'enregistrement des mesures. Le travail peut également se faire en rotation entre les deux expérimentateurs. Il a effectivement été noté par des expériences passées que les résultats pouvaient varier d'un expérimentateur à un autre. Ce faible biais peut être limité en ayant un seul expérimentateur en tout temps ou en planifiant des rotations entre ceux-ci après chaque pétoncle.

Après une mesure, il est nécessaire de conserver le pétoncle pour des mesures biométriques. Il est donc conseillé d'identifier chaque pétoncle à l'aide d'un crayon marqueur indélébile. Notons qu'il faut assécher la valve avant le marquage et laisser à l'encre quelques minutes de séchage avant de remettre les pétoncles à l'eau. Le numéro doit correspondre à celui utilisé pour l'enregistrement du fichier des mesures musculométriques.

4. Mode de traitement des données

Suite à la prise des mesures, le logiciel Dataplot-X permet d'enregistrer les mesures en format DPT ou DPX. Il est important de choisir le format DPT. Dans un deuxième temps, pour exploiter les données recueillies, il est nécessaire de les transférer dans Excel. Pour ce faire, il faut ouvrir de nouveau chaque fichier DPT avec le logiciel Dataplot-X et l'exporter sous format texte. Il est important de choisir le mode TAB (le mode COMMA est proposé par défaut) avant de compléter l'exportation. Il suffit alors d'ouvrir le fichier en format texte et de faire du copier/coller dans Excel. Lorsque toutes les données ont été transférées dans Excel, il ne faut pas oublier de remplacer tous les points par des virgules, dépendamment de la configuration de l'ordinateur. Un modèle de feuille de saisie est proposé en annexe. La même échelle de temps est utilisée pour

tous les spécimens mesurés sur un même ordinateur à une date donnée à moins qu'une variation importante ne soit notée. Ensuite, il suffit de faire les graphiques des mesures de force (N) en fonction du temps (sec) correspondant à chacun des spécimens. Les analyses ultérieures seront ensuite réalisées essentiellement à partir de ces graphiques.

4.1. Choix des informations à traiter

Les réponses de fuite sur musculomètre fournissent plusieurs types de données (nombre, fréquence et force des claps, l'évolution temporelle des réponses, nombre, fréquence et force des contractions toniques, l'évolution temporelle de l'emploi du muscle tonique et phasique). Ces tracés fournissent la possibilité d'évaluer la complémentarité du travail des contractions phasique et tonique par le muscle adducteur. Rappelons que les contractions phasiques sont réalisées par le muscle strié i.e. le muscle de plus grande taille tandis que les contractions toniques sont réalisées par le muscle lisse, de plus petite taille (Figures 7 et 8).

La réponse d'un individu étant très reproductible (Fleury *et al.* 2005), elle devient une sorte de signature comportementale offrant plusieurs possibilités. Des analyses biochimiques ont également confirmées que ces informations étaient en lien avec l'état physiologique de l'animal (H. Pérez-Cortez, en rédaction)

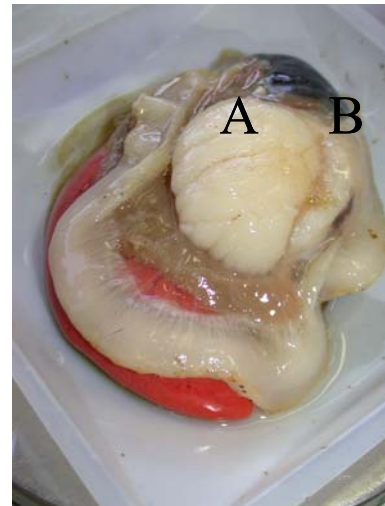


Figure 7. Muscles strié (A) et lisse (B).

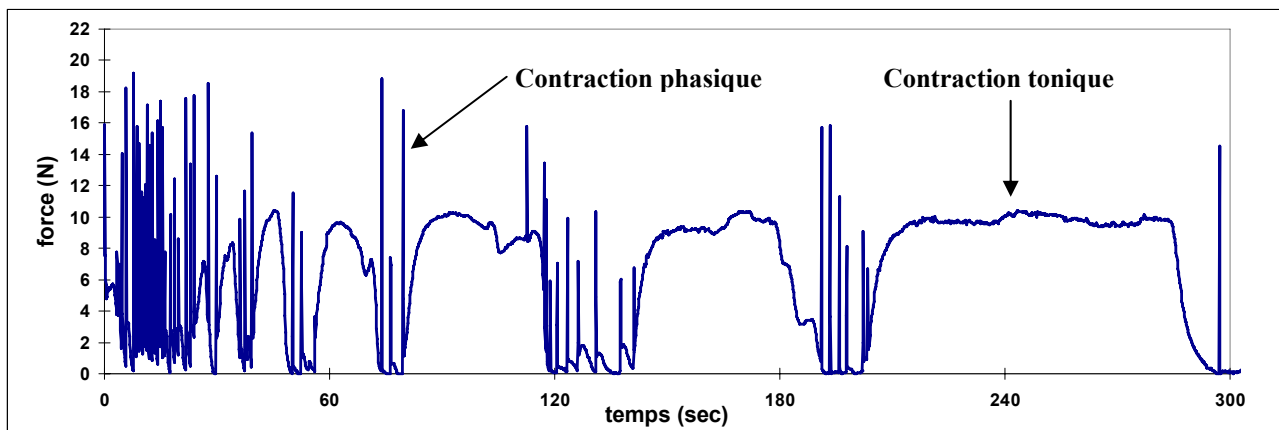


Figure 8. Exemple d'un enregistrement des contractions musculaires à l'aide du logiciel Dataplot.

Le document de Fleury *et al.* (2005) présente une variété d'informations qui peuvent être utilisées au moment de l'analyse. Des récents travaux portant sur des comparaisons saisonnières et sur l'impact de la chaîne de production avant un ensemencement ont permis de faire ressortir les principales variables qui pourraient permettre de statuer sur l'état de l'animal. Le premier

paramètre intéressant et facile à aller chercher est le **nombre de pics** observés sur le graphique. Chaque pic correspond à une contraction du muscle phasique. Le dénombrement des claps se fait pour toute la durée des mesures mais peut également se faire sur des temps intermédiaires (1 minute, voir même 10 secondes). Les **forces maximales** générées par les muscles phasique et tonique sont des données également intéressantes et simples à sortir. Le **temps du dernier clap** peut également témoigner de la résistance de l'animal. Le nombre de contractions toniques est un paramètre difficile à évaluer du fait de la très grande variabilité de forme des contractions toniques. Cette information peut toutefois être en partie retirée par la valeur de l'**aire sous la courbe** affichée directement dans le logiciel DataPlot. Un animal avec de fréquentes contractions toniques ou quelques contractions prolongées aura une aire sous la courbe plus élevée qu'un animal avec de nombreuses contractions phasiques. L'**intervalle minimal entre deux claps** reflète des capacités de l'animal à faire des contractions phasiques rapprochées.

4.2. Valeurs limites de musculométrie

Les divers travaux de musculométrie réalisés jusqu'à présent par la stimulation avec une étoile de mer sur 10 minutes permettent de présenter certaines valeurs limites pour des individus contrôles (Tableau 1). Comme les mesures se révèlent assez équivalentes peu importe la taille des pétoncles, elles ont été regroupées. Des mesures faites par stimulation électrique ont démontré que des pétoncles de 25-35 mm pouvaient produire jusqu'à 80 claps après environ 1 minute d'enregistrement (données non publiées).

Tableau 1. Valeurs limites obtenues chez des groupes contrôles, toutes tailles confondues pour une période d'enregistrement de 10 minutes.

Nb contractions phasiques	Force max phasique (N/cm ²)	Force max tonique (N/cm ²)	Intervalle minimal entre 2 claps (s)
25-45	3-6	10-20	0.2-1

Les travaux ont également démontré une diminution de la plupart des valeurs entre des pétoncles de 35-45 mm en bon état et des pétoncles de même taille mais en état de stress. Le stress appliqué a consisté à des étapes d'émersion et de brassage précédant un ensemencement. Le nombre et la force maximale phasique ont diminué de moitié tandis que l'intervalle minimal entre 2 claps a doublé (H. Pérez-Cortez, en rédaction).

4.3. Correction des valeurs en fonction de la taille du muscle

Les forces musculaires obtenues à l'aide du musculomètre sont exprimées en newtons (N). Une fois les mesures de force terminées, il est nécessaire de rapporter ces différentes forces (en newtons) par rapport à la taille (cm²) des muscles des pétoncles correspondants. Il est important de dissocier le muscle strié (tonique) du muscle lisse (phasique) (Figure 7). La force maximale enregistrée pour chacun de ces muscles sera corrigée en fonction de la taille de ceux-ci. La taille du muscle tonique est aussi utilisée pour corriger la valeur de l'aire sous la courbe. Pour mesurer

la surface d'attachement du muscle, il faut disséquer le pétoncle. Si le muscle ne doit pas être récupéré pour fin d'analyse biochimique, il est fortement conseillé de laisser une fine épaisseur de muscle sur la coquille (1mm) pour faciliter la mesure car les marques d'insertion des muscles sur la coquille sont parfois difficiles à repérer. Le choix de la coquille inférieure pour les mesures est arbitraire mais il est important de toujours utiliser cette dernière car les zones d'insertion des muscles diffèrent d'une coquille à l'autre. Pour des pétoncles de petites tailles (inférieure à 40mm), les mesures peuvent se faire directement sous un binoculaire raccordé à un ordinateur qui est doté d'un logiciel d'analyse d'images (par exemple Image Pro et SigmaScan Pro). Pour des pétoncles de plus grande taille, la solution généralement choisie consiste à travailler sur des photos de coquilles prises avec un appareil photo numérique.

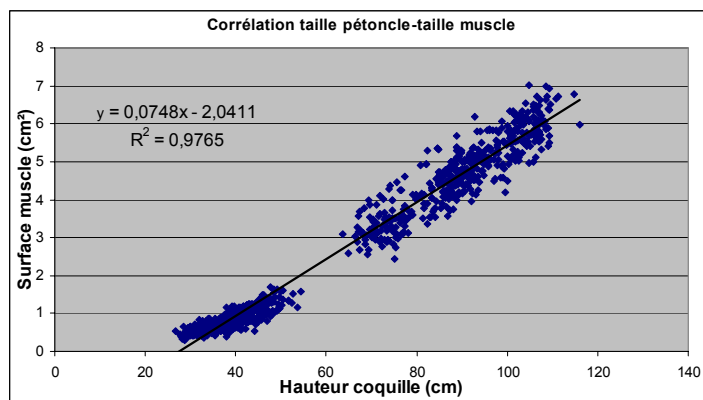


Figure 9. Corrélation entre la taille des pétoncles et la taille du muscle.

Grâce aux centaines de mesures effectuées lors des travaux de musculométrie, nous avons mis en évidence une corrélation entre la taille des pétoncles et la surface d'attachement des muscles de ces derniers (Figure 9). Néanmoins, cette corrélation reste trop imprécise pour être utilisée dans l'optique d'appliquer uniquement une formule de correction plutôt que de devoir mesurer les tailles de chacun des muscles. En effet, la croissance de la coquille et celle de la chair du pétoncle ne sont pas homogènes. Donc, pour des individus qui présentent une taille de coquille similaire, nous pouvons observer une différence importante de la taille du muscle.

5. Méthode de mesure simplifiée

Afin de faciliter l'utilisation de musculomètre dans des conditions plus difficiles ou dans le cadre de travaux de R&D appliqués, certaines simplifications se sont avérées possibles. Quelques-unes ont donc été testées.

5.1. Étoile de mer vs mécanique

La stimulation des pétoncles a été réalisée jusqu'à maintenant à l'aide des bras d'une étoile de mer vivante. L'utilisation d'une étoile de mer permet de reproduire davantage le comportement de fuite de l'animal en présence d'un prédateur. Toutefois, ce choix demande un approvisionnement en petites étoiles et un bassin de réserve pour maintenir ces prédateurs en bon

état. De plus il n'est pas toujours facile d'acquérir des étoiles d'une taille adéquate pour la taille du pédoncle correspondant. Il a donc été estimé utile de proposer une simplification à ce niveau en utilisant une simple petite tige de plastique.

Des tests visant à comparer les mesures réalisées à l'aide d'une étoile de mer et une stimulation mécanique ont donc été réalisés au début juillet 2006. En général, la méthode standard décrite dans la section 3 a été suivie. Les mesures ont été faites dans de l'eau à près de 16°C. Trente pédoncles de 25-35 mm ont été utilisés pour chacun des traitements. La stimulation mécanique a été réalisée à l'aide d'une languette de plastique de couleur orangée et d'une largeur de (10 mm) (type *tag* d'identification) (Figure 10). Pour un traitement donné, les expérimentateurs ont réalisé les mesures à tour de rôle afin d'éviter un biais causé par l'expérimentateur.



Figure 10. Mode de stimulation mécanique.

De façon générale, il y a peu de différence entre les résultats obtenus lors d'une stimulation avec étoile de mer et une stimulation mécanique (Figure 11). En effet, nous pouvons voir sur les graphiques suivants, que quelque soient les paramètres observés, les valeurs sont sensiblement les mêmes. On peut donc remplacer l'étoile de mer par la languette de plastique sans perdre de l'information.

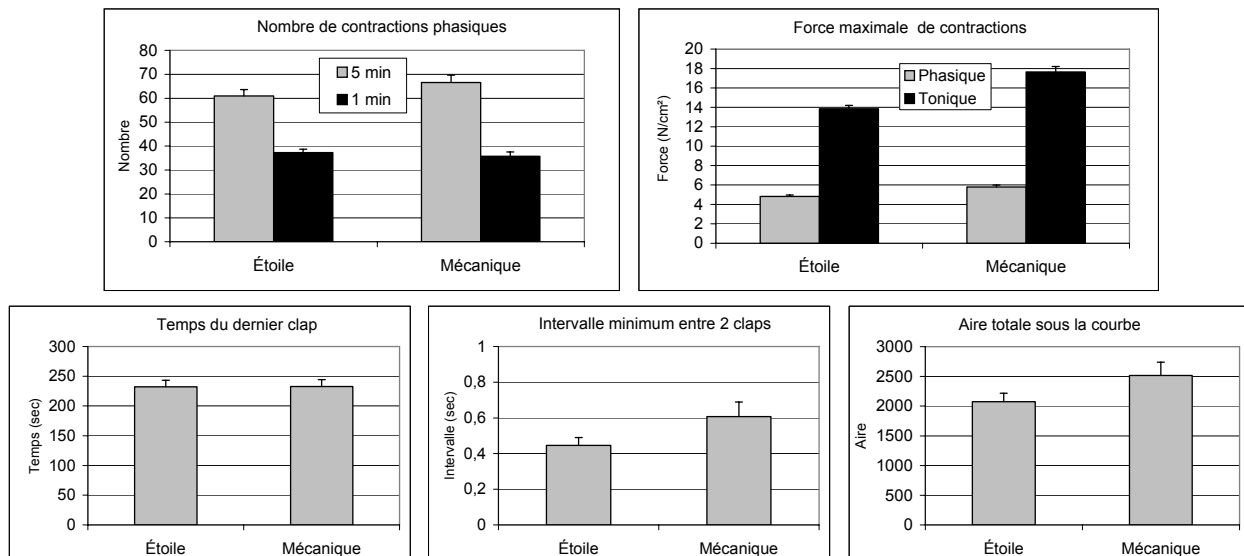


Figure 11. Graphiques représentant les résultats de musculométrie pour des stimulations avec étoile de mer et mécanique (n=30, ±SE) .

5.2. Eau vs air

La plupart des mesures de musculométrie ont été réalisées dans l'eau. L'utilisation de l'eau s'est avérée nécessaire pour étudier le comportement de fuite des pétoncles dans leur milieu naturel. Les mesures à l'eau exigent toutefois un renouvellement régulier. De plus, le travail à l'eau accroît la complexité des mesures puisque le travail se fait à l'intérieur d'un aquarium qui limite l'espace de manipulation et la visibilité. La position de l'expérimentateur peut aussi s'avérer peu ergonomique. Dans un contexte de mesure de la vitalité et non dans un contexte d'étude du comportement, il peut être envisagé de simplifier l'approche en procédant à des mesures à l'air. Bien que le système de circulation de l'eau dans le bassin soit relativement simple, l'amélioration du confort du manipulateur serait le principal avantage du travail à sec.

Des tests visant à comparer les résultats de mesures réalisées à l'air et dans l'eau ont donc été réalisés à la mi-juillet 2006. Les traitements ont consisté à mesurer la réponse de 30 pétoncles de 25-35 mm dans de l'eau à 16°C et de 30 pétoncles à l'air à 18°C. Les expérimentateurs ont testé à tour de rôle les deux traitements de stimulation. Lors des mesures à l'eau, la méthode standard décrite dans la section 3 a été utilisée. Lors des mesures à l'air, le bassin étant retiré, nous avons dû utiliser un système de pince différent : une pince hémostatique (matériel de chirurgie) dont les dents présentes sur la face intérieure ont été limées. Cette pince a été directement fixée sur le support à dynamomètre (Figure 12).



Figure 12. Pince hémostatique utilisée pour fixer les pétoncles lors des mesures à l'air.

L'analyse du nombre de contractions phasiques démontre une valeur plus élevée dans l'eau (40 claps) que dans l'air (30 claps) (Figure 13). Cette différence est toutefois plus faible après 1 minute d'enregistrement, soit 18 claps à l'air comparativement à 21 claps à l'eau. La différence

après 5 minutes peut s'expliquer par le stress d'émergence. Également, le temps du dernier clap est, comme on s'y attendait, plus élevé dans l'eau (250 s) que dans l'air (200 s).

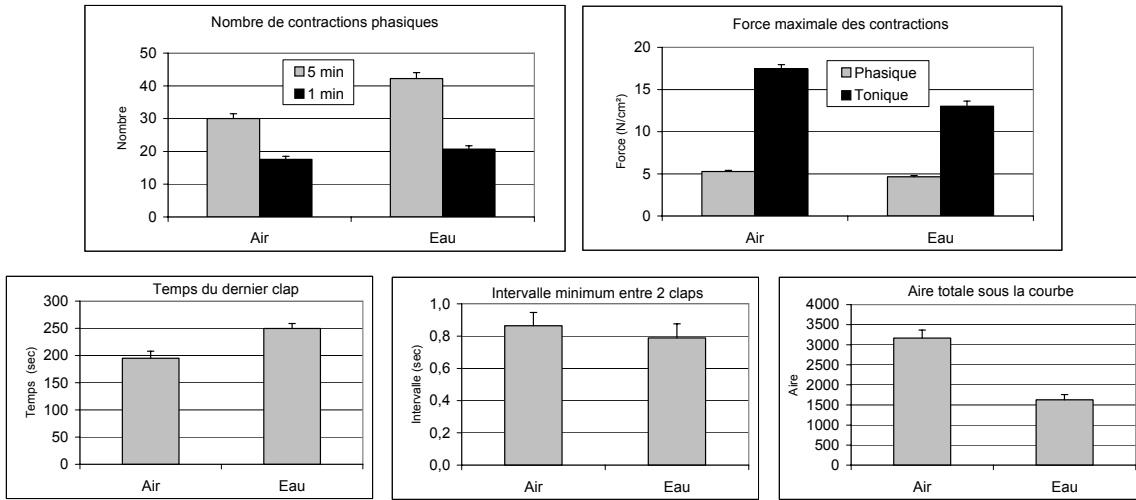


Figure 13. Graphiques représentant les résultats de musculométrie pour des stimulations dans l'air et dans l'eau (n=30, ±SE).

La force maximale tonique tend à être plus élevée à l'air comparativement aux stimulations dans l'eau. D'après les résultats obtenus dans les travaux passés, la force maximale tonique est relativement imprécise et ne suit pas de profil particulier. Ainsi, la différence observée doit être traitée avec discernement. Finalement, aucune différence ne ressort entre les deux groupes au niveau de la force maximale phasique et l'intervalle minimum entre 2 claps. Les mesures à l'eau et dans l'air se distinguent principalement au niveau du nombre de contractions phasiques. Il est cependant difficile de recommander une approche plutôt qu'une autre. Les tests de la présente étude ont tous été réalisés dans l'eau puisque la plupart des travaux de validation ont été faits dans ce milieu. Il était également important pour nous de pouvoir comparer avec les valeurs obtenues dans le passé.

Le travail à l'air comporte certains avantages déjà décrits ci-dessus et peut être privilégié selon le cas. D'ailleurs, la différence de température entre l'eau et l'air ne semble pas être un problème. Nos travaux préliminaires (données non publiées) ont démontré des résultats équivalents pour un passage de l'eau (13°C) à l'air (13°C et 20°C).

5.3. Pétoncles <25 mm

Vers la fin de juillet, divers essais ont été réalisés afin de déterminer la limite de taille inférieure pouvant être mesurée à partir de la musculométrie. Des pétoncles inférieurs à 25 mm ont fait l'objet de divers essais préliminaires. Le système de pince utilisé pour les mesures à l'air s'est avéré fort utile pour la fixation des petits pétoncles. L'approche standard des mesures a respecté celle décrite en section 3. La stimulation mécanique a été réalisée à l'aide d'une petite languette de plastique rouge d'une largeur de 2 mm (de type *tie rap*) Les pétoncles de petite taille

demande toutefois une certaine concentration et une grande délicatesse pour ne pas toucher la pince ou la coquille lors des stimulations et ainsi enregistrer des artéfacts.

Les graphiques ci-dessous (Figure 14) présentent les premiers résultats obtenus à l'aide du dynamomètre Quantrol 50N pour 3 tailles données. Ces graphiques démontrent que le pétoncle de 15 mm réalise des contractions musculaires qui peuvent être enregistrées et traitées. Pour les pétoncles de taille inférieure, la limite se situe principalement au niveau de la précision de l'appareil de mesure. Un bruit de fond propre à l'appareil, ou causé par la circulation de l'eau ou tout simplement la stimulation de la languette de plastique peut en être la cause. Ces variations de base ont été estimées à 0,02 N ($\pm 0,01$). Ainsi, les claps produits par les petits pétoncles en dessous de cette force ne peuvent être détectés lors de l'analyse.

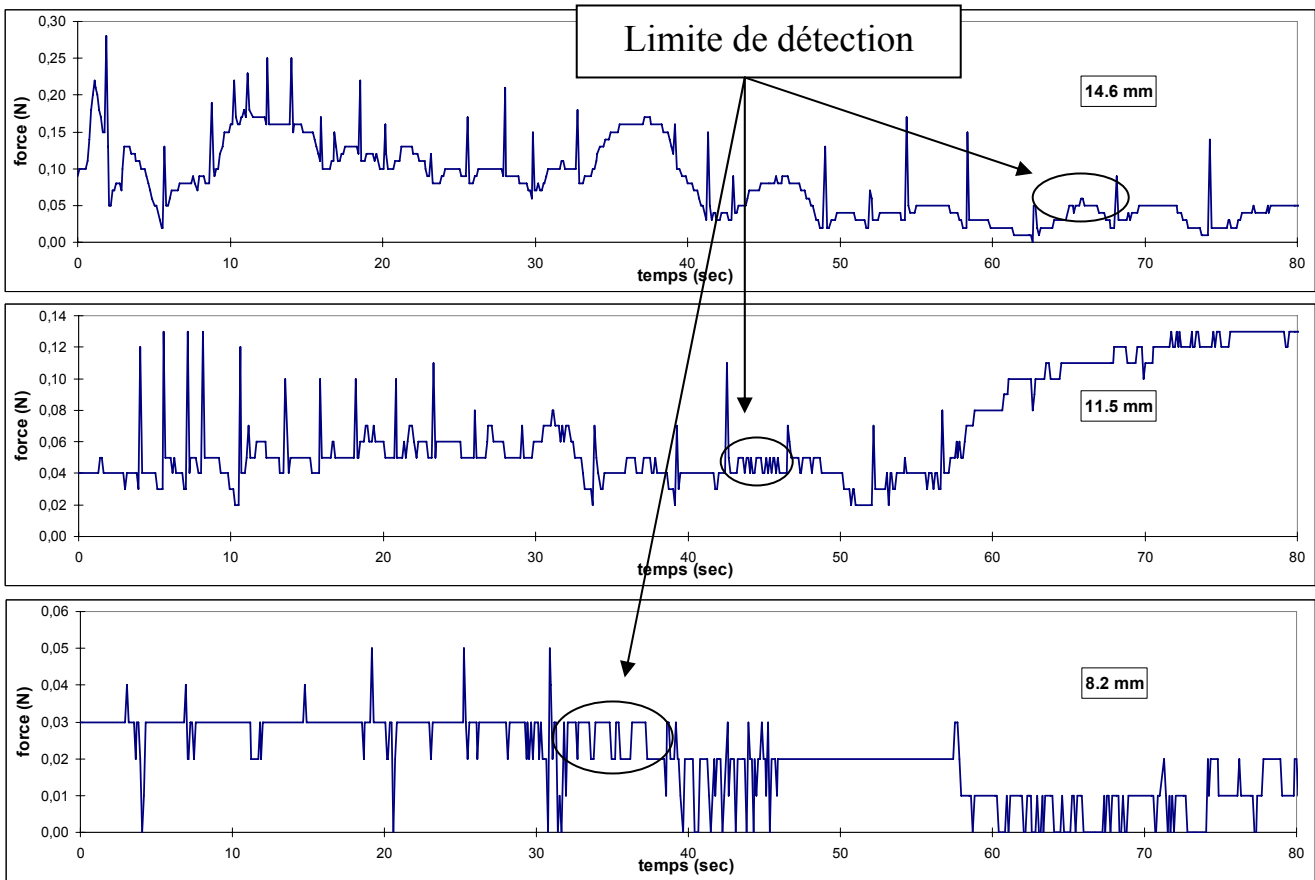


Figure 14. Contractions musculaires enregistrées sur un pétoncle de 15 mm (en haut), 12 mm (au centre) et 8 mm (en bas) avec le dynamomètre Quantrol (50N).

Malgré cette limite de détection, il est possible de dénombrer les claps pour le pétoncle de 12 mm ainsi que la force maximale phasique. Cette tâche est plus complexe pour le pétoncle de 8 mm. Trois claps peuvent être dénombrés dans le graphique ci-dessus mais il est fort possible que de nombreux claps soient détectés lors de l'enregistrement mais se confondent avec le bruit de fond. Une limite de taille inférieure à 10 mm pour la mesure de la vitalité par musculométrie est donc pour l'instant proposée. D'autres approches de mesure devront donc être explorées pour les

pédoncles de plus petites tailles. De plus, la mesure de ces petits pédoncles risque d'être difficile en ce qui concerne l'installation sur la pince et la stimulation.

Des essais ont également été réalisés avec l'appareil Mecmesin 25 N. La plus grande sensibilité de cet appareil semble avoir augmenté l'importance du bruit de fond enregistré. La limite de détection atteint ici $\pm 0,02\text{N}$, ce qui réduit la précision lors du dénombrement des claps (Figure 15). En effet, les claps compris entre 0,03 et 0,04 N ne se distinguent pas. Une plus grande attention aux interférences possibles par l'arrêt de la circulation de l'eau et un travail dans un espace clos pourrait peut-être réduire le brouillage. La précision de l'expérimentateur est également primordiale.

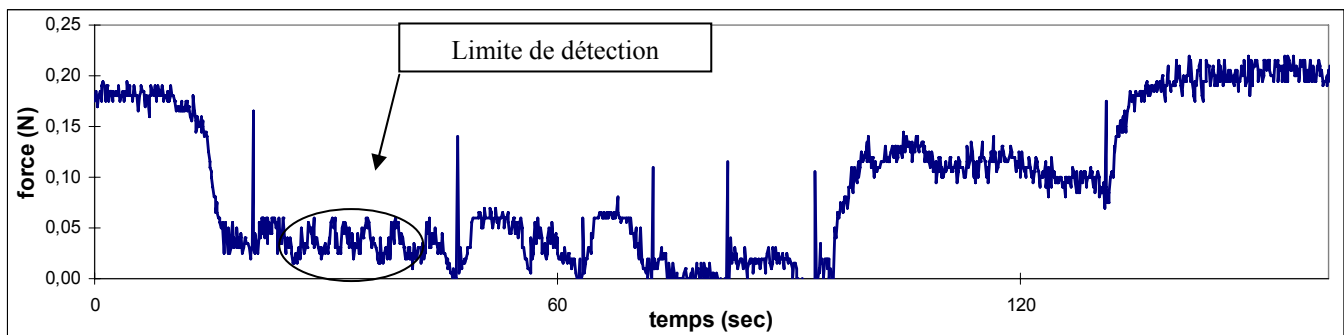


Figure 15. Contractions musculaires enregistrées sur un pédoncle de 15 mm avec le dynamomètre Mecmesin (25N).

Des mesures ont été réalisées sur un groupe de 10 pédoncles de 13 à 15 mm vers la fin juillet. La température des mesures a été fixée à 16°C . La méthode standard décrite en section 3 a été utilisée. Les résultats décrits dans le tableau ci-dessous (Tableau 2) démontrent que le nombre de contractions phasiques, le temps du dernier clap et l'intervalle minimale entre deux claps correspondent aux valeurs obtenues chez les pédoncles de tailles supérieures. Toutefois, les forces maximales phasique et tonique sont beaucoup plus faibles. Ces résultats représentent donc une première série d'informations pour les pédoncles de cette taille.

Tableau 2. Valeurs limites obtenues sur des pédoncles de 13 à 15 mm pour une période d'enregistrement de 5 minutes.

Nb phasique	Force max phasique (N/cm ²)	Temps du dernier clap (s)	Force max tonique (N/cm ²)	Intervalle minimal entre 2 claps (s)	Aire sous la courbe
30	1,6	245	7,8	0,85	1271

5.4. Design expérimental : importance d'un groupe témoin et SOS

Le design expérimental utilisé jusqu'à présent dans les mesures de vitalité comporte un groupe témoin, non stressé, et un ou des groupes ayant subi une situation stressante donnée. La présence d'un groupe témoin est cruciale pour permettre une comparaison et juger si les groupes

expérimentaux sont stressés ou non. Le groupe témoin doit être récupéré avant la situation de stress (par exemple avant une opération de tri en usine) et mis au repos durant au moins 48 heures.

Le design « Stress on Stress » (SOS) permet de mesurer la vitalité sur des pétoncles tel que lors de suivi saisonnier ou lors de suivi de lots de pétoncle en entreposage. Cette approche consiste à faire des mesures en deux temps, soit sur un lot de pétoncle « contrôle » et un lot de pétoncle dont on a imposé un stress. Selon les travaux passés, sans le stress, la première mesure ne présente pas une information suffisamment sensible pour comparer les groupes entre eux. Toutefois, les résultats obtenus après le stress démontrent des différences et témoignent donc davantage des variations de vitalité du pétoncle. Le stress utilisé dans le passé consiste à simuler le traitement des pétoncles destinés à un ensemencement, soit 6 heures d'émersion (dans un milieu humide) suivies de 10 minutes de brassage. Le choix de ce stress « standard » peut donc être revu et simplifié soit par des stress uniquement d'émersion.

Ainsi, à la mi-juillet des comparaisons préliminaires de temps d'émersion de 1, 3 et 6 heures ont été réalisés. Des groupes de 10 pétoncles de 25-35 mm ont été mesurés pour chaque traitement. Les pétoncles ont été mis en émersion un par un, à intervalles de 5 minutes, avec l'objectif qu'ils aient tous approximativement en temps d'émersion équivalent pour un traitement donné. Les mesures ont été faites en suivant la méthode standard décrite en section 3. Les résultats présentés dans les figures ci-dessous (Figure 16) démontrent que la principale différence se situe au niveau du nombre de contractions phasiques. Après une minute de stimulation, les groupes de 1 et 3 heures d'émersion ont un nombre de clap similaires. Toutefois, après 5 minutes, les deux groupes se distinguent davantage révélant une vitalité plus élevée pour le groupe mis en émersion durant 1 heure. Les valeurs d'intervalle minimum entre 2 claps tendent également à refléter l'état de stress des pétoncles avec une augmentation de l'intervalle parallèlement au temps d'émersion. Avec ces premiers essais il nous apparaît raisonnable de conseiller une période d'émersion de 3 heures pour une simulation de SOS sur des pétoncles de 25-35mm.

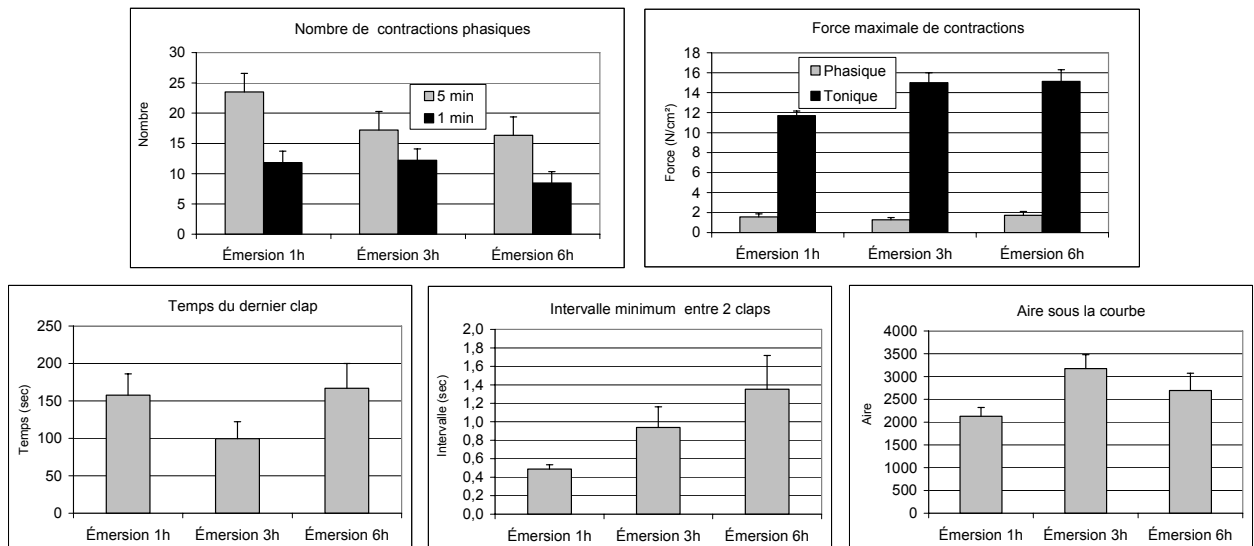


Figure 16. Graphiques représentant les résultats de musculométrie après une période d'émersion de 1, 3 et 6 heures (n=10, ±SE).

6. Conclusion et recommandations

Les tests réalisés dans cette étude permettent de proposer certaines simplifications à la méthode standard :

- 1) Les stimulations à l'aide d'une languette de plastique démontrent des résultats équivalents de ceux obtenus avec une étoile de mer
- 2) Les résultats obtenus à l'eau et dans l'air sont de façon générale similaire sauf pour le nombre de clap. Le choix d'une approche plutôt qu'une autre revient à l'expérimentateur. Pour faciliter les mesures à l'eau, il serait intéressant d'augmenter la dimension du bassin d'environ 50cm dans le sens de la largeur.
- 3) La pince hémostatique est fort pratique pour des mesures à l'air, pour les petits pétoncles et peut-être même pour des pétoncles plus gros car elle permet de bien fixer le pétoncle sans maintien avec le doigt. Elle peut être également moins stressante car elle pénètre moins dans le pétoncle et est donc moins invasive.
- 4) Dans le cas d'un design SOS, une émergence de 3 heures avant de procéder à la seconde série de mesure pourrait être utilisée comme stress standard chez les pétoncles d'environ 30mm. Les tests de durée d'émergence réalisés pour le présent travail ne sont que préliminaires (n=10) et doivent être validés avec un plus grand nombre d'individus.
- 5) Dans l'éventualité où les mesures se feraient à l'air, un design SOS prévoyant un stress d'émergence risque de trop affaiblir le pétoncle pour obtenir des réponses satisfaisantes. Dans cette situation, un stress par brassage pourrait être tenté.
- 6) Il a été possible de récupérer des données de contractions musculaires sur des pétoncles inférieurs à 25mm. Toutefois, il semble que les pétoncles de 10 mm soient à la limite des capacités de mesure. Au-delà de cette taille, les forces musculaires se confondent avec les interférences d'enregistrement. Il est donc impossible de distinguer les claps.

7. Références bibliographiques

- Brokordt, K.B., J.H. Himmelman et H. Guderley 2000 Effect of reproduction on escape responses and muscle metabolic capacities in the scallop *Chlamys islandica* Müller 1776. *J. Exp. Mar. Biol. and Ecol.* 251:205-225.
- Brokordt, K.B., J.H. Himmelman, Nusetti, O. et H. Guderley 2000 Reproductive investment reduces recuperation from escape responses in the tropical scallop *Euvola ziczac*. *Marine Biology* 137:857-865.
- Fleury, P.G., X. Janssoone, M. Nadeau et H. Guderley 2005 Force production during escape responses : sequential recruitment of the phasic and tonic portions of the adductor muscle in juvenile sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin). *J. Shellfish Research* 24 : 905-911.
- Lafrance, M., H. Guderley et G. Cliche 2003 Low temperature, but not air exposure slows the recuperation of juvenile scallops, *Placopecten magellanicus* from exhausting escape responses. *J. Shellfish Research* 21: 605-618.
- Lafrance, M., G. Cliche, G.A. Haugam et H. Guderley. 2003 Comparison of cultured and wild sea scallops, *Placopecten magellanicus* (Gmelin 1791) using behavioral responses, morphometric and biochemical indices. *Marine Ecology Progress Series*, 250: 183-195.

