

Les
publications
de la Direction de l'innovation
et des technologies

Rapport de recherche-développement

N° 162

**Adaptation d'un outil de mesure
de la vitalité du pétoncle par
musculométrie à des fins
d'activités pectinicoles**

Madeleine Nadeau
Xavier Janssoone
Helga Guderley

**Adaptation d'un outil de
mesure de la vitalité du
pédoncle par musculométrie
à des fins d'activités
pectinicoles**

Rapport de recherche-
développement n° 162

Madeleine Nadeau
Xavier Janssoone
Helga Guderley

Réalisation

Marc Veillet, responsable du bureau d'édition
Julie Rousseau, agente de secrétariat

Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
Bureau d'édition - DIT
96, montée de Sandy Beach, bureau 2.05
Gaspé (Québec) G4X 2V6
publications.dit@mapaq.gouv.qc.ca

Pour une version gratuite (fichier pdf) de ce document, visitez notre site Internet à l'adresse suivante :
[http ://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Peches/md/Publications/](http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Peches/md/Publications/) ou écrire à l'adresse de courriel ci-dessus.

ISBN (version imprimée) : 978-2-550-52090-0
ISBN (version PDF) : 978-2-550-52091-7

Dépôt légal – Bibliothèque et archives nationales du Québec, 2008

Adaptation d'un outil de mesure de la vitalité du pétoncle
par musculométrie à des fins d'activités pectinicoles
Madeleine Nadeau¹, Xavier Janssoone², Helga Guderley²

1. CeMIM, Cap-aux-Meules

2. Département de biologie, Université Laval, Québec

On doit citer ce document comme suit : Nadeau, M., X. Janssoone, H. Guderley. 2008. Adaptation d'un outil de mesure de la vitalité du pétoncle par musculométrie à des fins d'activités pectinicoles. MAPAQ, DIT. Rapport de R-D n° 162. 12 pages.

Résumé

La vitalité des pétoncles est une variable importante à considérer au cours des procédés d'élevage et lors de transferts vers les marchés ou vers d'autres sites de grossissement. Ainsi, une évaluation de la vitalité via des indicateurs simples pourrait améliorer la performance des entreprises. Ce document décrit donc une approche d'évaluation de la vitalité du pétoncle géant à partir d'un dynamomètre. Cet outil permet de mesurer le comportement de fuite du pétoncle suite à un stress. L'information récoltée peut s'appliquer directement à la capacité de fuite de l'animal face à un prédateur lors d'un ensemencement. La réponse musculaire est également un indicateur important de l'état physiologique général de l'animal. Le document propose également certains ajustements à la méthode standard afin d'utiliser l'outil directement sur le terrain. Parmi ceux-ci mentionnons l'utilisation d'une languette de plastique à la place de la traditionnelle étoile de mer de même que l'utilisation d'une pince hémostatique pour des mesures à l'air, car elle permet de bien fixer le pétoncle sans maintien avec le doigt. Il a également été possible de mesurer la vitalité sur des pétoncles de 10-25mm. Ce guide présente donc un aperçu général de l'outil de mesure et propose certains conseils sur son utilisation.

Abstract

Scallops vitality is an important component to care for during the culture process and transportation to markets or to other growing sites. Therefore, the development of a simple tool to evaluate the scallop vitality could improve the industry performance. This paper describes a technique using a mechanical dynamometer. This tool can register the escaping response of scallops induced by a predator. The muscular responses recorded are a good indicator of the physiological status of the animal. Some adjustments to the standard approach developed in the past are also proposed to facilitate its use in the field. Among these improvements is the replacement of the predatory sea star by a simple plastic rod. An hemostatic plier is also proposed to ease the measurements in air as it can hold the scallop lower shell tightly. Some trials showed that vitality could be measured on juvenile scallops as small as 10-25 mm. Thus, this paper provides a general survey of the technique and proposes some practical advices for its use.

Mots-clés

Pétoncle, vitalité, aquaculture

Key Words

Scallop, vitality, aquaculture

Table des matières

1. Introduction.....	1
2. Description du matériel de base	1
3. Méthode de mesure standard.....	2
4. Mode de traitement des données	4
4.1 Choix des informations à traiter	4
4.2 Valeurs limites de musculométrie	4
4.3 Correction des valeurs en fonction de la taille du muscle	5
5. Méthode de mesure simplifiée.....	5
5.1 Étoile de mer vs mécanique	5
5.2 Eau vs air.....	6
5.3 Pétoncles de taille supérieure à 25 mm.....	7
5.4 Design expérimental : importance d'un groupe témoin et SOS.....	9
6. Conclusion et recommandations	10
7. Références bibliographiques	10

ANNEXE 1

Exemple de la feuille de compilation de données	11
---	----

Liste des figures

Figure 1. Crochet et pince utilisés pour les mesures	2
Figure 2. Système de mesure de musculométrie.....	2
Figure 3. Exemples d'écartement des valves pour des pétoncles de 12 à 15 mm	2
Figure 4. Relation entre la taille des pétoncles et la distance d'écartement des valves	3
Figure 5. Mise en place du pétoncle en vue des enregistrements	3
Figure 6. Méthode utilisée pour maintenir le pétoncle en place lors des enregistrements.....	3
Figure 7. Mode de stimulation avec une étoile de mer.....	3
Figure 8. Muscles strié et lisse	4
Figure 9. Exemple d'un enregistrement des contractions musculaires à l'aide du logiciel Dataplot	5
Figure 10. Corrélation entre la taille des pétoncles et la taille du muscle	5
Figure 11. Mode de stimulation mécanique	6
Figure 12. Graphiques représentant les résultats de musculométrie pour une stimulation avec étoile de mer et une stimulation mécanique	6
Figure 13. Pince hémostatique utilisée pour fixer les pétoncles lors des mesures à l'air	7
Figure 14. Graphiques représentant les résultats de musculométrie pour des stimulations dans l'air et dans l'eau	7
Figure 15. Contractions musculaires enregistrées sur des pétoncles de 15 mm, de 12 mm et de 8 mm avec le dynamomètre Quantrol.....	8
Figure 16. Contractions musculaires enregistrées sur un pétoncle de 15 mm avec le dynamomètre Mecmesin.....	8
Figure 17. Graphiques représentant les résultats de musculométrie après une période d'émersion de 1, de 3 et de 6 heures	9

Liste des tableaux

Tableau 1. Valeurs limites obtenues chez des groupes contrôles, toutes tailles confondues pour une période d'enregistrement de 10 minutes.....	5
Tableau 2. Valeurs limites obtenues sur des pétoncles de 13 à 15 mm pour une période d'enregistrement de 5 minutes.....	9

Adaptation d'un outil de mesure de la vitalité du pétoncle par musculométrie à des fins d'activités pectinicoles

1. Introduction

Pour avoir du succès en aquaculture, il faut s'assurer que les animaux en élevage soient maintenus dans des conditions favorisant une production maximale. Pour ce faire, on doit développer des technologies et des conditions d'élevage et de 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 (c'est-à-dire simples, rapides et peu coûteux) pour évaluer l'état des individus en élevage. Sans de tels outils, 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 individus 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 préoccupation constante dans ces processus d'élevage, que ce soit en cours d'élevage en suspension ou lors de 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 (par exemple, sensoriel ou 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) et de Brokordt *et al.* (2000a,b) ont démontré que les réponses de fuite changeaient selon l'état physiologique des pétoncles. En 2003, un projet mené par Helga Guderley, Ph. D, de l'Université Laval, dans le cadre du Réseau Aquaculture Québec (RAQ) visait à 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'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (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 de valider cette approche dans le contexte des opérations pectinicoles. La validation s'est faite à partir des réponses de suite des pétoncles 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 document 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 document propose également certains ajustements à la méthode standard afin d'appliquer l'outil dans le cadre de projets de recherche appliquée ou lors de mesures réalisées directement dans les entreprises en soutien à l'amélioration des pratiques pectinicoles. Lors de l'élaboration de l'outil, diverses manipulations et analyses ont été réalisées afin de revoir certaines approches dont la nécessité de procéder à des mesures dans 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 25 mm 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 musculomètre et 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 propriété de la compagnie Mecmesin¹. Un appareil Mecmesin AFG25 N, avec une limite de 25 N, a été utilisé pour la plupart des présents travaux. Selon les besoins, il est possible de choisir différentes sensibilités de force lors de l'achat (de 2,5 N à 1000 N). Un appareil allant jusqu'à 50 N permet l'évaluation de pétoncles adultes développant des forces de 30 N. 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 $\pm 0,0025\text{N}$ pour le modèle AFG25 N). Une extension en acier inoxydable de 13 cm 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 musculomètre. Le crochet a été fixé à l'extension par deux boulons. Le dynamomètre muni de son extension, est monté sur le support MDD—*Manual Test Stand* de Mecmesin. Cet appareil est muni d'une vis sans fin qui permet de faire varier la position verticale du dynamomètre. Un bloc de bois (d'environ 4 cm d'épaisseur) a

1. www.mecmesin.com

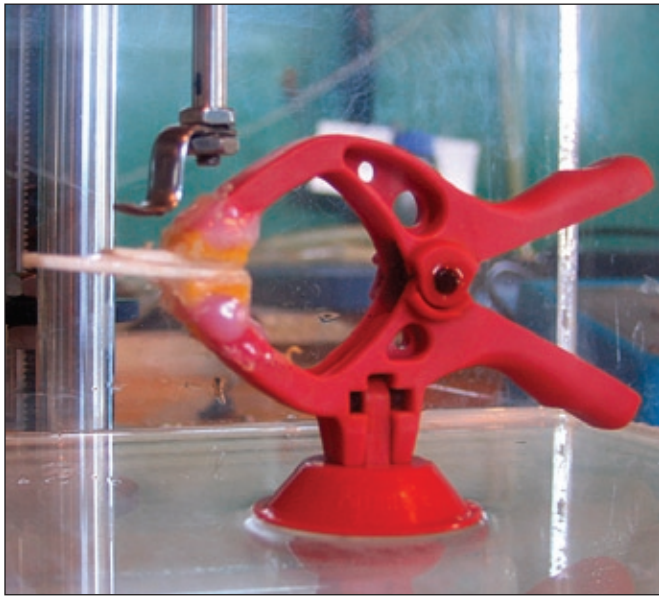


Figure 1. Crochet et pince utilisés pour les mesures

été ajouté 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.

Le bassin consiste en un aquarium en plexiglas d'une capacité d'une dizaine de litres et mesure approximativement 30 cm de long × 30 cm de large × 15 cm de haut. Le fait que les parois soient transparentes facilite les mesures et l'observation du pétoncle. 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 et celui servant à la 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 50 mm, la pince peut être positionnée dans le centre du bassin pour faciliter la manipulation. Pour des pétoncles de taille supérieure (et donc de plus grande force), 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.

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 (RS-232 à neuf connecteurs) 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 sont traitées ultérieurement avec le logiciel *Excel*. Un aperçu de l'ensemble du système une fois monté est présenté en figure 2.

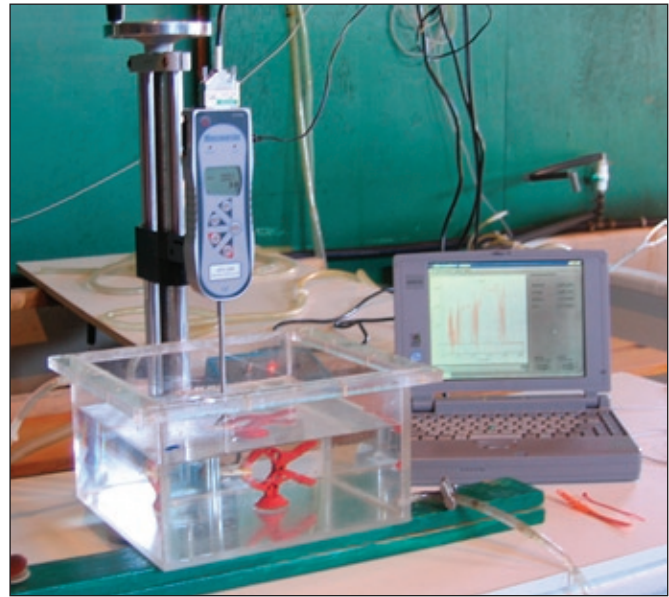


Figure 2. Système de mesure de musculométrie

3. Méthode de mesure standard

Avant de débuter les mesures, il est important de contrôler l'écartement entre la pince et le crochet plat pour éviter de blesser le muscle des animaux et également éviter l'enregistrement d'une tension de base. Nous avons défini des écartements standards en observant les ouvertures naturelles de pétoncles en filtration (figure 3). Il a été également possible d'établir une corrélation entre la taille du pétoncle et la distance d'écartement des valves (figure 4).



Figure 3. Exemple d'écartement des valves pour des pétoncles de 12 à 15 mm

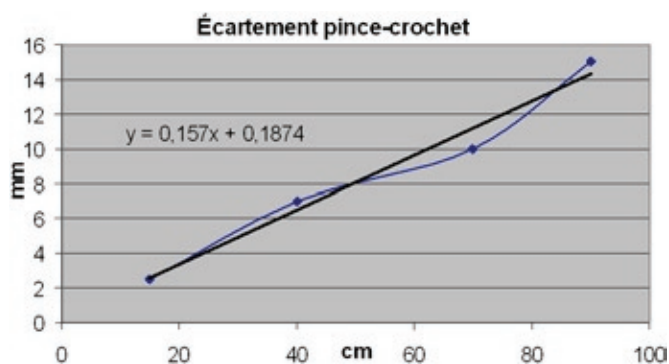


Figure 4. Relation entre la taille des pétoncles et la distance d'écartement des valves

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

Au moment des mesures, le pétoncle doit être transféré rapidement entre le bassin d'entreposage et celui de mesure. Durant le transfert, l'expérimentateur doit entrouvrir les valves du pétoncle 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 pétoncle est alors appuyée sur le crochet plat et la valve inférieure est lentement écartée en refermant le crochet du bas (figure 5). Il est important que les extrémités du crochet et de la pince ne soient pas trop insérées dans le pétoncle pour ne pas occasionner de blessures au manteau. Une fois le pétoncle fixé, on doit le maintenir en place en appuyant un doigt derrière la charnière (figure 6). On s'assure ainsi que le pétoncle ne se dégage pas de la pince et se maintienne à l'horizontale. En effet, sans le maintien du doigt, le pétoncle a tendance à se mettre en position oblique en raison 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 5. Mise en place du pétoncle en vue des enregistrements



Figure 6. Méthode utilisée pour maintenir le pétoncle 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 7). 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 deux 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 7. Mode de stimulation avec une étoile de mer

Il est préférable de prévoir une équipe de deux personnes pour prendre les mesures. La première personne se concentre sur le pétoncle et sa 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 les membres d'une équipe suivant l'évaluation de 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

À la suite de la prise des mesures, le *z 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 transférer les données dans *Excel* (par une commande « copier/coller »). Lorsque toutes les données ont été transférées dans *Excel*, il importe de remplacer tous les points par des virgules, en fonction 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 produire 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, c'est-à-dire le muscle de plus grande taille tandis que les contractions toniques sont réalisées par le muscle lisse, de plus petite taille (figures 8 et 9).

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)

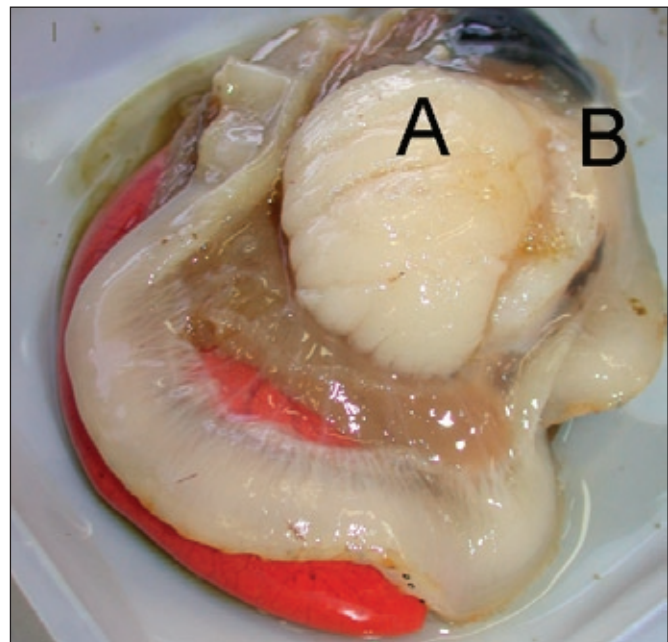


Figure 8. Muscles strié (A) et lisse (B)

Le document de Fleury *et al.* (2005) présente une variété de données 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, voire même 10 secondes). Les forces maximales générées par les muscles phasique et tonique sont des données également intéressantes et simples à extraire. 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 générera un graphique dont l'aire sous la courbe sera 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 contrôlés (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 à 35 mm pouvaient produire jusqu'à 80 claps après environ 1 minute d'enregistrement (données non publiées).

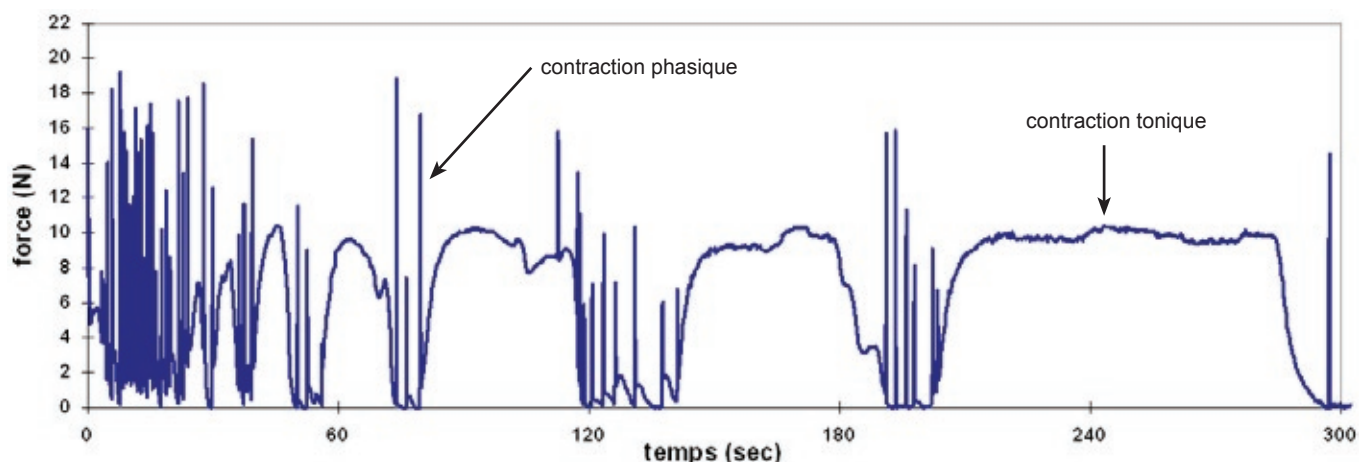


Figure 9. Exemple d'un enregistrement des contractions musculaires à l'aide du logiciel Dataplot

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 à 45	3 à 6	10 à 20	0,2 à 1

Les travaux ont également démontré une diminution de la plupart des valeurs entre des pétoncles de 35 à 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 deux 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 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 8). 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 (1 mm) 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 les pétoncles dont les tailles sont inférieures à 40 mm, 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.

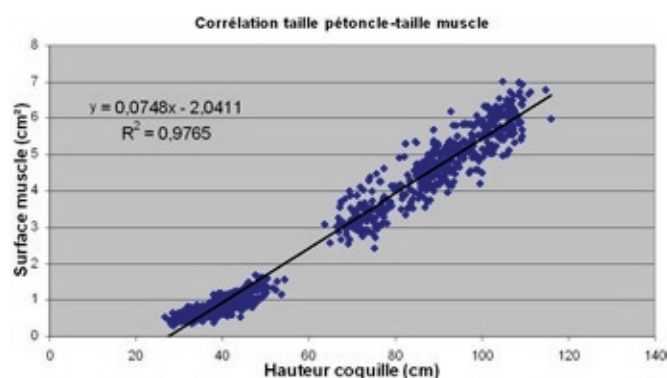


Figure 10. Corrélation entre la taille des pétoncles et la taille du muscle

Grâce aux centaines de mesures effectuées lors des travaux de musculométrie, on a mis en évidence une corrélation entre la taille des pétoncles et la surface d'attachement des muscles de ces derniers (figure 10). 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 recherche-développement 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 pétoncle correspondant. Il a

donc été estimé utile de proposer une simplification en remplaçant l'étoile par 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. La méthode standard décrite dans la section 3 a généralement été suivie. Les mesures ont été faites dans une eau à près de 16°C. Trente pétoncles de 25 à 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 (figure 11). Pour un traitement donné, les expérimentateurs ont réalisé les mesures à tour de rôle afin d'éviter un biais causé par l'expérimentateur.

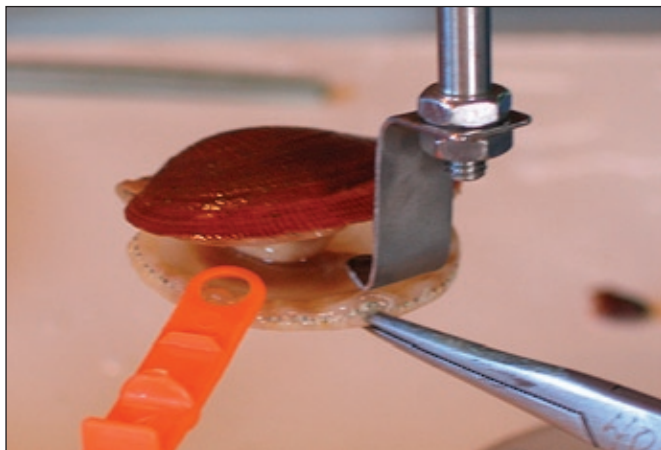


Figure 11. Mode de stimulation mécanique

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 12). En effet, les graphiques suivants montrent bien que, quels que soient les paramètres observés, les valeurs sont sensiblement les mêmes. On peut donc remplacer l'étoile de mer par la languette de plastique sans risquer d'affecter les données.

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 son 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 dans 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 à 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, on a dû utiliser un système de pince différent : une pince hémostatique (matériel de chirurgie) dont les dents de la face intérieure avaient préalablement été meulées. Cette pince a été directement fixée sur le support à dynamomètre (Figure 13).

L'analyse du nombre de contractions phasiques démontre une valeur plus élevée dans l'eau (40 claps) que dans l'air (30 claps) (figure 14). Cette différence est toutefois plus faible après une minute d'enregistrement, soit 18 claps dans l'air comparativement à 21 claps dans l'eau. La différence après 5 minutes peut s'expliquer par le stress d'émersion. Également, le temps du dernier clap est, tel qu'on l'avait prévu, plus élevé dans l'eau (250 s) que dans l'air (200 s).

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

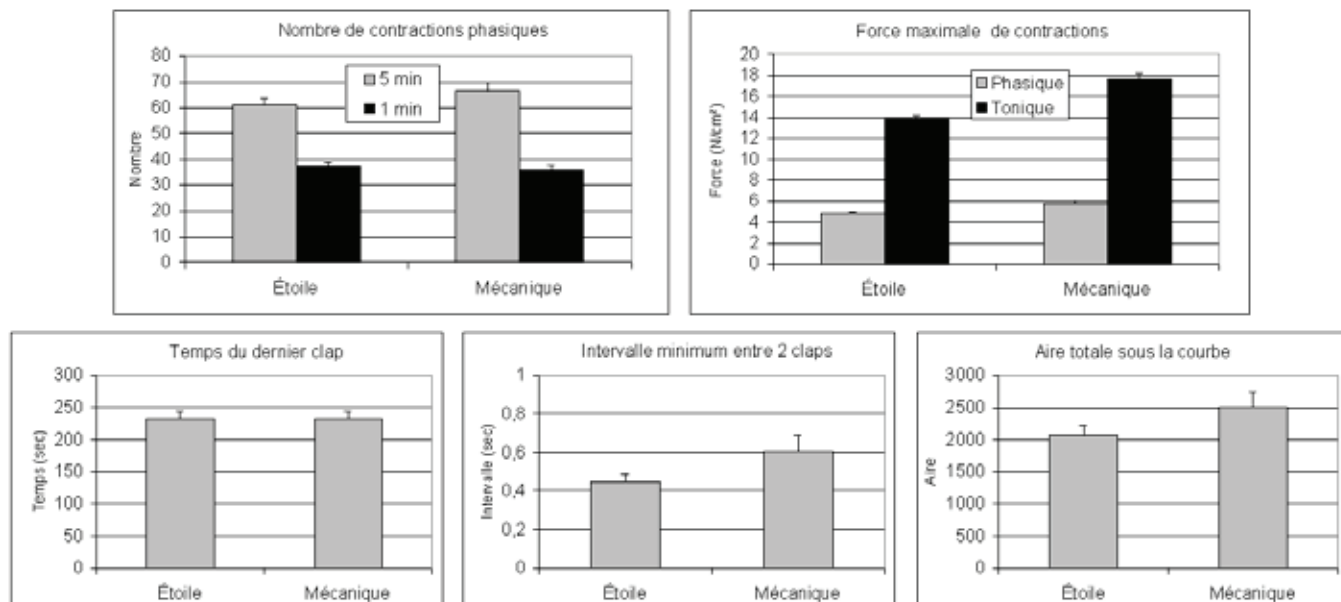


Figure 12. Graphiques représentant les résultats de musculométrie pour une stimulation avec étoile de mer et une stimulation mécanique (n=30, ±SE)

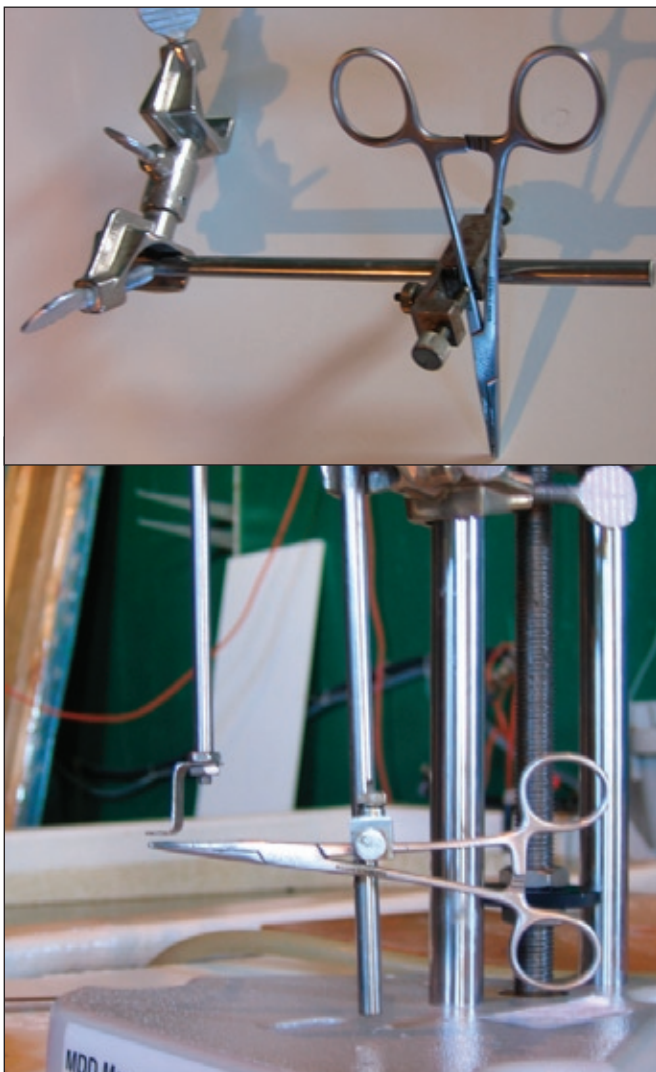


Figure 13. Pince hémostatique utilisée pour fixer les pétoncles lors des mesures à l'air

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 du point de vue de la force maximale phasique et de l'intervalle minimum entre deux claps. Les mesures dans l'eau et dans l'air se distinguent principalement en ce qui concerne le 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 l'ont été dans ce milieu. Au cours de l'étude, il était également important 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. Les 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 de taille supérieure à 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 de taille inférieure 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 exigent toutefois une certaine concentration et une grande délicatesse pour ne pas toucher la pince ou la coquille lors des stimulations, ce qui cause inévitablement des artefacts.

La figure 15 présente les premiers résultats obtenus à l'aide du dynamomètre Quantrol 50N pour trois tailles données. Ces graphiques démontrent que le pétoncle de 15 mm réalise des contractions musculaires qui peuvent être enregistrées et traitées. Les enregistrements produits par les pétoncles de taille

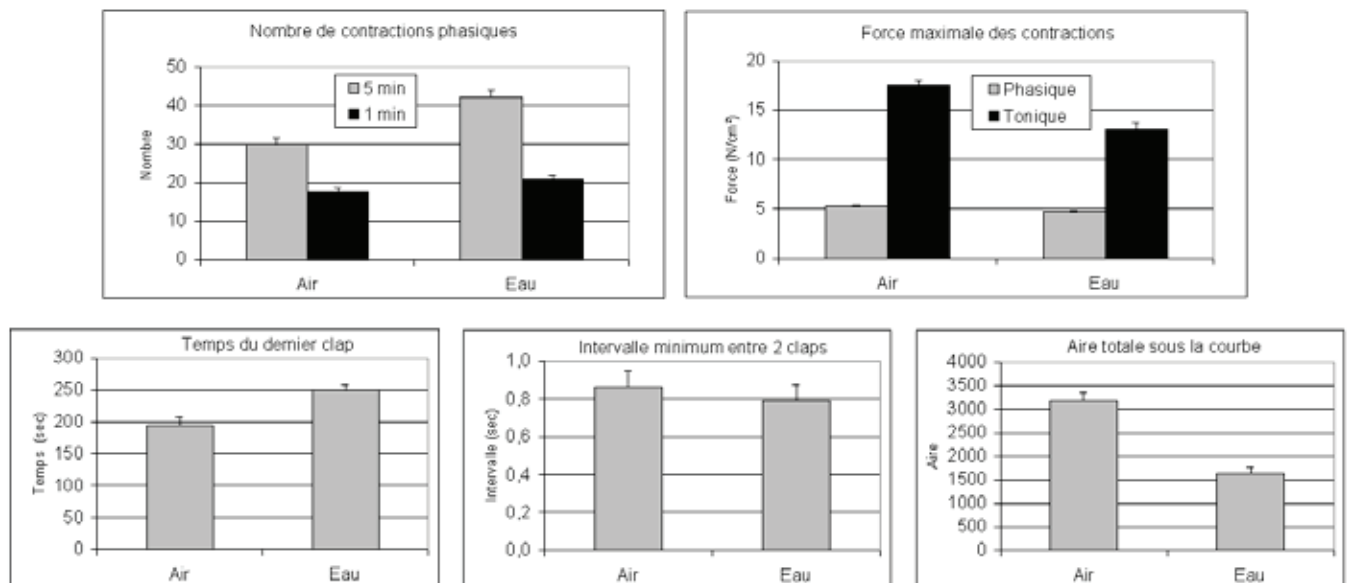


Figure 14. Graphiques représentant les résultats de musculométrie pour des stimulations dans l'air et dans l'eau (n=30, ±SE)

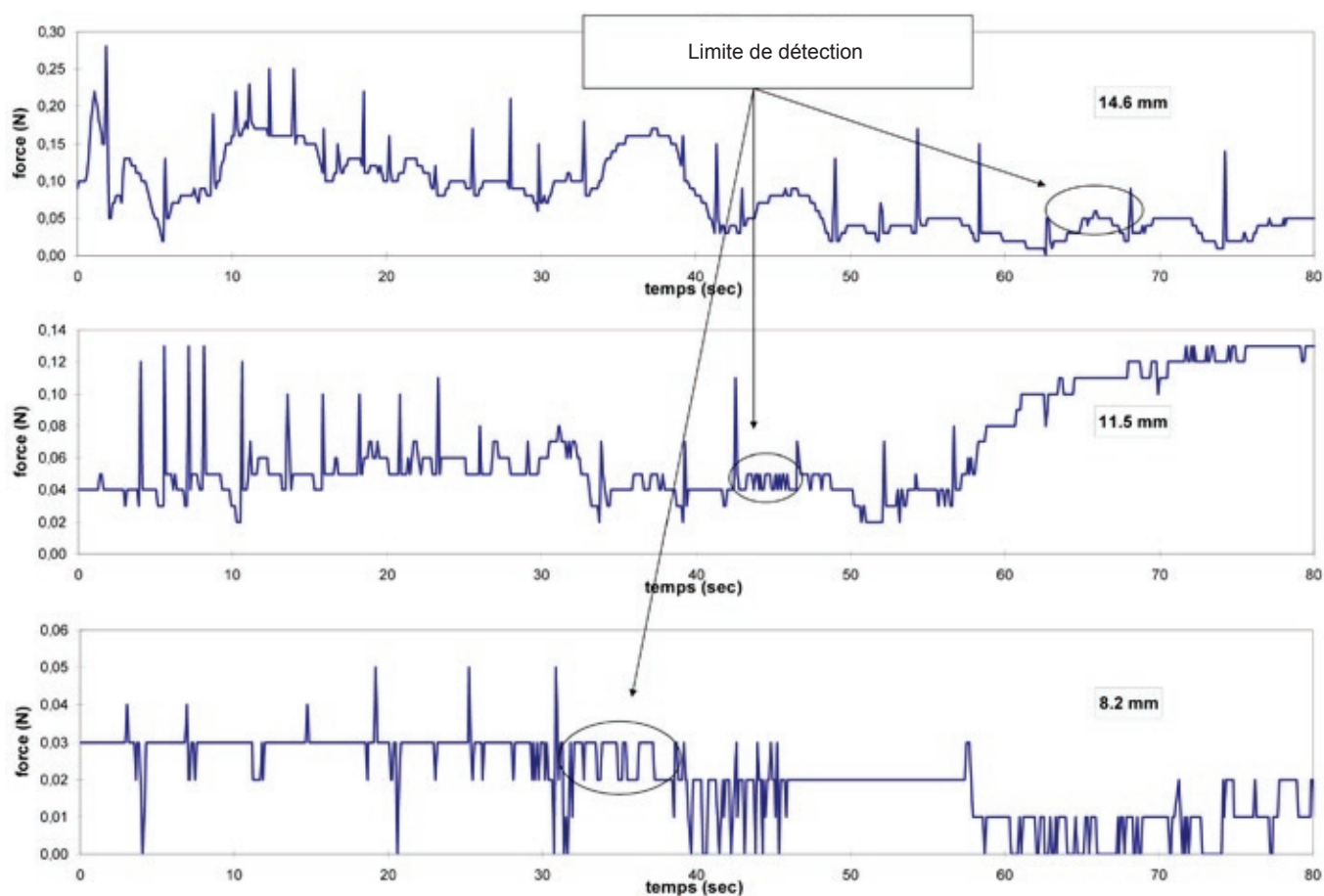


Figure 15. Contractions musculaires enregistrées sur des pétoncles de 15 mm (en haut), de 12 mm (au centre) et de 8 mm (en bas) avec le dynamomètre Quantrol (50 N)

inférieure à 15 mm ne sont pas utilisables étant donné le degré de précision de l'appareil de mesure. En effet, 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 brouille la donnée de force. Ces variations de base ont été estimées à $\pm 0,01$. C'est pourquoi les claps produits par les petits pétoncles en dessous de cette force ne peuvent être détectés lors de l'analyse.

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 a été plus complexe pour l'individu de 8 mm. Trois claps peuvent être dénombrés (figure 15, bas) mais il est fort possible que de nombreux claps détectés

lors de l'enregistrement 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 pétoncles de taille inférieure. De plus, la mesure de vitalité chez ces petits individus risque d'être difficile en ce qui concerne leur installation sur la pince et leur 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 $\pm 0,02$ N, ce qui réduit la précision lors du dénombrement des claps (figure 16). Une plus grande attention aux interférences possibles par l'arrêt de la circulation

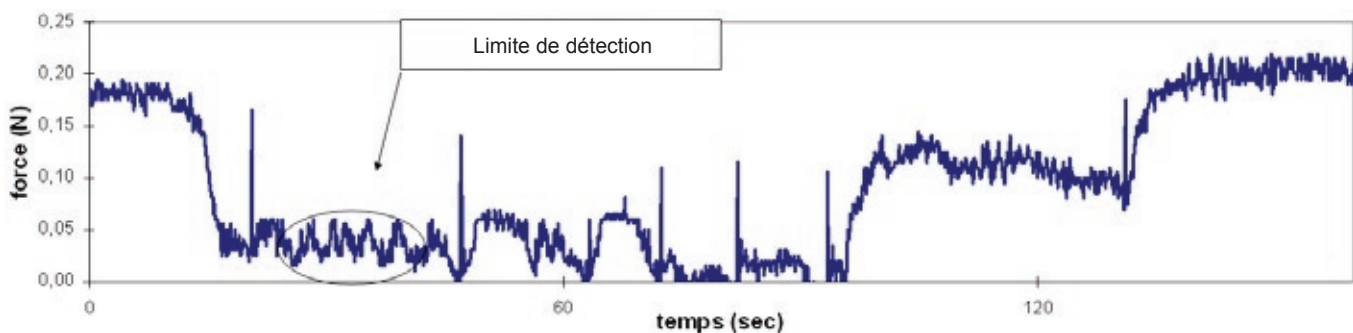


Figure 16. Contractions musculaires enregistrées sur un pétoncle de 15 mm avec le dynamomètre Mecmesin (25 N)

Tableau 2. Valeurs limites obtenues sur des pétoncles 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

de l'eau et un travail dans un espace clos pourrait peut-être réduire le brouillage. La précision de l'expérimentateur est également primordiale.

Des mesures ont été réalisées sur un groupe de dix pétoncles 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-dessus (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 pétoncles de taille supérieure. Toutefois, les forces maximales phasique et tonique sont beaucoup plus faibles. Ces résultats représentent donc une première série de données pour les pétoncles de cette taille.

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 donnée 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 six heures d'émersion (dans un milieu humide) suivies de dix 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 une, trois et six heures ont été réalisés. Des groupes de dix pétoncles de 25 à 35 mm ont été mesurés pour chaque traitement. Les pétoncles ont été mis en émersion un par un, à intervalles de cinq minutes, avec l'objectif qu'ils subissent tous approximativement un 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 17) démontrent que la principale différence se situe dans le nombre de contractions phasiques. Après une minute de stimulation, les groupes de une et de trois heures d'émersion ont un nombre de claps similaires. Toutefois, après cinq minutes, les deux groupes se distinguent davantage révélant une vitalité plus élevée pour le groupe mis en émersion durant une heure. Les valeurs d'intervalle minimum entre deux 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 trois heures pour une simulation de SOS sur des pétoncles de 25 à 35 mm.

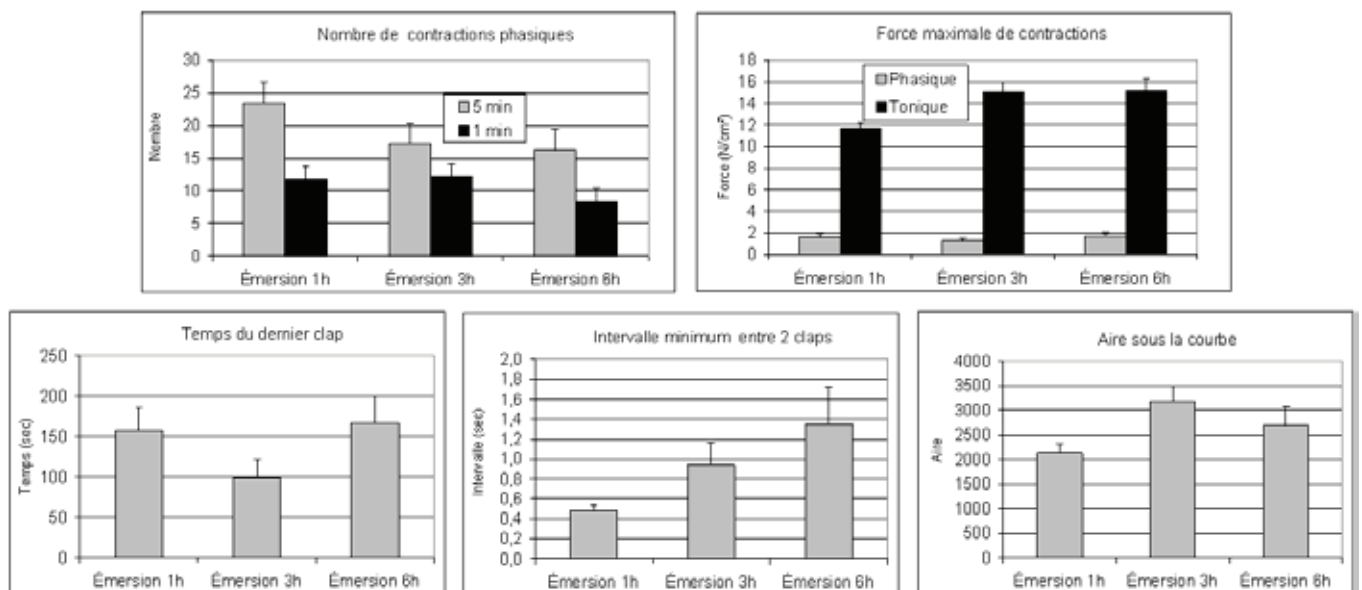


Figure 17. Graphiques représentant les résultats de musculométrie après une période d'émersion de 1, de 3 et de 6 heures (n=10, ±SE)

6. Conclusion et recommandations

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

Les stimulations à l'aide d'une languette de plastique démontrent des résultats équivalents à ceux obtenus avec une étoile de mer.

Les résultats obtenus dans l'eau et dans l'air sont de façon générale similaires sauf pour le nombre de claps. 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 50 cm dans le sens de la largeur.

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.

Dans le cas d'un design SOS, une émergence de trois heures avant de procéder à la seconde série de mesure pourrait être utilisée comme stress standard chez les pétoncles d'environ 30 mm. 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.

Dans l'éventualité où les mesures se feraient dans 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.

Il a été possible de récupérer des données de contractions musculaires sur des pétoncles inférieurs à 25 mm. 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 nettement les claps.

7. Références bibliographiques

- Brokordt, K. B., J. H. Himmelman, H. Guderley. 2000a. 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, O. Nusetti, H. Guderley. 2000b. 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, 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, G. Cliche. 2003a. 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, H. Guderley. 2003b. 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.

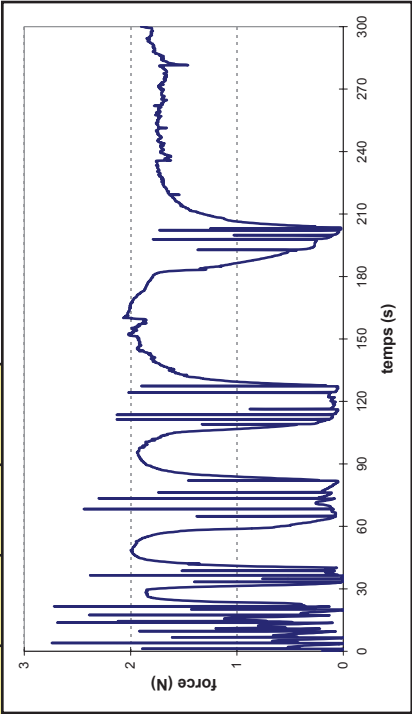
ANNEXE 1

Exemple de la feuille de compilation de données

Annexe 1. Exemple de la feuille de compilation de données

Musculométrie											
Espèce	Placopecten										
Lot	2 ans										
Effectif	n = 30										
Date	01-juil-06										
Agents	XJ-LS-MN										
	temps (s)	n°1	n°2	n°3	n°4	n°5	n°6	n°7	n°8	n°9	n°10
	0,00	0,20									
	0,11	0,15									
	0,22	0,10									
	0,33	0,05									
	0,49	0,02									
	0,60	0,01									
	0,71	0,00									
	0,82	0,00									
	0,93	0,02									
	1,04	0,01									
	1,15	0,01									
	1,26	1,89									
	1,42	0,41									
	1,53	0,41									
	1	43									

The graph displays force in Newtons (N) on the y-axis (0 to 3) against time in seconds (s) on the x-axis (0 to 120). A red curve starts at (0,0), rises to a peak of approximately 2.5 N at 0.43 seconds, and then gradually declines. A red arrow points to the peak of the curve. The background of the graph area is divided into a grid with yellow vertical bands.



n° individu	Hauteur (mm)	aire attachement muscle phasique (cm²)	aire attachement muscle tonique (cm²)	nb phas totaux (sec)	Nb phas 1 mn (sec)	Fmax Phas (N)	Fmax Phas corrigée (N/cm²)	Fmax Ton (N)	Fmax Ton corrigée (N/cm²)	Tps du dernier claps (sec)	Intervalle Min entre 2 claps (sec)	Aire totale	Aire totale corrigée (Aire/cm²)	Aire 1 min	Aire 1 min corrigée (Aire/cm²)
1	34,39	0,4756081	0,09968513	30	14	2,74	5,7610457	2,060	20,665	203	0,66	381	3822,03444	61	611,926774
2	37,16	0,456627	0,1169324	33	24	2,66	5,82532351	2,090	17,874	125	0,44	430	3677,33836	26	222,350692
3	36,84	0,6498432	0,1337459	21	12	3,31	5,09353641	2,760	20,636	296	0,72	549	4104,79873	106	792,547659
4	34,85	0,6199324	0,1586851	34	17	3,54	5,71030003	2,010	12,667	247	1,98	139	875,948656	20	126,035778
5	33,63	0,5544649	0,1242662	38	19	3,19	5,75329475	2,270	18,267	232	0,61	312	2510,73904	47	378,220304
6	36,02	0,5480716	0,1535905	45	24	3,55	6,47725589	2,270	14,780	162	0,44	436	2838,71724	34	221,367858
7	35,9	0,6954122	0,1689959	33	9	2,7	3,88258935	2,290	13,551	278	0,66	394	2331,41751	44	260,361346
8	34,27	0,732354	0,1387311	27	23	3,04	4,15099801	2,160	15,570	121	0,82	480	3459,93076	36	259,494807
9	34,29	0,530927	0,122677	28	19	2,73	5,14194983	2,150	17,526	139	0,55	438	3570,35141	62	505,392209
10	37,57	0,479823	0,127173	22	11	2,41	5,02288545	1,840	14,468	203	1,26	321	2524,12069	34	267,352347
Effectifs	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Moyennes	35,49	0,57	0,13	31,10	17,20	2,99	5,28	2,19	16,60	200,60	0,81	388,00	2971,54	47,00	364,50
E-types	1,39	0,10	0,02	7,22	5,53	0,40	0,80	0,24	2,82	62,87	0,47	112,20	962,31	24,81	209,06
IC95	0,86	0,06	0,01	4,47	3,43	0,25	0,49	0,15	1,75	38,97	0,29	69,54	596,43	15,38	129,57
Min	33,63	0,46	0,10	21,00	9,00	2,41	3,88	1,84	12,67	121,00	0,44	139,00	875,95	20,00	126,04
Max	37,57	0,73	0,17	45,00	24,00	3,55	6,48	2,76	20,67	296,00	1,98	549,00	4104,80	106,00	792,55

