

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET ENVIRONNEMENTS
SPÉCIALITÉ GÉOCHIMIE ET ÉCOTOXICOLOGIE

PAR MOHCINE CHARIFI

**Etude de l'impact de la pollution sonore chez un invertébré marin, l'huître
Magallana gigas. Approches écophysiological, écotoxicologique et
éthologique au laboratoire et sur le terrain**

SOUS LA DIRECTION DE : JEAN-CHARLES MASSABUAU

SOUTENUE LE 21-09-2018

MEMBRES DU JURY :

M. ANTOINE GRÉMARE, PROFESSEUR, UNIVERSITÉ DE BORDEAUX	PRÉSIDENT
M. OLIVIER ADAM, PROFESSEUR, SORBONNE UNIVERSITÉ	RAPPORTEUR
M. PACO BUSTAMANTE, PROFESSEUR, UNIVERSITÉ DE LA ROCHELLE	RAPPORTEUR
MME CATHERINE MOUNEYRAC, PROFESSEURE, UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE L'OUEST	EXAMINATRICE
M. BENOIT SAUTOUR, PROFESSEUR, UNIVERSITÉ DE BORDEAUX	EXAMINATEUR
M. JEAN-CHARLES MASSABUAU, DIRECTEUR DE RECHERCHE ÉMÉRITE, CNRS	DIRECTEUR DE THÈSE

**Etude de l'impact de la pollution sonore chez un invertébré marin, l'huître
Magallana gigas. Approches écophysiologique, écotoxicologique et éthologique
au laboratoire et sur le terrain**

Mohcine Charifi, 2018, Université de Bordeaux.

À mes parents
À mes sœurs
À Yasser et Mustafa

À la mémoire de mes grands parents

REMERCIEMENTS

Ce fut une expérience très enrichissante. Enfin, nous y voici !

Une thèse, c'est bien sûr un travail de longue haleine. C'est une période où on se pose beaucoup de questions et où on est souvent face à des obstacles techniques et intellectuels. Les solutions sont rarement simples et linéaires. Mais avec l'aide des personnes passionnées dans leur projet et leurs spécialités, on peut franchir ces barrières et faire de belles découvertes. Ces années de thèse m'ont permis de développer des qualités et des compétences qui je pense me seront bénéfiques. Je remercie tous ceux et celles qui m'ont aidé à la réalisation de cette thèse et qui m'ont permise d'en arriver là.

Je souhaite remercier en premier lieu mon directeur de thèse, M. Jean-charles Massabuau, directeur de recherche au sein de la station marine d'Arcachon pour m'avoir accueilli au sein de son équipe. Je lui suis également reconnaissant pour le temps conséquent qu'il m'a accordé (manips, corrections, articles, nos discussions . . .), ses qualités pédagogiques et sa rigueur scientifique, ses conseils avisés et son écoute, sa sympathie, sa patience et sa disponibilité malgré ses nombreuses charges. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse toute ma gratitude et ma reconnaissance pour tout cela.

J'associe à ces remerciements Mme Soumaya Benomar, Professeure à la faculté des sciences de Rabat pour avoir initié ce projet avec M. Massabuau et à qui j'adresse toute ma gratitude et ma reconnaissance.

Je voudrais remercier les rapporteurs de cette thèse, M. Olivier Adam, Professeur à l'Institut Jean le Rond d'Alembert (Sorbonne Université/CNRS) et membre de l'équipe Lutheries-Acoustique-Musique (LAM), et M. Paco Bustamante, Professeur à l'université de La Rochelle et membre de l'équipe AMAR, pour l'intérêt et pour le temps qu'ils ont accordés à la lecture de cette thèse et à l'élaboration de leur rapport.

J'associe à ces remerciements M. Antoine Grémare, Professeur des Universités, directeur de la station marine d'Arcachon et président du jury de thèse, Mme Catherine Mouneyrac, Professeur à l'université Catholique de l'Ouest, et M. Benoit Sautour, Professeur à l'université de Bordeaux, pour avoir examiné mon travail.

J'adresse de chaleureux remerciements à Mohamedou Sow et à sa famille. À Mohamedou pour son aide, ces encouragements, sa bonne humeur et sa sympathie. J'ai pu apprendre avec lui à traiter les données valvos, et il m'a donné accès à ces précieux algos. J'ai pris un

grand plaisir à comprendre la structure et la logique des lignes de commande, mais bien sûr, je revenais toujours pour demander de l'aide. De nos discussions, j'ai pu apprendre pas mal de chose sur la Mauritanie, un pays géographiquement proche du mien. Bien que j'essaie toujours de le taquiner à ce sujet, j'ai bien hâte de visiter la Mauritanie. Et je n'oublie pas de le remercier, lui, son épouse et ces enfants, pour leur gentillesse, leur hospitalité et les très bons moments passés en leur compagnie.

Je voudrais aussi remercier Damien Tran pour le temps qu'il m'a accordé à plusieurs reprises, pour l'intérêt qu'il a porté à mes travaux et pour les conseils judicieux qu'il a su me donner tout au long de ce travail.

Je remercie particulièrement Pierre Ciret, pour son immense gentillesse et son travail inestimable sur l'installation et la maintenance des différents appareils que j'ai utilisés durant cette thèse. Il a toujours su trouver une solution quand il y avait un problème technique, et cela, en étant toujours disponible et avec le sourire. J'ai pu apprendre beaucoup de choses avec lui (électronique, mesure, installation des appareils et génération du son). Il a fallu beaucoup de temps pour maîtriser et construire toute la chaîne de génération et de mesure du son, mais ça en valait la peine. Sans son assistance, je ne serais probablement jamais parvenu aux mêmes résultats.

Un très grand merci à Alison. Merci pour ta gentillesse et ton aide. J'ai appris tellement de choses à tes côtés. Dans ton travail, la rigueur et l'attention sont les mots d'ordre. Merci de m'avoir appris à être plus ordonné en faisant les manips. Et j'avoue que Biscarosse est une très belle ville (4,5 habitants) bien que Rabat reste la plus belle. Merci future docteur.

Je tiens à remercier Florence Daniel pour son aide et sa gentillesse. Elle a toujours répondu présent pour donner un coup de main. Encore une fois merci Flo.

Je remercie Fanny pour son encouragement et son soutien durant ces années de thèse. Merci aussi pour ta gentillesse. Tu dois être fier du travail que tu as accompli.

Merci à Laura pour sa gentillesse et sa bonne humeur.

Merci à Mickaël pour sa gentillesse et son aide. Et pour m'avoir initié aux techniques de base de biologie moléculaire.

Je remercie chaleureusement tous les membres de la station marines d'Arcachon, qu'ils soient permanents, thésards ou stagiaires, que j'ai eu beaucoup de plaisir de côtoyer durant ces années de thèse.

Je remercie également tous les membres de l'équipe Écotoxicologie Aquatique : Patrice Gonzalez, Nathalie Mesmer-Dudons, Régine Maury-Brachet, Angés Feurtet-Mazel, Cerise, Alexia Igeay, Magalie Baudrimont, Fabien Pierron, Anthony Bertucci, Adeline Arini, Sophie Gentés, Pierre-Yves Gourves, Bruno Etcheverria, Débora Héroin, Christelle et Christian de m'avoir accueillie au sein de l'équipe.

Je souhaite remercier le directeur de l'école doctorale Sciences et Environnements M. Frédéric Garabetian pour son aide et en particulier Mme Brigitte Bordes pour sa disponibilité et sa gentillesse.

Je souhaite également remercier tous mes amis de grande date avec qui j'ai vécu des moments inoubliables. Ainsi, je remercie particulièrement : Abdenbi, Hatim, Youssef, Amira, Wiam, Anass, Omar, Ikram, Yasser, Meriem, Hassan, Alaa, Chaimae, Simohamed, Amina, Ali, Abdelmalek, Ycham, Saad et tous les autres pour avoir partagé un grand nombre d'années à mes côtés.

Ce projet de doctorat a été financé par le pôle culturel de l'ambassade de France au Maroc, le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique au Maroc et le projet Molluscan eye.

Enfin, je remercie mes parents qui ont veillé sur moi depuis toujours, qui ont su croire en moi et qui m'ont apporté une aide sans failles quand j'en ai eu besoin malgré l'éloignement. Je remercie mes adorables sœurs qui m'ont toujours soutenue et à qui je dois beaucoup. Je suis tellement fier de vous et je vous souhaite tout le bien ainsi qu'à Yasser et Mustafa. Cette thèse, je la dois aussi à ma famille. Ce mémoire vous est dédié à 200%. Merci pour votre soutien je vous dois beaucoup de ce que je suis aujourd'hui.

Les activités humaines font peser sur l'écosystème marin de multiples pressions délétères. Pollution chimique, changement climatique, risque d'acidification, débris de plastique et déchets radioactifs ont des impacts sans précédent. Une pollution de plus en plus reconnue comme majeure est la pollution sonore. La prospection sismique, le battage de pieux et le trafic maritime génèrent des niveaux sonores qui peuvent être extrêmement forts, modifiant fondamentalement le paysage acoustique sous-marin. On sait que de nombreux mammifères marins et poissons entendent le bruit généré par ces activités et que cela altère leur physiologie et leur éthologie. Par contre, chez les invertébrés marins très peu d'études avaient évalué leur capacité à "entendre" et l'impact de cette pollution sur eux reste à déterminer. Nous avons abordé le problème par une étude de la capacité de perception du son chez l'huître creuse *Magallana gigas* en utilisant une approche comportementale et physiologique. Nous avons montré que *M. gigas* entend dans la gamme de fréquences entre 10 et 1000 Hz. Cette analyse nous a permis de caractériser les sources de sons qui contribuent à leur environnement auditif. Au laboratoire, dans un milieu contaminé (i) au cadmium, un métal que nous avons considéré à la fois comme une substance toxique et un marqueur indirect de l'activité ventilatoire, et (ii), par des bruits de cargo, nous montrons un effet répresseur du bruit caractérisé par une diminution de l'activité valvaire, de l'activité ventilatoire et du taux de croissance. Nous rapportons également une diminution de la bioaccumulation du Cd dans les branchies et une modulation de l'expression de certains gènes. Nous avons enfin étudié sur un enregistrement de 2 ans dans le port commercial de Santander, le comportement (incluant les pontes et la croissance) de 3 groupes d'huîtres exposés à une forte pollution sonore et à une « qualité de l'eau » considérée dans la littérature comme bonne à très bonne pour une masse d'eau fortement modifiée. Nous avons retrouvé dans notre analyse différents effets que nous avons provoqués ou prédits à partir du travail de laboratoire où nous avons manipulé le bruit seul. Nous concluons que la pollution sonore au sein du port doit diminuer le fitness des huîtres en modifiant leur activité valvaire, la hiérarchie de leurs rythmes biologiques et la croissance. Nos résultats suggèrent que la pollution sonore peut avoir des conséquences importantes sur les invertébrés et présente un risque fort en termes de productivité de l'écosystème.

Mots-clés : *Magallana gigas*, *Crassostrea gigas*, bivalve, mollusque, pollution sonore, port, bioacoustique, ventilation, croissance.

Human activities introduce multiple harmful pressures on the marine ecosystem. Chemical pollution, climate change, acidification risk, plastic debris and radioactive wastes have significant effects on marine wildlife. Noise pollution is now recognized as a major source of pollution at sea. Seismic exploration, pile driving and marine traffic, among other activities, generate noise at high sound pressure levels altering the underwater acoustic landscape. Many marine mammals and fish hear the noise generated by these activities which have the potential to alter their physiology and ethology. However, very few studies among marine invertebrates had assessed their ability to hear and the impact of noise pollution on them has yet to be determined. We approached the problem by studying sound perception ability in the pacific oyster *Magallana gigas* using behavioural and physiological techniques. We have shown that *M. gigas* is sensitive to sound in the frequency range from 10 to 1000 Hz. This characterization allowed us to define sound sources that contribute to their sound landscape. In the laboratory, in an environment contaminated with (i) cadmium, a metal that we considered to be both a toxic agent and an indirect marker of ventilatory activity, and (ii) cargo ship noise, we showed a depressant or repressant effect of noise characterized by a decrease in valve activity, ventilatory activity and growth rate. We also report a decrease in Cd bioaccumulation and some modulation of gene expression. Finally, we studied a 2-year behavioural record performed in the commercial port of Santander (including spawning events and growth) on 3 groups of oysters exposed to high noise pressure levels. In the port of Santander, the "water quality" is otherwise considered by the literature as good to very good for a heavily modified water body. We found in these records different changes that we previously induced and/or produced in the laboratory. We conclude that the noise pollution load occurring within a commercial port must reduce the fitness of oysters by modifying their valve activity, the hierarchy of their biological rhythms and their growth rate. Our results strongly suggest that noise pollution can have significant consequences on invertebrates and presents a high risk in terms of ecosystem productivity.

Keywords: *Magallana gigas*, *Crassostrea gigas*, bivalve, mollusc, noise pollution, harbor, bioacoustics, ventilation, growth.

TABLE DES MATIÈRES

1	Introduction	1
1.1	Contexte de l'étude	1
1.2	Objectifs et logique du travail	4
1.3	Structure de la thèse	5
2	État de l'art	7
2.1	Acoustique sous-marine	7
2.1.1	Notion de base	7
2.1.2	Mesure de la pression et de la vitesse des particules	10
2.1.3	Caractéristiques de la propagation de l'onde sonore dans l'eau	11
2.2	Bruit ambiant sous-marin	13
2.3	L'importance du son chez les animaux marins	16
2.4	L'audition chez les bivalves marins	17
2.4.1	Méthode de mesure de la courbe de sensibilité au son	18
2.4.2	Gamme de fréquences audibles et seuils de sensibilité chez les bivalves marins	20
2.4.3	Organes potentiellement impliqués dans l'audition chez les bivalves marins	21
2.5	Bruit d'origine anthropique	26
2.5.1	Bruit sous-marin persistant	26
2.5.2	Bruit sous-marin impulsif	30
2.6	Effet de la pollution sonore sur les animaux marins	31
3	Matériels et Méthodes	37
3.1	Modèle biologique	37
3.1.1	L'huître <i>Magallana gigas</i>	37
3.1.2	Préparation pré-expérimentale des huîtres	38
3.2	Design expérimental	38
3.2.1	Expérience 1 en laboratoire	38
3.2.2	Expérience 2 en laboratoire	40
3.2.3	Expérience 3 sur le terrain	42
3.3	Enregistrement de l'activité valvaire des huîtres par valvométrie HFNI	43

TABLE DES MATIÈRES

3.3.1	La valvométrie HFNI	43
3.3.2	Utilisation du valvomètre HFNI au laboratoire et sur le terrain	44
3.3.3	Traitement des données valvométriques	45
3.4	Acquisition et analyse des enregistrements sonores	50
3.4.1	Génération et enregistrement du son	50
3.4.2	Mesure instantanée de la pression acoustique et de l'accélération linéaire	51
3.4.3	Analyse des enregistrements sonores	52
3.4.4	Caractéristiques générales du champ acoustique dans les bacs ex- périmentaux	56
3.5	Dosage du cadmium et analyse génétique	58
3.5.1	Dosage du cadmium dans les tissus	58
3.5.2	Analyse de l'expression des gènes	60
3.6	Statistiques	62
4	Caractérisation du sens de l'audition chez l'huître <i>Magallana gigas</i>	65
4.1	Introduction	65
4.2	The sense of hearing in the Pacific oyster, <i>Magallana gigas</i>	66
4.3	Discussion - Conclusions	86
5	Étude de l'effet de la pollution sonore sur l'huître au laboratoire	91
5.1	Introduction	91
5.2	Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster <i>Magallana gigas</i>	92
5.3	Discussion - Conclusions	114
6	Étude du comportement de l'huître dans un port commercial	117
6.1	Introduction	117
6.2	Étude comparée de différents traits de vie de l'huître <i>Magallana gigas</i> dans le port de Santander	119
6.2.1	Introduction	120
6.2.2	Matériels et méthodes	122
6.2.3	Résultats	127
6.2.4	Discussion	135
6.2.5	Conclusion	141
6.2.6	Références	142
6.3	Discussion - Conclusions	148
7	Conclusions générales et perspectives	151
7.1	Discussion générale et conclusions	151
7.1.1	Sens de l'audition chez l'huître <i>Magallana gigas</i>	152
7.1.2	Effet de la pollution sonore sur l'huître	156

7.2 Perspectives de recherches	163
Bibliographie	167

INTRODUCTION

1.1 Contexte de l'étude

Dans leur livre '*Le monde du silence*' paru en 1953, Jacques-Yves Cousteau et Frédéric Dumas livrèrent, grâce à l'invention de nouveaux appareils de plongée en eau profonde, les premiers secrets d'un monde sous-marin multicolore, plein de vie et d'énergie qui a su satisfaire la curiosité du public à cette époque. Cependant, contrairement à l'idée véhiculée par ce titre choisi par Cousteau, les recherches approfondies en acoustique sous-marine qui avaient débutées dès la fin de la deuxième guerre mondiale allaient démontrer qu'on réalité ce monde des profondeurs est moins silencieux qu'on ne le pense.

En 1970, la sortie de l'album '*Songs of the Humpback Whale*' produit par le bio-acousticien Roger Payne, qui a été imprimé à 10 millions d'exemplaires, a joué un rôle clé dans la sensibilisation du public sur la capacité des mammifères marins à produire et entendre des sons pour communiquer entre eux ou pour se repérer sous l'eau. En effet, dans le milieu marin, des facteurs naturels et biologiques contribuent à l'émergence de l'ambiance sonore. Le son est produit d'une part par divers processus abiotiques tels que le vent, les vagues qui déferlent sur les côtes, les gouttes de pluie au contact de la surface, les courants de marées et le son produit par les séismes et les volcans en éruption. D'un autre côté, le son est produit par différents organismes marins tels que les mammifères, les poissons et les invertébrés lors de divers processus écologiques. Du grognement produit par le grand cachalot qui peut dépasser les 232 dB re $1\mu\text{Pa}@1\text{m}$ (MØHL et al., 2000) au bruit des claquements produit par des crevettes pistolets qui domine le bruit ambiant dans différentes régions de l'océan (AU et BANKS, 1998), le son généré sous l'eau joue un rôle vital dans la vie des organismes marins. Cette importance du son comme un bon vecteur d'information est en grande partie liée à sa bonne propagation dans le milieu marin. Effectivement, le son se propage dans l'eau 4,5 fois plus vite que dans l'air (URICK, 1984).

Il permet la transmission d'informations sur de longue distance en raison de sa faible atténuation (ROGERS et COX, 1988). Comparé à d'autres signaux tels que la lumière et les substances chimiques, le son est présent à toute profondeur et est moins affecté par des variations environnementales comme l'alternance jour/nuit et les courants (HAWKINS et POPPER, 2017 ; KALMIJN, 1988 ; TAVOLGA, 1971).

Les animaux marins utilisent le son afin d'accomplir de nombreuses activités biologiques et obtenir des informations sur des changements dans leur environnement. Le son est utilisé pour communiquer entre individus, alerter de la présence de prédateurs, localiser de la nourriture, attirer des partenaires ou naviguer (AMORIM et NEVES, 2008 ; GANNON et al., 2005 ; MYRBERG JR et al., 1986 ; ZELICK et al., 1999). Le son peut aussi être un facteur important dans la dynamique d'une population. Il est par exemple utilisé par les larves pour localiser et choisir un habitat approprié pour s'installer et se métamorphoser (LILLIS et al., 2013 ; MONTGOMERY et al., 2006 ; PAYNE et WEBB, 1971). Tous ces aspects font que chez les animaux marins le son, et donc l'audition, sont des éléments majeurs pour "sentir" leur environnement, améliorer leur « fitness » et assurer leur survie.

En revanche, un son lorsqu'il interfère, masque ou introduit une ambiguïté dans le signal d'intérêt reçu par l'animal peut être considéré comme un bruit parasite, posant problème. En effet, pour notre sujet le mot bruit peut se définir comme étant un son généré de manière volontaire ou involontaire qui, ajouté à un signal, réduit la capacité de ce dernier à être correctement perçu et interprété. Les sources de bruits d'origine humaine tels que le trafic maritime, la prospection sismique, le battage de pieux, les plateformes pétrolières, l'utilisation de sonars par les navires commerciaux et militaires ou la construction et l'utilisation de parc éoliens en mer introduisent une énergie sonore parasite dans l'environnement marin. Ils provoquent en conséquence une augmentation du bruit ambiant qui peut modifier fondamentalement les caractéristiques acoustiques des écosystèmes marins (ANDREW et al., 2002 ; HILDEBRAND, 2009 ; ROSS, 2005). Tout devient une question de fréquence et de puissance.

Dès 1971, des scientifiques ont averti que les sons de basses fréquences générés par le trafic maritime pourraient réduire la portée des communications chez les mammifères marins (PAYNE et WEBB, 1971). En 1980, certains rapports suggèrent déjà que le bruit généré par des activités industrielles, en particulier l'exploration pétrolière en mer, pourrait avoir des conséquences néfastes sur les mammifères marins (FRAKER et RICHARDSON, 1980 ; GERACI et ST AUBIN, 1980). Dans les années 90, des efforts importants ont été réalisés pour documenter les différentes réponses des animaux au bruit et les principales lacunes en matière de connaissance ont été identifiées (MYRBERG JR, 1990 ; RICHARDSON et al., 2013). C'est au début des années 2000 que la pollution sonore a reçu une plus grande attention de la part du public après l'observation de cas d'échouages de baleines lié aux essais de sonars militaires (EVANS et ENGLAND, 2001 ; FRANTZIS, 1998). La pollution sonore est désormais reconnue parmi les contaminants majeurs qui soulèvent

de plus en plus de questions sur leur impact sur la faune marine (SOLAN et WHITELEY, 2016). La commission européenne a récemment introduit ce polluant parmi les 11 descripteurs pour atteindre un bon état écologique des eaux marines au sein de l'union européenne (DIRECTIVE, 2008).

De nombreux efforts ont été réalisés afin de pouvoir déterminer l'impact et les effets de la pollution sonore sur les animaux marins. Les recherches se sont intéressées à l'étude des changements comportementaux chez des organismes exposés à différentes sources de pollution sonore (FEWTRELL et MCCAULEY, 2012 ; KASTELEIN et al., 2008 ; PENG et al., 2016 ; SOLAN et al., 2016 ; TYACK et al., 2011 ; WALE et al., 2013a ; WALE et al., 2013b). Des études ont fait état de changements physiologiques en réponse au bruit (LAGARDÈRE, 1982 ; PENG et al., 2016 ; ROMANO et al., 2004 ; SOLAN et al., 2016 ; WALE et al., 2013b), tandis que d'autres ont rapporté des effets sur le développement larvaire (DE SOTO et al., 2013) et des changements dans la distribution et l'abondance des populations (ENGÅS et al., 1996 ; LØKKEBORG et SOLDAL, 1993 ; MORTON et SYMONDS, 2002). Toutefois, beaucoup reste à découvrir pour améliorer notre compréhension des effets de la pollution sonore sur les animaux marins, spécialement chez les invertébrés (HAWKINS et al., 2015 ; NORMANDEAU, 2012). Par exemple, la capacité de la plupart des invertébrés à détecter le son et leurs sensibilités auditifs est encore totalement inconnue et ignorée. En même temps, l'utilité et l'importance du son chez ces animaux n'est bien sûr pas comprise. Et bien évidemment, il est impossible de tirer des conclusions claires sur la nature et les niveaux sonores qui sont susceptibles de provoquer des effets chez ces animaux alors qu'ils sont une composante fondamentale de la biodiversité.

Dans le présent travail, pour essayer de combler certaines lacunes dans nos connaissances dans ce domaine, nous avons choisi d'étudier l'effet d'une pollution sonore sur un bivalve marin, l'huître creuse *Magallana gigas* (anciennement *Crassostrea gigas*). Nous avons abordé le problème par la base. Il a tout d'abord fallu, dans un premier temps, caractériser le sens de l'audition chez cet animal en étudiant la gamme de fréquence audible pour des sons émis dans la colonne d'eau. Cela nous a permis d'identifier les sources sonores naturelles et anthropiques que l'huître est capable de détecter dans son milieu naturel, d'obtenir la courbe dose/réponse qui associe le niveau sonore du stimulus à la réaction comportementale chez l'huître, et de pouvoir avancer dans notre compréhension de l'utilité et du rôle que peut jouer le son chez ce bivalve marin. Tous ces aspects étaient totalement ignorés jusqu'à présent. Après une bonne compréhension de cet aspect fondamental de l'audition chez l'huître *M. gigas*, nous avons exposé des huîtres au laboratoire à un bruit chronique sous forme de passages répétés de bateaux mimant une activité portuaire. Cette exposition sonore a été couplée à une contamination métallique. Nous montrerons que la pollution sonore limite la bioaccumulation du contaminant et a un impact important sur le comportement et la croissance par un effet répresser touchant, entre autres certainement, la ventilation. Finalement, une étude complémentaire a été menée *in situ* afin d'étudier le comportement des huîtres dans un milieu portuaire connu

par une activité maritime de moyenne importance et qui est considéré comme peu ou pas contaminé. Les résultats obtenus *in situ* vont dans le sens de la confirmation de nos observations au laboratoire.

1.2 Objectifs et logique du travail

Comme nous l'avons indiqué ci-dessus, il est évident qu'on a besoin de mieux comprendre l'effet de notre impact acoustique sur les animaux marins. Dans l'étude présente, on a choisi d'étudier l'effet de la pollution sonore sur un invertébré marin, qui est l'huître creuse *M. gigas*.

L'huître *M. gigas* est un bivalve filtreur qui respire et se nourrit via l'eau qu'il filtre entre ses valves. C'est un animal sessile qui est largement utilisé comme bioindicateur de l'état du milieu marin en permettant de mettre en évidence des possibles modifications ou contamination du milieu où il baigne. À l'aide de la valvométrie HFNI (Haute Fréquence Non Invasive ; ANDRADE et al., 2016), qui est une technologie disponible à la station marine d'Arcachon où elle a été développée, l'enregistrement de l'activité valvaire des huîtres est réalisé en continu et permet de suivre et détecter les changements de comportement qui peuvent survenir dans leur milieu naturel. L'étude de l'effet d'une pollution sonore sur le comportement et la physiologie de l'huître permettrait d'apporter de nouvelles informations qui peuvent être couplées aux données comportementales, déjà présentes, liées aux perturbations par des contaminants métalliques pour réaliser un bon diagnostic de la qualité du milieu marin à distance. En outre, du point de vue de la bioacoustique, nos connaissances en ce qui concerne la capacité des bivalves à détecter le son et leur seuil de sensibilité sont très insuffisantes (ELLERS, 1995 ; ROBERTS et al., 2015). Par conséquent, ce modèle biologique laissait promettre des résultats originaux pour avancer dans notre compréhension du rôle que joue le son chez les mollusques bivalves en général. Réalisons que sur les 170 000 espèces d'invertébrés marins décrites (GROOMBRIDGE et JENKINS, 2000), très peu d'informations sont disponibles sur leur capacité à détecter le son et les données sur les seuils de sensibilité font toujours défaut.

Pour déterminer les possibles effets de la pollution sonore sur l'huître *M. gigas*, on s'est d'abord demandé si elle percevait les vibrations sonores. On a donc dans un premier temps caractérisé le sens de l'audition chez cet animal en exposant un groupe d'individus à différents stimuli sonores transmis à partir et dans la colonne d'eau. Pour réaliser notre objectif, des mesures expérimentales ont été faites en prenant comme indicateur le changement du comportement valvaire. En effet, la mesure qui est basée sur le comportement dans ce genre d'étude est considérée comme étant le meilleur moyen pour obtenir l'indication la plus précise sur la capacité de détection des fréquences sonores chez un animal (SISNEROS et al., 2016). Lors de cette première expérience, nous avons mesuré la pression et le mouvement de particules qui sont les deux composantes caractéristiques d'une onde sonore. Cela nous a permis, au final, de déterminer la gamme de fréquence

auxquelles les animaux sont sensibles et d'obtenir une courbe dose/réponse associant le stimulus sonore aux réponses comportementales du groupe d'huîtres étudiées.

La deuxième étape a consisté à étudier en laboratoire l'impact de l'exposition d'huîtres à un bruit de passage de bateaux dans un milieu contaminé. Dans la plupart des cas, les conclusions sur l'impact du bruit sur les animaux marins sont tirées d'observations comportementales pour des expositions sonores de très courtes durées (quelques minutes). Nous avons exposé pendant 20 jours les animaux à un bruit chronique qui mime l'activité du trafic maritime dans un port de commerce. Nous avons choisi de mettre l'accent sur le bruit généré par le trafic maritime par rapport à d'autres sources de bruit. En effet, le bruit généré par les bateaux est la source de pollution sonore la plus répandue dans différentes régions de l'océan (HILDEBRAND, 2009). Le trafic maritime a augmenté parallèlement à la croissance mondiale (FRISK, 2012) et le niveau du bruit ambiant dans l'océan a significativement augmenté en conséquence (ANDREW et al., 2002). Le caractère persistant et continu de ce bruit suggère qu'il pourrait avoir des effets délétères sur les organismes marins (ROLLAND et al., 2012 ; WYSOCKI et al., 2006). Le milieu marin est également exposé à différents contaminants introduits par les activités humaines. Dans notre expérience nous avons choisi d'étudier l'interaction de la pollution sonore avec le processus de bioaccumulation d'un contaminant, qui est le cadmium, et de voir leur effet combiné sur la physiologie de l'huître. À notre connaissance c'est la première fois qu'une étude porte sur ce genre d'interaction chez les invertébrés.

Dans les différentes recherches scientifiques qui portent sur l'étude de l'effet de la pollution sonore sur les animaux marins, les expériences ont été largement réalisées dans des bacs expérimentaux. Les expériences dans des bacs permettent un contrôle efficace des paramètres qui peuvent influencer le comportement des animaux tels que la température, la salinité, le pH, l'éclairage et le bruit de fond. Cependant, la production du bruit dans des bacs crée une ambiance sonore qui est différente de celle observée dans le milieu naturel et qui est très complexe à caractériser (ROGERS et al., 2016). D'un autre côté les expérimentations sur le terrain sont rares pour des raisons logistiques et financières. Dans l'étude présente, on a étudié le comportement de l'huître dans un port avec un trafic maritime élevé. Nous avons choisi le port de Santander, un grand port de commerce du Nord de l'Espagne pour sa proximité géographique du Bassin d'Arcachon où nous avons beaucoup d'expérience sur l'analyse du comportement de l'huître *in situ*. L'intérêt était de comparer les données obtenues sur le terrain avec ceux acquis au laboratoire afin de mieux comprendre les effets du bruit sur l'huître *M. gigas*.

1.3 Structure de la thèse

La thèse est organisée en 4 sections principales : un état de l'art (Chapitre 2), des matériels et méthodes (Chapitre 3), et le corps de la thèse qui comprend les différents résultats obtenus durant ce travail (Chapitre 4, 5 et 6). Enfin, une synthèse de l'ensemble des

travaux ainsi que les perspectives de recherches qui en découlent sont présentés dans le Chapitre 7.

Le chapitre 2, fournit les informations de base sur l'acoustique sous-marine pour une bonne compréhension des méthodes appliquées lors des différentes expérimentations et en même temps pour bien comprendre les caractéristiques physiques de l'onde sonore dans le milieu marin. Ce chapitre comprend aussi une description des différents sons générés dans l'océan qu'ils soient d'origine naturelle ou anthropique. Cela permet d'avoir une idée globale sur le bruit ambiant dans le milieu marin et les interférences qu'il peut y avoir entre les sources de son d'origine naturelle, qui ont une importance chez les animaux marins, et les sons parasites (i.e. la pollution sonore) générés par les activités humaines. Un passage en revue des études réalisées sur la détection du son chez les bivalves marins ainsi que les effets de la pollution sonore rapportés dans la littérature sur ces animaux est aussi inclus dans ce chapitre.

Le chapitre 3 présente le matériel et les méthodes utilisés. Un accent a été mis sur la description de l'outil de valvométrie HFNI qui a permis l'enregistrement et le suivi du comportement valvaire des animaux lors des différentes expériences réalisées. Une description détaillée de la chaîne de génération et d'enregistrements sonores utilisées et des méthodes suivies pour la caractérisation de champs acoustiques est incluse dans ce chapitre.

Le corps de la thèse se compose de 3 articles qui rassemblent les différents résultats des expériences réalisées. Le chapitre 4, comprend un article publié dans le journal *Plos One* intitulé 'The sense of hearing in the pacific oyster *Magallana gigas*'. Ce chapitre présente les résultats obtenus lors de l'étude du sens de l'audition chez l'huître *M. gigas*. Les expériences ont été réalisées au laboratoire dans un milieu contrôlé. L'importance du son chez ces animaux et une description de l'ambiance sonore et des sons potentiellement 'entendus' par l'animal dans son milieu naturel sont discutées. Après avoir bien cerné cet aspect éthologique¹, l'effet d'une exposition chronique au bruit dans un milieu contaminé est étudié dans le chapitre 5. Les résultats ont fait l'objet d'un article également publié dans le journal *Plos One* sous le titre 'Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas*'.

Enfin, une étude complémentaire à celle faite au laboratoire a été réalisée sur des enregistrements de terrain afin d'étudier le comportement de l'huître dans un milieu naturel caractérisé par une forte activité maritime. Les résultats de cette étude sont détaillés dans le chapitre 6 qui est présenté sous forme d'un article en français destiné après traduction à être également publié dans une revue internationale.

Enfin, ce mémoire est conclu par une synthèse de l'ensemble des travaux et examine différentes perspectives de recherches (Chapitre 7).

¹L'éthologie est l'étude scientifique du comportement des espèces animales, incluant l'humain, dans leur milieu naturel ou dans un environnement expérimental, à travers des méthodes biologiques précises d'observation et de quantification des comportements animaux. Wikipedia et Larousse.

É T A T D E L ' A R T

2.1 Acoustique sous-marine

Le son généré dans l'océan véhicule une quantité considérable d'informations vitales et utiles pour les animaux marins. La problématique liée est largement étudiée par les chercheurs dans le domaine de la bioacoustique dans plusieurs aspects tels que l'étude des capacités auditives chez les animaux marins, la communication entre individus et l'impact de nuisances sonores sur les organismes marins. Une connaissance des notions de base de l'acoustique sous-marine est importante pour bien comprendre les propriétés et caractéristiques du son et pour étudier les possibles effets néfastes qu'il peut avoir sur les organismes marins.

2.1.1 Notion de base

Le son est une vibration mécanique qui se propage sous forme d'une onde transversale (déformation perpendiculaire à la direction de propagation) dans un milieu solide et sous forme d'une onde longitudinale (déformation dans la direction de propagation) dans un milieu liquide, solide et gazeux (KINSLER et al., 1999 ; URICK, 1984). La propagation de l'onde sonore dans l'eau alterne compression (pression légèrement supérieure à la pression du milieu ambiant) et expansion (pression légèrement inférieure à la pression du milieu ambiant) du milieu provoquant ainsi une oscillation (un mouvement de va-et-vient) des particules parallèlement à la direction de propagation (Figure 2.1). Les particules ne se déplacent pas avec l'onde sonore mais transmettent le mouvement oscillatoire à leurs voisins. Le champ acoustique est donc caractérisé par deux quantités, la pression et le mouvement des particules.

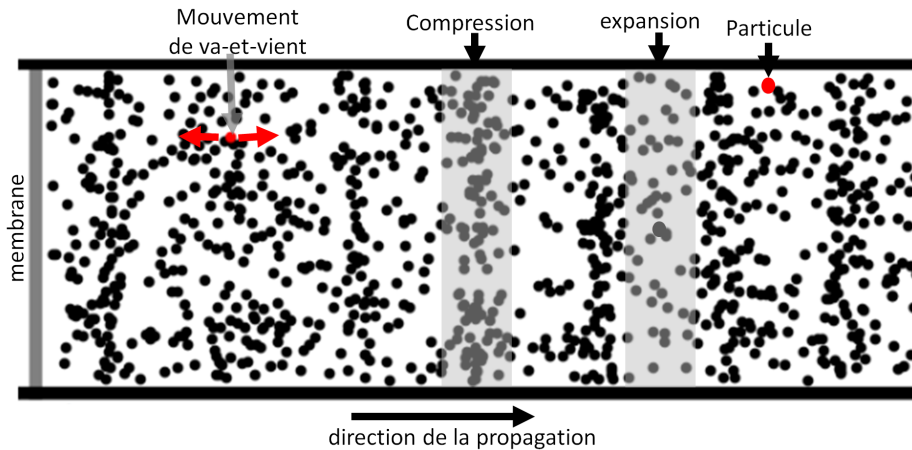


FIGURE 2.1 – Propagation d’une onde longitudinale générée par le mouvement vibratoire d’une membrane.

La pression est une grandeur indépendante du système de coordonnées qui peut être décrite en termes d’amplitude et exprimé en Pascal (Pa). Elle correspond à la force exercée par unité de surface. Le mouvement des particules est une grandeur vectorielle où l’amplitude est décrite en fonction des 3 axes de l’espace et peut être exprimé en accélération ($m \cdot s^{-2}$), vitesse ($m \cdot s^{-1}$) ou déplacement (m).

L’énergie totale contenue dans une onde sonore est la somme de son énergie potentielle et son énergie cinétique. L’énergie potentielle est liée à la pression acoustique alors que l’énergie cinétique est liée au mouvement des particules. Loin de la source, l’énergie associée à la pression acoustique et le mouvement de particules sont égaux, tandis que proche de la source l’énergie associée au mouvement de particules est plus grande (POPPER et HAWKINS, 2018).

Dans des conditions de champ acoustique libre (loin des bordures), le son se propage sous forme d’une onde plane et la pression et la vitesse des particules peuvent être liées par l’équation suivante :

$$P = \rho c u \quad (2.1)$$

avec P la pression acoustique (Pascal), ρ la densité de l’eau ($kg \cdot m^{-3}$), c la vitesse du son ($m \cdot s^{-1}$) et u la vitesse des particules ($m \cdot s^{-1}$). L’accélération des particules, quant à elle, est liée à la vitesse des particules par la formule suivante :

$$a = u 2\pi f \quad (2.2)$$

avec a l’accélération ($m \cdot s^{-2}$), u la vitesse des particules ($m \cdot s^{-1}$) et $2\pi f$ la fréquence angulaire (f en Hz).

Chez les animaux marins, on considère que de nombreuses espèces ont la capacité de détecter la pression et le mouvement des particules à l'aide d'organes spécialisés (HAWKINS et al., 2015 ; POPPER et al., 2014) alors que d'autres ne peuvent probablement détecter que le mouvement des particules (FAY, 1984 ; KAIFU et al., 2008 ; NEDELEC et al., 2016). Une description plus détaillée de la composante pression et mouvement des particules de l'onde sonore est importante pour bien comprendre les mécanismes de détection du son et les possibles effets que peut avoir le bruit sur les animaux marins.

L'onde sonore est caractérisée par son amplitude, sa fréquence, sa vitesse, sa longueur d'onde et son intensité (Figure 2.2).

Amplitude (A). L'amplitude d'un son correspond à la distance maximale parcourue par une particule par rapport à sa position d'équilibre lors de la propagation d'une onde sonore. Autrement dit c'est le changement de pression au-dessus et au-dessous de la pression ambiante d'un milieu. L'amplitude peut être exprimée en crête à crête ce qui correspond à la différence entre la pression positive maximale et la pression négative minimale. Elle peut aussi être exprimée en crête (la différence entre la pression maximale positive et l'équilibre) ou bien en valeur efficace (RMS, root mean square en anglais) qui est la racine carrée de la moyenne de l'amplitude au carré sur un intervalle de temps donné.

Fréquence (f). Elle correspond au nombre d'oscillations par unité de temps. Elle est mesurée en Hertz (Hz) équivalent à un nombre d'évènements par seconde (s^{-1}). Un son pur est composé d'une seule fréquence, alors que les sons que nous percevons dans notre environnement sont composés de plusieurs fréquences à amplitudes différentes qui peuvent être décomposés en une somme de sons purs. La gamme audible chez les humains se situe entre 20 et 20 000 Hz. L'homme n'est pas capable d'entendre les infrasons (< 20 Hz) et les ultrasons (20 000 - 10 000 000 Hz).

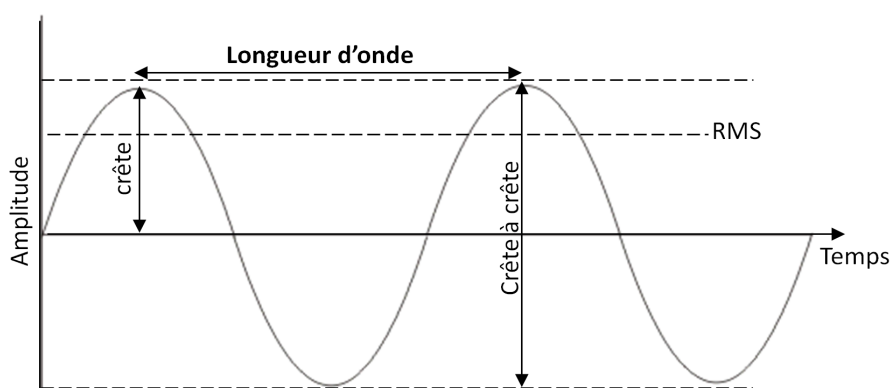


FIGURE 2.2 – Variation de l'amplitude d'une onde sonore dans le temps. Courbe montrant les caractéristiques couramment mesurées d'une onde sonore.

Vitesse (c). La vitesse d'une onde sonore dans l'eau de mer dépend de la densité du milieu qui est lié à la salinité, la température et la profondeur (STUDDS et WRIGHT, 2007). Elle

est approximativement égale à $1500 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. Dans l'air, par exemple, la vitesse d'une onde sonore est égale à $340 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. Il est important de distinguer entre la vitesse du son dans l'eau et la vitesse des particules. La vitesse du son est la vitesse de la propagation de l'onde sonore dans le milieu alors que la vitesse des particules est la vitesse avec laquelle le milieu est déplacé par un mouvement de va-et-vient.

Longueur d'onde (λ). Elle correspond à la distance entre deux compressions ou expansions lors de la propagation de l'onde sonore. Elle est liée à la fréquence (f) et à la vitesse (c) par la formule suivante :

$$\lambda = \left(\frac{c}{f} \right) \quad (2.3)$$

La longueur d'onde est exprimée en mètre (m). Par exemple, un son pur d'une fréquence de 100 Hz aura une longueur d'onde de 15 m dans l'eau et 3 m dans l'air.

Intensité. Elle est définie comme étant l'énergie acoustique par unité de surface dans la direction de propagation. C'est une mesure de l'énergie cinétique et de la fluctuation de la pression.

2.1.2 Mesure de la pression et de la vitesse des particules

Pression. La pression acoustique dans l'eau peut être mesurée à l'aide d'un hydrophone. C'est un transducteur électroacoustique destiné à transformer les oscillations acoustiques en oscillations électriques. Il est composé d'un matériel piézoélectrique permettant de recueillir l'information sonore. Lors du passage d'une onde sonore, une pression est appliquée sur le matériel piézoélectrique qui se déforme créant ainsi un signal électrique. Le signal électrique est amplifié et transformé en signal numérique après passage par un convertisseur analogique-numérique.

Dans l'océan, la pression acoustique mesurée peut par exemple varier d'un son calme ($0,000\ 000\ 1 \text{ Pa}$) à un son extrême ($10\ 000\ 000 \text{ Pa}$) généré par une explosion (NEDWELL et EDWARDS, 2004). Une telle différence représente bien sûr une large gamme dynamique. Pour cette raison, l'utilisation d'une échelle logarithmique permet de compresser cette large gamme pour qu'elle soit plus simple à décrire ($0,000\ 000\ 1 \text{ Pa} = 0 \text{ dB}$; $10\ 000\ 000 \text{ Pa} = 260 \text{ dB re } 1\mu\text{Pa}$). Cette échelle logarithmique en décibel est nommée le niveau de pression acoustique (Sound pressure level (SPL) en anglais).

Le niveau de pression acoustique ou SPL est défini par la formule suivante :

$$SPL = 20 \log_{10} \left(\frac{P}{P_{ref}} \right) \quad (2.4)$$

avec P la pression acoustique et P_{ref} la pression de référence. Dans l'eau la pression de référence est égale à $1\mu\text{Pa}$ alors que dans l'air elle est égale à $20\mu\text{Pa}$ (CHAPMAN et ELLIS,

1998). Par exemple, une pression acoustique dans l'eau de 1 Pa correspondrait à un niveau de pression acoustique (SPL) de 120 dB re $1\mu\text{Pa}$. Un facteur de conversion égal à 61,5 dB peut être utilisé pour faire une conversion du niveau de pression acoustique entre l'eau et l'air (FINFER et al., 2008 ; SLABBEKOORN et al., 2010). Un niveau de pression acoustique de 80 dB re $20\mu\text{Pa}$ dans l'air peut donc ainsi être comparé à 141,5 dB re $1\mu\text{Pa}$ dans l'eau.

Pour les bruits continus comme ceux générés par les navires, la mesure du niveau de pression acoustique en valeur efficace (RMS) est la mesure la plus appropriée (ROBINSON et al., 2014). Alors que pour les sons impulsifs comme ceux générés par des explosions sous-marines ou le battage des pieux, le niveau de pression acoustique de crête est couramment utilisé.

Vitesse des particules. Les instruments de mesure du mouvement des particules dans l'eau ne sont devenus accessibles que depuis très peu de temps (MARTIN et al., 2016 ; MERCHANT et al., 2015). La mesure peut être faite par le calcul du gradient de pression (MARTIN et al., 2016 ; ZEDDIES et al., 2010) ou par l'utilisation d'accéléromètres à flottage neutre (ZEDDIES et al., 2012). Le gradient de pression à travers le milieu peut être mesuré à l'aide de deux hydrophones. Pour obtenir la mesure dans les trois axes de l'espace, 4 hydrophones sont nécessaires avec l'un à l'origine et les 3 autres le long des 3 axes x , y et z (MACGILLIVRAY et RACCA, 2006).

À l'instar de la pression, le mouvement des particules dans l'eau peut aussi être exprimé en décibels par la formule suivante :

$$PVL = 20 \log_{10} \left(\frac{u}{u_0} \right) \quad (2.5)$$

avec u la vitesse des particules en $(m \cdot s^{-1})$ et u_0 la vitesse des particules de référence.

Le son peut aussi être transmis à travers le substrat. Les vibrations sont alors mesurées à l'aide de géophones et d'accéléromètres.

2.1.3 Caractéristiques de la propagation de l'onde sonore dans l'eau

Le son transmet l'information dans l'océan sur de longues distances (AINSLIE, 2010) permettant ainsi une communication efficace entre individus. Ceci est dû, en grande partie, à sa faible atténuation dans l'eau de mer. Par exemple une onde sonore d'une fréquence de 100 Hz, fréquence à laquelle de très nombreux animaux marins sont sensibles, souffre d'une atténuation de 1 dB sur une distance de 1 000 km dans l'eau de mer et de 3 dB sur une distance de 10^6 km dans l'eau douce (Figure 2.3). Cette atténuation du son est très faible par rapport à l'atténuation du son dans l'air (1 dB sur une distance de 1,6 km). En général, dans l'eau de mer, les sons de basse fréquence (10-500 Hz) se propagent de manière efficace sur de longues distances alors que les sources qui émettent des fréquences moyennes (500-25 000 Hz) se propagent sur de plus faibles distances. Les ondes sonores

à haute fréquence (> 25 000 Hz) éprouvent une atténuation extrême et sont confinées sur quelques kilomètres.

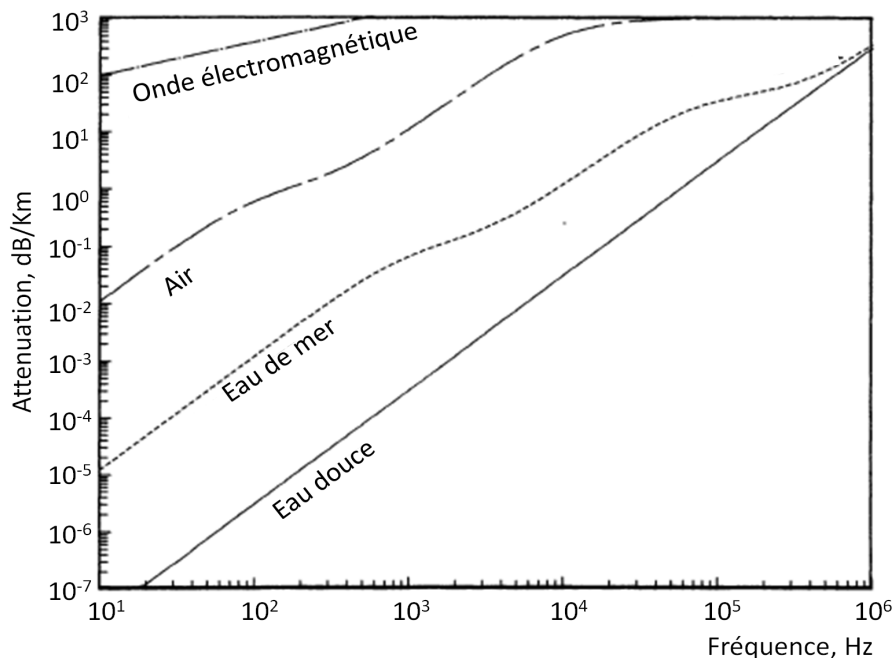


FIGURE 2.3 – Atténuation du son dans l'eau douce, l'eau de mer et l'air comparé à l'atténuation des ondes électromagnétiques dans l'eau (ROGERS et COX, 1988).

Même si elle est très favorable à la propagation de l'onde acoustique, l'eau de mer impose néanmoins des limitations. L'atténuation du son dépend de la pression, la température, la salinité et l'acidité de l'eau de mer (FRANCOIS et GARRISON, 1982). Par exemple, une eau de mer plus acide comme celle observé dans l'océan pacifique nord (pH 7,7) entraîne une faible absorption des basses fréquences par rapport à l'océan atlantique (pH 8 ; HILDEBRAND, 2009). La propagation du son peut aussi être altérée par la présence de bulles d'air ou par les phénomènes de réflexion et réfraction avec la surface et le fond marin. On sait utiliser aujourd'hui la technologie des rideaux de bulles pour atténuer l'émission de bruit lors du battage de pieux.

Dans des conditions de champ acoustique libre, l'intensité du son décroît suivant la loi de propagation sphérique. Autrement dit l'énergie émise se répartit sur une sphère en expansion induisant une décroissance de l'intensité du son. Cette perte de transmission de l'onde correspond à une décroissance de l'intensité de 6 dB à chaque doublement de distance par rapport à la source. Dans la zone intertidale où le son peut être réfléchi par la surface et le fond marin, la transmission du son suit une propagation cylindrique et l'intensité décroît de 3 dB à chaque doublement de distance par rapport à la source (MEDWIN et CLAY, 1997 ; URICK, 1984).

2.2 Bruit ambiant sous-marin

Le bruit ambiant sous-marin est le bruit persistant caractéristique d'un endroit donné dans l'océan. Il est le résultat d'une superposition de différentes sources sonores venant de différentes directions à différentes amplitudes et contenus fréquentiels. Les sources composant le bruit ambiant incluent, par exemple, le bruit généré par la pluie ou celui généré par les vagues et les sons émis par les animaux marins. Il exclut les bruits occasionnels qui peuvent être considérés comme des interférences comme le passage de bateaux proches de la zone de mesure. Par contre, le bruit émis par plusieurs navires localisés à différents endroits dans l'océan est parti intégrante du bruit ambiant sous-marin.

Ce n'est qu'au début de la deuxième guerre mondiale que les scientifiques se sont intéressés à l'étude et à la mesure du bruit ambiant sous-marin. Pendant cette guerre des mines acoustiques ont été mises au point et une connaissance précise des niveaux sonores du bruit ambiant a été nécessaire pour fixer les niveaux seuils pour leur déclenchement. En 1962, WENZ contribue de manière significative à la caractérisation du bruit ambiant sous-marin. Il traite différents enregistrements et discute de l'origine des sources constituant le bruit de fond. La figure 2.4 (TASKER et al., 2010) donne un résumé des résultats et conclusions formulés par WENZ (1962) sous forme spectrale incluant les niveaux sonores et les sources composant le bruit ambiant en eau profonde.

Dans le but de bien expliquer les différentes sources qui caractérisent le bruit ambiant sous-marin, la courbe de WENZ (1962) peut être divisée en 4 bandes spectrales bien distinctes (1-10 Hz, 10-100 Hz, 0,1-20 kHz, > 20 kHz). En général, les sons de basses fréquences ont le potentiel de se propager sur de longues distances de la source (voir Section 2.1.3 pour plus d'informations). Par conséquent, le bruit ambiant dans cette bande spectrale est le résultat de la sommation des bruits à basses fréquences à travers une large zone océanique. À l'inverse, les sources de hautes fréquences ne contribuent au bruit ambiant que sur des zones très limitées en raison de leur plus grande atténuation.

Dans les eaux profondes le bruit ambiant sous-marin dans la bande spectrale comprise entre 1 et 10 Hz est principalement dû à la turbulence océanique et aux perturbations sismiques (HILDEBRAND, 2009). Entre 10 et 100 Hz, cette bande spectrale est principalement caractérisée par le bruit émis par le trafic maritime lointain (URICK, 1984) avec sa plus grande contribution entre 20 et 80 Hz. Le niveau du bruit ambiant est plus élevé dans les régions à fort trafic maritime. Par contre, à l'hémisphère sud, où il y a généralement moins de navires les niveaux du bruit ambiant sont inférieurs d'au moins 20 dB (CATO, 1976). Le bruit dans cette bande spectrale devient dépendant de la vitesse du vent dans les régions éloignées des voies maritimes. En plus du trafic maritime, des activités anthropiques tels que l'exploration sismique peuvent augmenter le bruit ambiant d'une dizaine de dB (SHOOTER et al., 1982). Toutefois, le caractère impulsif du bruit généré fait que son apport au niveau sonore du bruit ambiant est limité dans le temps. D'un autre côté, le son généré par les animaux marins peut être une composante importante du

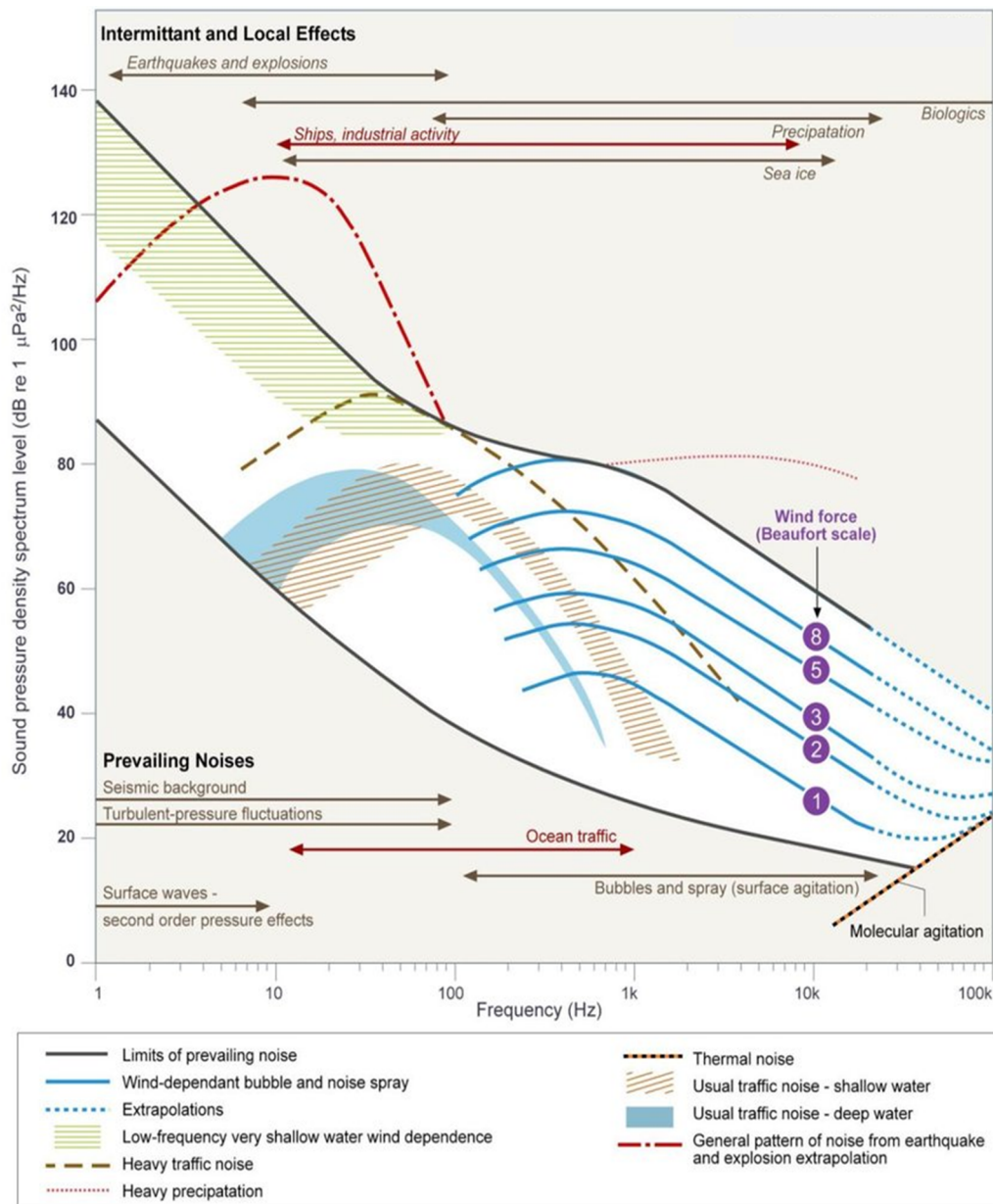


FIGURE 2.4 – Spectre du bruit ambiant caractérisé par la présence de diverses sources sonores (TASKER et al., 2010 ; WENZ, 1962).

bruit ambiant dans certaines régions de l'océan. Plusieurs animaux marins sont connus pour leur capacité à produire du son qui peut couvrir une large bande spectrale allant de quelques hertz à des centaines de kilohertz. Le son émis est généralement de courte durée sous forme de pulsations sonores mais souvent répétés dans le temps. Par exemple, les poissons produisent du son à basses fréquences de différentes manières (stridulation, utilisation des muscles au niveau de la vessie natatoire) avec une énergie sonore maximale comprise dans une gamme de fréquence entre 50 et 2 000 Hz (ZELICK et al., 1999). En groupe, les poissons peuvent augmenter le bruit ambiant de 20 dB dans la bande spectrale entre 10 et 100 Hz à certaines heures de la journée et périodes de l'année (HOLT, 2002).

Entre 100 Hz et 20 kHz, le bruit ambiant dépend de la vitesse du vent et de l'état de la mer (URICK, 1984). Les processus physiques à l'origine de cette dépendance ont été moins étudiés mais on pense que le bruit d'écoulement causé par le vent au niveau de la surface, les vagues et la formation des bulles contribuent au bruit résultant. Par exemple, les vagues au niveau de la zone intertidale peuvent élever le niveau du bruit ambiant de plus de 20 dB à quelques mètres de la zone de déferlement (WILSON JR et al., 1985). Les précipitations peuvent élever le niveau sonore du bruit ambiant dans une gamme de fréquence comprise entre 500 Hz et 15 kHz (NYSTUEN et FARMER, 1987). Généré dans l'atmosphère, le tonnerre transmet aussi du son dans l'eau sous forme d'impulsion d'énergie concentrée dans les basses fréquences. Des mesures dans l'océan d'un son produit par un tonnerre généré à une distance de 5 à 10 km de l'hydrophone montrent une augmentation de 15 dB par rapport au bruit ambiant dans une gamme de fréquences comprise entre 50 et 250 Hz (DUBROVSKIY et KOSTERIN, 1993). Dans des conditions favorables de propagation, cette énergie produite par le tonnerre peut se propager sur de longues distances dans l'océan.

Les bruits anthropiques peuvent avoir un effet local sur le bruit ambiant en raison de leur forte atténuation dans cette bande spectrale. Les sonars génèrent une puissance acoustique significative qui peut atteindre les 235 dB re 1 μ Pa (HILDEBRAND, 2009). Le bruit généré par les petits bateaux (bateaux de pêche, bateaux de plaisance) peut constituer quant à lui une composante importante et continue du bruit de fond dans certaines régions côtières (HILDEBRAND, 2009). Dans d'autres régions, le bruit généré par les crevettes pistolets vivant en colonies peut dominer et augmenter de 20 dB le bruit ambiant. Ces crevettes sont connues pour leur capacité à produire un puissant jet d'eau avec une énergie acoustique avoisinant les 190 dB re 1 μ Pa (AU et BANKS, 1998).

Au-dessus de 20 kHz, le bruit thermique généré par le mouvement aléatoire des molécules d'eau contribue de manière significative au bruit ambiant sous-marin (MELLEN, 1952).

Variabilité du bruit ambiant. Dans la zone intertidale où les huîtres sont particulièrement présentes, le bruit ambiant est 5 dB plus élevé qu'en pleine mer (WENZ, 1961). Le bruit généré par le vent domine le bruit ambiant sur toute la bande spectrale en l'absence du trafic maritime local. Le trafic maritime lointain ne contribue pas au bruit ambiant en raison de la forte atténuation des ondes acoustiques due aux interactions avec le fond marin. Toutefois, dans les zones avec un trafic maritime dense à très dense, comme dans les ports et les voies d'arrivée et de sortie des ports, le bruit des navires domine toujours dans la gamme des basses fréquences (BROWNING et al., 1982).

Le niveau sonore du bruit ambiant dans l'océan est variable dans l'espace et dans le temps. Ces changements peuvent être de courtes durées comme ceux induits par les vagues déferlantes ou de longues durées comme ceux causés par les changements climatiques ou les activités humaines. Dans la zone intertidale, ces changements sont plus prononcés étant donné l'activité plus dense et intense dans les eaux proches des côtes. Le bruit

ambiant en zone intertidale peut avoir des caractéristiques sonores et une variabilité bien différente que dans les eaux profondes. WENZ (1961) a observé une variabilité diurne du niveau sonore de 1 à 5 dB entre 45 et 900 m. Des variations des niveaux sonores ont également été observées suivant les saisons en fonction de l'activité de la faune présente. On peut penser que ces changements et variations sonores pourrait être un déclencheur de certaines activités physiologiques chez les animaux vivant dans la zone intertidale.

2.3 L'importance du son chez les animaux marins

Les animaux marins sont immergés dans un environnement physique et chimique particulier et leurs sens sondent toute perturbation et changement qui affecte leur habitat. Le son dans l'océan se propage sur de longues distances dans les trois dimensions de l'espace avec une faible atténuation indépendamment du courant. Il est donc présent à toutes profondeurs à l'inverse de la lumière et des particules chimiques. La lumière est altérée à cause de phénomènes d'absorption et de dispersion qui sont plus importantes dans l'eau que dans l'air réduisant considérablement la distance de visibilité des objets (LYTHGOE, 1988). La diffusion des particules chimiques dans l'eau dépend largement de la dynamique du fluide porteur et donc des courants (ATEMA, 1988).

Le son est utilisé par les animaux marins pour diverses fonctions biologiques. Il permet aux animaux de recueillir des informations sur leur milieu environnant, communiquer, localiser des proies, s'orienter ou se protéger contre des prédateurs. Par exemple chez les mammifères marins, les plus étudiées et les plus connus du public, les baleines émettent des sons pour localiser des proies et des obstacles et communiquer entre elles. Comme nous l'avons déjà dit le niveau sonore généré peut dépasser les 232 dB re 1 μ Pa@1m chez le grand cachalot (MØHL et al., 2000) et la portée du signal était estimée avant le développement actuel du commerce maritime à plus de 10 km (WATKINS, 1980). Le son semble aussi être utilisé chez les baleines à bosses pour attirer les femelles pendant la période de reproduction (TYACK, 1981).

Chez les poissons, le son joue un rôle tout aussi important que chez les mammifères marins. Ces animaux produisent différentes variétés de sons, utilisant entre autres leur vessie natatoire, pour attirer des partenaires, se concurrencer pour la nourriture ou prévenir de l'approche de prédateurs (BRAWN, 1961 ; CODARIN et al., 2009 ; COLSON et al., 1998 ; WILSON et al., 2004). Par exemple, le poisson *Opsanus tau*, un des prédateurs connus de l'huître produit un grognement et/ou un sifflement en contractant les muscles au niveau de sa vessie natatoire (FINE, 1981). Le son émis a une fréquence fondamentale variant entre 90 et 200 Hz et une puissance de 114 dB re 1 μ Pa@1m.

Chez les invertébrés marins, les crustacés sont les plus connus par leur capacité à produire des sons. Les crevettes de la famille des Alpheidae sont parmi les grands contributeurs du bruit ambiant dans certaines zones de l'océan (AU et BANKS, 1998). Le son est utilisé par les crustacés à des fins de défense et pour attirer des partenaires. Il a également

été prouvé que les crustacés semi-terrestres sont capables de détecter des vibrations propagées à travers le substrat à l'aide de récepteurs au niveau des pattes leur permettant ainsi de communiquer entre eux (HORCH et SALMON, 1972 ; SALMON, 1971 ; SALMON et ATSAIDES, 1969).

Chez les mollusques bivalves il y a peu d'études sur l'usage et la production du son et cela est relativement lié à l'idée selon laquelle ces animaux sont primitifs et ne possèdent pas un système bien élaboré pour la détection du son. La production du son chez les mollusques en général est rare (VERMEIJ, 2010). IVERSEN et al. (1963) ont étudié 3 espèces de calmars et ont enregistré un son émis d'une fréquence avoisinant les 1500 Hz. Les auteurs ont suggéré que le son résulterait probablement de l'éjection de l'eau à travers le siphon. On a aussi rapporté la production de son chez *Mytilus edulis* sous forme de craquement (BUDELMANN, 1992) et chez le pétoncle qui émet un claquement lors de la fermeture de ses valves (DI IORIO et al., 2012). Il est vraisemblable que le son produit par ces bivalves soit involontaire et qu'il ne joue pas de rôle dans une possible communication entre individus. Cependant le son a été proposé comme pouvant jouer un rôle vital pour la survie chez certains bivalves marins. En effet, LILLIS et al. (2013) ont étudié l'effet du son émanant des récifs sur le taux de fixation des larves d'huîtres *Crassostrea virginica*. Ils ont pu démontrer que celles-ci choisissent le milieu de fixation en fonction des caractéristiques du son émis. Le son contient sans doute toutes les informations biologiques et physiques nécessaires aux larves pour le choix d'un milieu satisfaisant pour s'installer.

2.4 L'audition chez les bivalves marins

L'audition est généralement définie comme étant un processus de détection du son à l'aide d'organes spécialisés (LADICH et FAY, 2013). Elle a bien été décrite chez les mammifères marins (KETTEN, 2004) et chez les poissons (TAVOLGA et al., 2012) mais la présence du sens de l'audition chez les bivalves marins ou chez les invertébrés marins en général est toujours sujette à discussion et controverse.

Cette controverse est en partie liée à un problème de définition où on met de côté le fait que le son est une vibration qui peut se transmettre dans des milieux très divers. Comme expliqué par BUDELMANN (1992) dans le livre '*The Evolutionary biology of hearing*', si l'audition est liée à la détection du son via un changement de pression et à l'aide d'un organe spécial alors la plupart des mollusques sont incapables d'entendre. Si comme le disent POPPER et al. (2001) il faut une cavité remplie de gaz pour détecter les variations de pression sonore, de nombreux animaux aquatiques ne peuvent pas entendre. Par contre, une définition plus large comme celle de PUMPHREY (1950) permet d'affirmer une possible capacité des mollusques à "entendre". Pumphrey considère que l'audition est la capacité de l'animal à détecter des vibrations de n'importe quelle nature, issue d'une source sans contact direct avec l'animal, et provoquant une réponse comportementale.

LADICH et FAY (2013) ont écrit qu'entendre était le fait de percevoir un son et que c'est une fonction sensorielle qui implique la globalité du comportement. Pour eux la seule manière de l'aborder serait l'analyse du comportement de l'animal.

Le chapitre 4 traitera l'étude de l'audition chez l'huître creuse *Magallana gigas* en déterminant les gammes de fréquences audibles par cet animal et le niveau sonore minimal déclenchant une réponse comportementale.

2.4.1 Méthode de mesure de la courbe de sensibilité au son

Le principe de la mesure de l'audiogramme est basé sur la projection d'un son pur à différentes fréquences et niveaux sonores (puissance). Le but est de déterminer à partir de quelle puissance un individu est capable d'entendre le son projeté. Par exemple chez les humains, lors de l'examen auditif, le sujet appuie sur un bouton lorsque le son projeté est détecté. La manipulation est répétée en augmentant progressivement sa puissance jusqu'à ce que le sujet arrive à le détecter. Le plus faible niveau sonore détecté correspond alors au seuil d'audition. Chez le petit enfant qui ne peut pas parler ou comprendre ce qu'on lui demande, on se basait jusqu'à récemment sur l'observation de changements de comportement. La répétition de la mesure à différentes fréquences permet d'obtenir un audiogramme complet de l'individu. Comme il sera traité dans le chapitre 4, à l'instar de ce qu'on fait chez les humains, une mesure des gammes de fréquences audibles chez l'huître *Magallana gigas* a été réalisée en utilisant la valvométrie comme outil pour déterminer la réponse de l'animal à un stimulus sonore. Un audiogramme a été obtenu représentant les niveaux de pression et d'accélération minimale causant une réponse comportementale. Cette mesure permet d'indiquer les fréquences sonores susceptibles d'être détectées et auquel l'animal peut réagir dans son milieu naturel. Elle peut aussi permettre d'indiquer les sources susceptibles d'affecter l'animal et celles qui peuvent déclencher des réactions physiologiques et comportementales néfastes quand les niveaux sonores sont très élevés.

La courbe de sensibilité au son chez les animaux marins peut être mesurée suivant deux méthodes différentes, par des tests comportementaux ou par l'enregistrement des impulsions électriques au niveau du nerf auditif.

Tests biologiques comportementaux. Lors des tests biologiques comportementaux, le conditionnement des animaux a été souvent utilisé afin de déterminer leur sensibilité au stimulus sonore et les gammes de fréquence qu'ils perçoivent. Le principe de cette méthode est d'entraîner l'animal à répondre à un stimulus donné. L'entraînement peut être sous forme d'un apprentissage à associer le stimulus à une action motrice ou à changer de position suite à la détection du stimulus. Il peut aussi s'agir de l'application d'un léger choc électrique qui provoque une altération du rythme cardiaque. L'inconvénient de cette méthode d'analyse est qu'elle requiert une longue durée d'entraînement, c'est-à-dire d'apprentissage, et de nombreux tests.

Les changements comportementaux sans avoir recours au conditionnement sont aussi utilisés comme indicateur d'une réception du stimulus par l'animal. Par exemple chez les crustacées, les modifications de posture et le mouvement des antennes sont utilisés pour la mesure des seuils de sensibilité (BREITHAUP, 2002 ; GOODALL et al., 1990 ; ROBERTS et al., 2016 ; TAUTZ, 1987). Chez les céphalopodes comme la seiche commune *Sepia officinalis*, SAMSON et al. (2014) ont utilisé des indicateurs tels que les changements de mouvement, sursaut ou le jet d'encre pour mesurer la sensibilité au son. Chez les bivalves, des indicateurs tels que la réaction d'enfouissement ou de fermeture des valves ont été principalement utilisés (ELLERS, 1995 ; MOSHER, 1972 ; ROBERTS et al., 2015). Un biais expérimental généralement ignoré par les expérimentateurs est celui des périodes d'acclimatation aux conditions expérimentales. Un animal aquatique qu'on place au laboratoire dans un état de calme met en général une semaine pour s'adapter à ces conditions. Ce délai est très rarement respecté dans la littérature. Il n'est généralement que de quelques heures ce qui crée une interférence entre le comportement de stress lié à la manipulation et la réaction de l'animal aux stimuli sonores. Nous avons systématiquement adapté nos huîtres pendant une semaine avant toute expérimentation.

Pour déterminer les seuils de sensibilité au son, l'approche la plus courante est la méthode de l'escalier '*staircase method*' (CORNSWEET, 1962). Cette méthode consiste à exposer le sujet à un signal sonore pur et à choisir l'amplitude en fonction de sa réponse. L'amplitude du signal est augmentée quand le sujet échoue à détecter le son alors qu'elle est diminuée quand il le détecte. Quand deux amplitudes successives sont testées et présentent des réponses positives et négatives à plusieurs reprises d'une manière cohérente, le seuil d'audition est déterminé. Pour des raisons techniques nous avons travaillé différemment. Nous avons exposé les huîtres à une rampe d'augmentation de puissance et nous avons noté, animal par animal, à quelle puissance on observait une réponse.

Potentiels évoqués auditifs (PEA). Les méthodes d'électrophysiologie n'ont pas les mêmes limitations que celles associées aux tests biologiques comportementaux. Les données peuvent être obtenues rapidement même si la préparation des animaux reste complexe et ne permet pas la réutilisation du même animal pour des tests ultérieurs. La technique consiste en l'insertion d'électrodes au niveau de la tête de l'individu ou d'une manière moins invasive au niveau de la peau afin de mesurer des potentiels électriques (KENYON et al., 1998). Une réponse électrique typique est enregistrée lors de l'exposition à un signal sonore. Une diminution progressive du signal sonore jusqu'à la disparition de la réponse permet la détermination du seuil d'audition et la création d'un audiogramme.

Les deux méthodes (PEA ou comportementale) mènent généralement à des courbes de sensibilités différentes et ne sont pas comparables ce qu'on explique par le fait qu'elles sont issues de différentes conditions expérimentales (LADICH et FAY, 2013 ; SISNEROS et al., 2016). Il est généralement admis que les audiogrammes obtenus par des tests biologiques comportementaux permettent de produire des résultats plus réalistes puisqu'ils

prennent en compte la réaction de l'organisme en entier au stimulus. Les mesures d'électrophysiologie testent par contre la mécanique de l'organe ou les cellules testées et ne s'adressent pas à la complexité du système auditif. A noter finalement que les potentiels auditifs évoqués montrent une sensibilité plus grande à un son pur que les tests comportementaux (LADICH et FAY, 2013 ; SISNEROS et al., 2016).

2.4.2 Gamme de fréquences audibles et seuils de sensibilité chez les bivalves marins

La détection des ondes sonores transmises que ce soit par la colonne d'eau ou par le substrat a été peu étudiée chez les mollusques bivalves. A notre connaissance le 1^{er} travail est celui en 1972 de MOSHER qui a exposé un tellinidae, *Macoma balthica*, se trouvant dans un aquarium à des vibrations appliquées sur la paroi. Il a étudié son comportement d'enfouissement à l'aide d'un myographe. Il a observé une rétraction du pied suivi d'un enfouissement total lorsque l'animal était exposé à des basses fréquences entre 2 et 50 Hz. En revanche l'amplitude était constante durant les différents tests ce qui ne permet pas de déterminer les seuils de sensibilité de l'animal. Dans un autre travail, ELLERS (1995) a étudié le comportement migratoire chez la telline *Donax variabilis*. Sur les plages sableuses, la telline sort du sable et migre avec la vague vers le rivage ou vers la mer. Elle surfe. Ellers a pu démontrer à l'aide d'expériences au laboratoire que ce bivalve pouvait détecter le son produit par les vagues et qu'il n'était stimulé que par les basses fréquences. En 2005, ZHADAN s'est focalisé sur l'étude de la sensibilité directionnelle a des vibrations sinusoïdales chez deux pétoncles (*Mizuhopecten yessoensis* et *Chlamys swifti*). Il a observé une réaction à des fréquences entre 30 et 1000 Hz sans étudier les seuils de sensibilité. En 2008, KESTELEIN a exposé des coques (*Cardium edule*) à des vibrations en augmentant graduellement la fréquence et l'amplitude. Le mouvement du siphon et des valves a été utilisé comme indicateur de détection du son par le bivalve. Néanmoins, l'auteur n'informe pas des amplitudes appliquées ce qui ne permet pas de déterminer les seuils de sensibilité. Chez la moule dans un travail plus accompli, ROBERTS et al. (2015) ont étudié la réponse de *Mytilus edulis* à des vibrations produites directement dans le substrat à l'aide d'une barre de fer métallique. Leur objectif principal était de créer les mêmes conditions que celles observées lors de l'activité de battage de pieux en mer. L'animal a réagi par une fermeture des valves à des fréquences entre 5 et 410 Hz avec un seuil de sensibilité minimal de $0.06 m \cdot s^{-2}$. Paradoxalement, les auteurs se sont intéressés aux vibrations transmises par le substrat et ont rejeté une possible réaction de l'animal aux vibrations transmises par la colonne d'eau. Le problème est que les bivalves sont en contact avec le substrat et la colonne d'eau. Quand on émet une vibration dans un des milieux, elle se transmet obligatoirement à l'autre. Par conséquent, durant une exposition sonore, le corps de l'animal vibre en relation avec le mouvement vibratoire du substrat et de la colonne d'eau ce qui rend impossible la discrimination entre une réaction comportementale liée aux vibrations transmises par le substrat ou par la colonne d'eau.

Dans l'ensemble, la plupart des études effectuées sur la sensibilité des bivalves aux stimuli acoustiques a été focalisée sur le comportement de l'animal plutôt que sur une compréhension complète du problème de perception de la vibration via la quantification du stimulus et la mesure des seuils de sensibilité. Une description incomplète des niveaux sonores appliqués et des puissances minimales déclenchant une réaction chez l'animal rend difficile une interprétation complète des résultats. Un autre problème qu'on rencontre est que par exemple dans l'étude faite par ROBERTS et al. (2015), les mesures du seuil de sensibilité sont exprimées en accélération des particules sans mesure de pression. La comparaison avec d'autres travaux où on utilise la pression devient alors impossible. L'origine de ce problème vient du fait qu'il est largement admis que les bivalves sont capables de détecter le mouvement des particules généré lors du passage de l'onde sonore plutôt que la pression (NEDELEC et al., 2016). Nous verrons avec nos résultats que la question mérite tout de même d'être posée. Lorsque les animaux réagissent à un son, leur capacité à détecter la composante pression du stimulus peut dépendre de la présence de la composante vitesse des particules et vice versa (ROGERS et al., 2016). Nous pensons qu'une caractérisation complète de l'audition des bivalves, tenant compte de la pression acoustique et de la vitesse des particules, peut-être plus appropriée. C'est ce que nous avons fait.

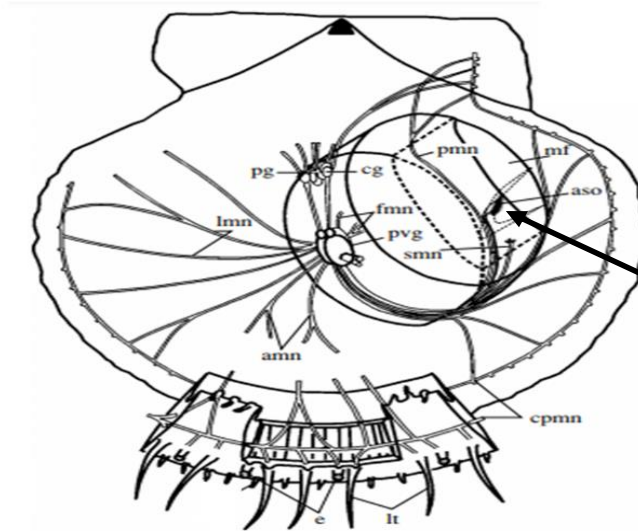
2.4.3 Organes potentiellement impliqués dans l'audition chez les bivalves marins

Chez les mollusques bivalves, le système sensoriel impliqué dans la détection du son et des vibrations a été très peu étudié. On retrouve deux types de récepteurs qui peuvent jouer le rôle d'un organe de réception des ondes sonores. Des récepteurs superficiels au niveau du corps mou et le statocyste, organe de l'équilibre. Mais dans les deux cas, comme pour l'audition chez les mammifères, ce sont *in fine* des cils et des cellules ciliées qui sont mis en jeu.

Les récepteurs superficiels : l'organe palléal (GALTSOFF, 1964) appelé organe abdominal chez les pectens (ZHADAN, 2005), le « nouvel » (ou le « spécial ») organe palléal de COLE (1938), et l'organe sensoriel du muscle cruciforme des tellinidae (ANSELL, 1983).

Chez les Pectinidae qui sont parmi les bivalves les plus actifs, ZHADAN (2005) parle d'un organe abdominal (Figure 2.5). Il a montré que l'organe abdominal sensoriel ('abdominal sense organ' en anglais, ASO) était extrêmement sensible a des vibrations se propageant dans la colonne d'eau. Il a également montré que son ablation réduisait significativement la capacité de l'animal à détecter et à réagir au stimulus sonore. L'ASO est un organe pair, localisé dans la cavité palléale près de l'anus à la surface du muscle adducteur postérieur. Il mesure 5 mm de longueur et 1,5 mm de diamètre et contient à peu près 4 millions de cellules ciliées (ZHADAN et SEMEN'KOV, 1984). Cet organe est présent chez plusieurs familles de mollusques bivalves (Nuculidae, Pinidae, Mytilidae, Glycymeridae, Arcidae,

Ostreidae, Pectinidae and Limaridae).



aso—abdominal sense organ; fmn and smn—fast and slow motor nerves, respectively; lt—large tentacles; e—eyes; pmn, lmn, and amn—posterior, lateral, and anterior mantle nerves, respectively; mf—mantle fold; st—small tentacles; pvg—parieto-visceral ganglion; pg—pedal ganglion; se—sensory epithelium; tb—tissue band; cg—cerebral ganglion; cpmn—circumpallial mantle nerve

FIGURE 2.5 – Schéma du système nerveux chez le pétoncle japonais *Mizuhopecten yessoensis* incluant la position de l'organe abdominal (aso, flèche noire, probablement l'organe palléale pour GALTSOFF (1964) sur le muscle adducteur (aso, flèche noire). (ZHADAN, 2005).

Chez les Ostreidae, GALTSOFF (1964) parle d'un organe palléal (pallial organ) et il est vraisemblable que l'organe abdominal sensoriel et l'organe palléal ne soient qu'une seule et même structure. Il a été décrit sur la face antérieure du muscle adducteur (Figure 2.6 A). L'organe est bien développé du côté droit mais du côté gauche il serait petit et dégénéré. Sa surface est recouverte de cellules épithéliales munies de cellules ciliées (Figure 2.6 B). Son rôle chez les huîtres est présenté par GALTSOFF (1964) comme totalement inconnu, bien qu'il dise que cet organe est probablement impliqué dans la détection de perturbations mécaniques dans l'eau comme ZHADAN (2005) l'a rapporté plus tard chez les Pectinidae.

Un autre organe appelé le nouvel (ou spécial) organe palléal (Figure 2.7) est présent au niveau du manteau de l'huître *Ostrea edulis* et a été rapporté par COLE (1938). Cet organe est apparemment de nature sensorielle. Il n'est pas présent chez la larve avant son attachement à un substrat mais commence à se développer immédiatement après la fixation. Il est situé sur le bord intérieur libre du manteau, environ un tiers de la longueur du bord libre de la bouche. Le nouvel organe palléal est séparé du milieu extérieur par un épithélium fin. Il apparaît comme ayant une structure appropriée, et dans une position favorable, pour recevoir et réagir aux vibrations causées par les perturbations dans l'eau environnante.

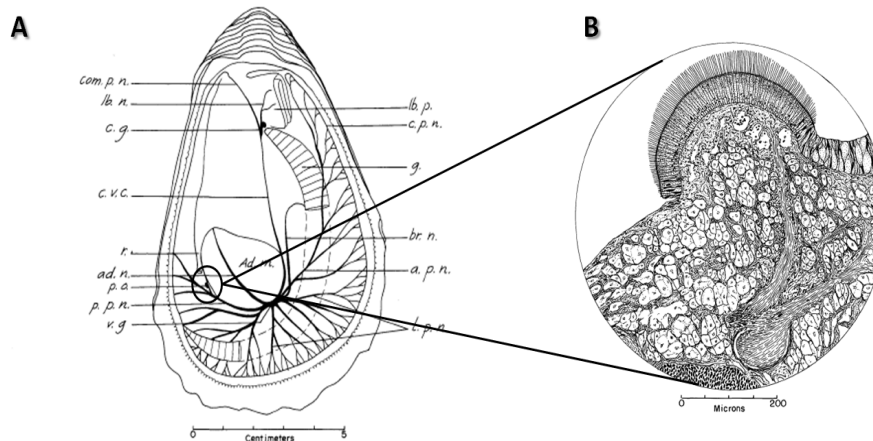
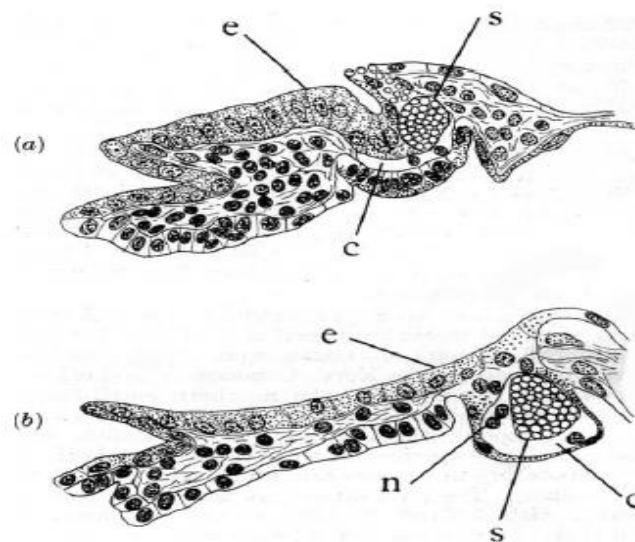


FIGURE 2.6 – A, Schéma du système nerveux de l’huître *Crassostrea virginica* vu du côté droit. B, vue agrandi sur l’organe palléale (probablement l’organe abdominal pour ZHADAN (2005)). (GALTSOFF, 1964).



TRANSVERSE SECTION OF MANTLE EDGE OF SPAT OF *Ostrea edulis*, TO SHOW THE DEVELOPMENT OF SPECIAL PALLIAL SENSE ORGANS.

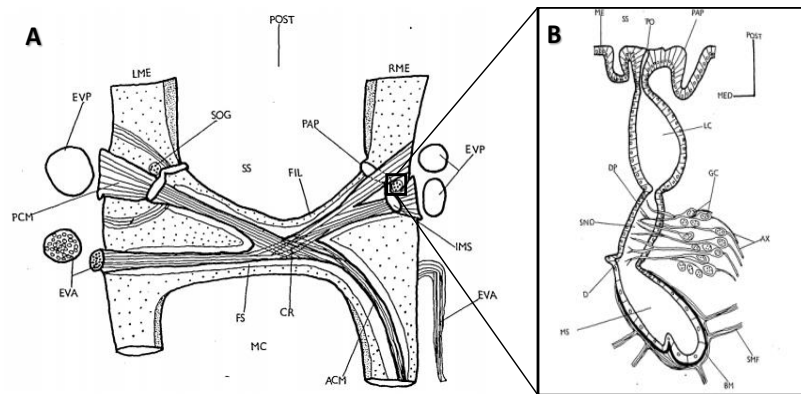
(a) 24-48 HOURS AFTER ATTACHMENT, SHOWING THE MASS OF SECRETION (*s*) PASSING FROM ITS ORIGINAL LOCATION IN THE OUTER SECRETORY EPITHELIUM (*e*), INTO THE RUDIMENT OF THE CAVITY (*c*) OF THE SENSE ORGAN.

(b) 3-4 DAYS AFTER ATTACHMENT, SHOWING THE SENSE ORGAN FULLY FORMED, WITH THE EXCEPTION OF THE ELIMINATION OF THE FEW ISOLATED NUCLEI (*n*). THE SAC COVERED BY THE ATTENUATED INNER EPITHELIUM OF THE MANTLE.

FIGURE 2.7 – Le « Nouvel organe palléal » ou « organe palléal spécial » décrit en 1938 chez l’huître *Ostrea edulis*. (COLE, 1938).

Chez les tellinidae, une autre structure est décrite comme pouvant jouer un rôle dans la détection des ondes sonores appelé, l’organe sensoriel du muscle cruciforme (‘Sense Organ of the Cruciform muscle’ en anglais, Figure 2.8). Cet organe contient deux types de cellules sensorielles, l’une sensible aux vibrations, l’autre à la stimulation mécanique. Il

est situé entre les lobes internes des bords du manteau, près de la base du siphon inhalant. Cet organe pourrait éventuellement jouer un rôle sensoriel dans l'activité de migration observé chez la telline dans les plages sableuses d'après ANSELL (1983).



ACM, anterior part of cruciform muscle; **CR**, crossing of strands; **EVA**, **EVP**, end view of anterior and posterior part, respectively, of the cruciform muscle; **FIL**, fused inner mantle lobes; **FS**, fluid-filled space; **IMS**; intramuscular slit; **LME**, left-mantle edge; **MC**, mantle cavity; **PAP**, papilla of sense organ; **PCM**, posterior part of cruciform muscle; **POST**, posterior; **RME**, right mantle edge; **SOG**; sense organ ganglion; **SS**, siphonal space. **AX**, axons of ganglion cells(GC) which form the sense organ nerve; **BM**, basement membrane; **D**, diverticulum; **DP**, dendritic process; **LC**, large cavity; **ME**, inner mantle epithelium; **MED**, median side; **PO**, papilla opening; **SND**, short narrow duct.

FIGURE 2.8 – Organe sensoriel du muscle cruciforme présent chez *Scrobicularia plana*. A, vue ventrale du muscle cruciforme et des bords postérieurs du manteau. B, Schéma représentant l'organe sensoriel. (ODIETE, 1978)

Finalement, chez *Mytilus edulis*, LACOURSE et NORTHROP (1978) ont décrit la présence de mécanorécepteurs sensibles aux stimuli mécaniques appliqués sur le byssus. Ils ont démontré qu'une stimulation mécanique au niveau du muscle antérieur rétracteur du byssus génère une activité électrique au niveau du nerf associé. Il est probable que cet organe détecte des vibrations transmises via le substrat. Les vibrations sonores originaires de la colonne d'eau étant transmises dans le substrat, ces mécanorécepteurs pourraient être stimulés lors de l'émission des vibrations sonores.

Le statocyste, récepteur profond, organe de l'équilibre.

Un dernier organe qui est potentiellement capable de détecter des stimuli sonores est le statocyste. Sa fonction première acceptée dans la littérature est dédiée à l'équilibre. Il fournit des informations sur la position du corps et le mouvement dans les trois dimensions de l'espace (NEUMEISTER et BUDELMANN, 1997). Mais en plus d'avoir cette fonction d'équilibre, le statocyste peut jouer un rôle dans la détection du mouvement des particules dans un milieu mis en vibrations (BUDELMANN, 1992).

Chez les mollusques en général, le statocyste peut être présent sous forme d'un simple récepteur de gravité ou sous une forme plus complexe chez les céphalopodes avec la

présence de plusieurs récepteurs pour reconnaissance de position et la détection de mouvements de rotation (Figure 2.9). Les éléments structurels de base restent les mêmes. Le statocyste est une capsule dont la face intérieure est tapissée de cellules ciliées. Il est rempli de liquide et contient un ou plusieurs corps denses. Ce corps est appelé statolithe quand il est retrouvé seul et statoconie quand il y en a plusieurs (Figure 2.9 B-C). Entourant le statolithe au niveau des parois, les cellules ciliées sont activement excitées lorsqu'elles sont courbées par le statolithe (ALKON, 1975). Si on considère le problème de la détection de vibrations sonores, lors du passage d'une onde sonore à travers le corps d'un bivalve, une différence de mouvements entre le statolithe ou les statoconies (plus denses) et le statocyste et le reste du corps doit prendre place. Le corps d'un bivalve ayant à peu près la même densité que l'eau, il doit se déplacer avec l'onde sonore à la même vitesse. Au contraire, le statolithe ou les statoconies qui ont une densité trois fois plus élevée que l'eau doivent se déplacer moins vite, à cause de leur inertie (ROGERS et COX, 1988). Leurs mouvements à l'intérieur du statocyste doivent déformer les cellules ciliées produisant une réponse physiologique.

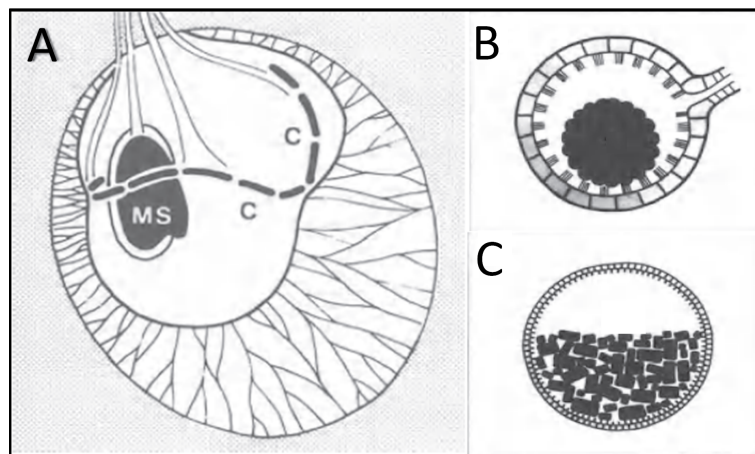


FIGURE 2.9 – Diversité morphologique du statocyste chez quelques invertébrés. A, vue latérale du statocyste gauche chez le céphalopode *Octopus vulgaris* composé d'un récepteur de gravité (MS) et d'un récepteur de vitesse angulaire. B, Forme du statocyste chez certains bivalves. C, Forme du statocyste chez le gastéropode *Pomacea paludosa* composé de plusieurs statoconies. (BUDELMANN, 1992).

Chez les bivalves marins, BARBER et DILLY (1969) ont rapporté la présence d'un statocyste chez la coquille St Jacques à l'âge adulte. Celui-ci est aussi présent chez ce bivalve à l'état larvaire (CRAGG et NOTT, 1977). Chez l'huître, le statocyste a été décrit au stade pédivéligère chez *Crassostrea virginica* et se trouve à proximité de la glande du byssus et du ganglion pédieux (ELLIS et KEMPF, 2011). Il persiste chez l'adulte. Après fixation et absorption du pied, il s'enfonce plus profondément dans le corps jusqu'à ce qu'il se trouve sous la racine des premiers filaments branchiaux, en position ventrale et légèrement postérieure à la bouche (COLE, 1938). Le statocyste a été décrit par CARAZZI (1897) chez l'adulte d'*Ostrea edulis* et a également été trouvé chez *O. chilensis* par DAHMEN (1923).

Chez les céphalopodes et les crustacés on a démontré par électrophysiologie la sensibilité du statocyste à des vibrations sinusoïdales dans la gamme de fréquence audible entre 10-200 Hz et 100-3000 Hz respectivement (LOVELL et al., 2005 ; WILLIAMSON, 1988). Chez les bivalves, aucun enregistrement électrophysiologique du statocyste n'existe à ce jour.

2.5 Bruit d'origine anthropique

Les activités humaines introduisent de multiples sources nuisibles dans le milieu marin qui peuvent avoir différents effets sur les organismes qui y vivent. En juillet 2008, une directive du parlement européen a été adoptée et vise à la réalisation d'un bon état écologique marin d'ici 2020 (DIRECTIVE, 2008). L'annexe 1 de la directive liste les 11 descripteurs permettant de parvenir à un bon état écologique et l'un d'entre eux inclut l'introduction d'une énergie telle que le bruit sous-marin à des niveaux sonores qui n'affectent pas irréversiblement l'écosystème marin. L'introduction du bruit dans le milieu marin peut être de courte durée (p. ex. construction de fondations sous-marines, recherche sismique et explosion) ou de longue durée (p. ex. trafic maritime, plateforme pétrolière et éolienne) affectant ainsi les organismes marins de différentes manières.

2.5.1 Bruit sous-marin persistant

Bruit généré par le trafic maritime

L'augmentation du volume globale de marchandise à transporter durant ces dernières décennies a entraîné un développement important et accru du transport maritime. L'industrialisation croissante et les progrès technologiques ont rendu ce mode de transport plus efficace, rentable et rapide. La quantité de marchandises transportée a quadruplé entre 1970 et 2015 pour atteindre 10 milliard de tonnes transporté en 2015 (10 047 millions de tonnes en 2015 contre 2 605 millions de tonnes en 1970 ; UNCTAD 2016). En 2017, le commerce maritime représentait 80 % du volume total du commerce mondial (OECD/ITF, 2017)). Le nombre total de navires dans la flotte marine mondiale est estimé à 93 200 dont 28 % sont composés de gros cargos y compris les pétroliers et les porte-conteneurs (www.unctadstat.unctad.org).

Globalement, le trafic maritime n'est pas uniformément distribué à travers le globe terrestre (Figure 2.10). Les principales routes suivent la bande côtière afin de gagner en temps et minimiser la distance parcourue. En même temps, d'autres navires tels que les bateaux de pêche, de plaisance et de recherche sismique peuvent se trouver dans des zones océaniques très étendues. Une activité intense est visible dans l'hémisphère nord et principalement en Europe et en Asie (Figure 2.10). En analysant les données du trafic maritime en fonction des types de navires, JOHANSSON et al. (2017) ont rapporté une forte émission de particules fines (PM_{2.5}) et d'oxyde de soufre (SO_x) liée au trafic maritime dans différentes régions tels que les côtes européennes adjacentes à l'Atlantique

Nord, en Méditerranée, en mer de Chine, dans la mer Rouge, dans le golfe du Mexique, la mer des Caraïbes et le long de la côte occidentale de l'Amérique du Nord (Figure 2.11). Les plus fortes densités d'émissions ont été localisées dans la zone comportant les plus grands ports au monde comme Singapour, Hong Kong, Anvers, Shanghai, Los Angeles et Rotterdam. Les pétroliers et les navires porte-conteneurs contribuent de manière significative à ces émissions de gaz (JOHANSSON et al., 2017). Par extension, de cette analyse des taux d'émissions de gaz produit par le trafic maritime on peut déduire les régions probablement impactées par des niveaux sonores élevés liés au trafic maritime. Le site marinetraffic.com qui donne en temps réel l'état du trafic maritime mondial permet également d'avoir une image de sa distribution dans le monde (Figure 2.10).

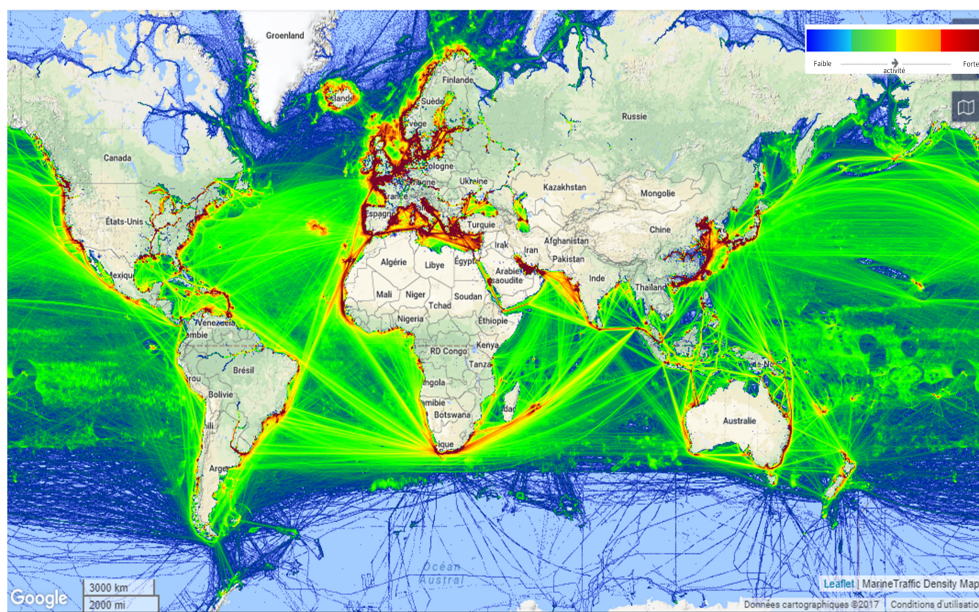


FIGURE 2.10 – Distribution du trafic maritime à travers le globe terrestre. (www.marinetraffic.com)

Des mesures du bruit ambiant dans l'océan Pacifique dans les années 2003 et 2004 comparées à d'autres faites dans les années 60 au même site avaient montré une augmentation du niveau sonore de 12 dB dans la gamme de fréquence entre 30 et 50 Hz (MCDONALD et al., 2006). Cela correspond à une augmentation de 3 dB par décennie. On peut lier cette augmentation à la croissance accélérée du trafic maritime durant cette période. En effet, les changements temporels du bruit ambiant dans les basses fréquences sont principalement dus aux changements de l'activité du trafic maritime qui est intimement lié au contexte économique mondial (FRISK, 2012). Cette augmentation du bruit ambiant peut avoir différents effets sur la population marine dans les zones touchées. Par exemple, MCDONALD et al. (1995) a rapporté un changement dans les niveaux sonores des appels de baleines. Celles-ci augmentent le niveau sonore de leur appel de 5 dB en présence de bateaux. Des observations semblables n'ont peut-être jamais été rapportées pour d'autres groupes d'animaux mais on doit faire l'hypothèse qu'elles devraient être du même type.

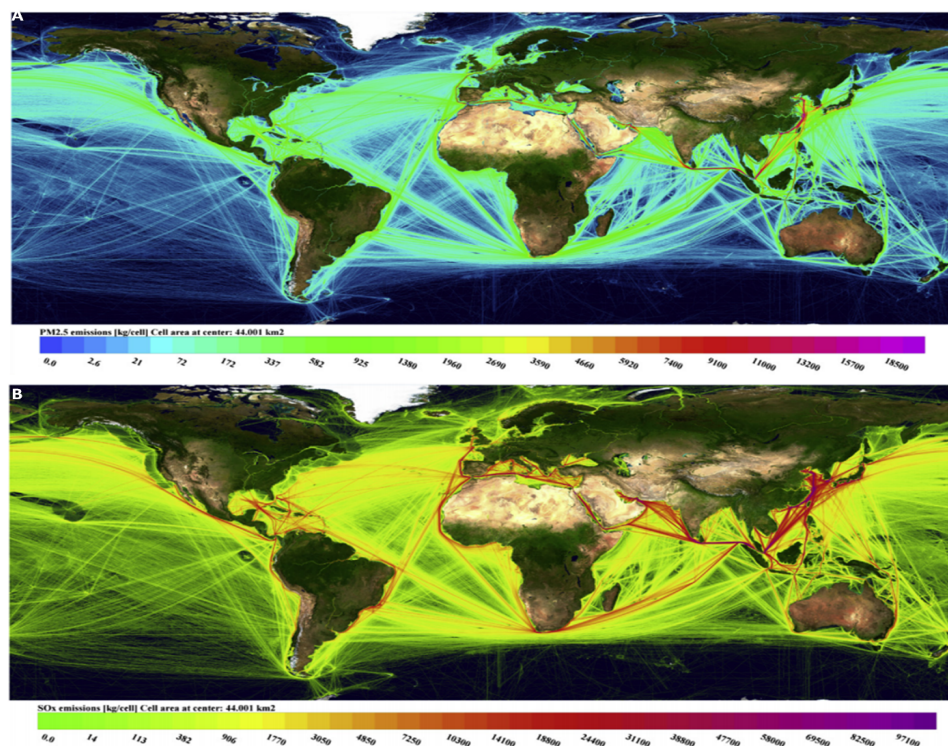


FIGURE 2.11 – Modélisation de la répartition géographique des émissions de particules fines ($PM_{2,5}$, A) et de d'oxyde de soufre (SO_x , B) provenant du trafic maritime en 2015. (JOHANSSON et al., 2017).

Face à l'augmentation du bruit de fond sonore, les animaux qui le peuvent doivent augmenter la puissance de leurs émissions sonores pour communiquer. Pour tous, les bruits faisant leur paysage sonore sont modifiés ou peuvent parfois devenir inaudibles.

Dans certaines régions l'augmentation du bruit ambiant peut être très importante. Les voies maritimes fréquemment utilisées et les ports sont parmi les zones les plus touchées. Par exemple, dans la mer celtique à l'extrémité ouest de la Bretagne, une des voies maritimes les plus utilisées au monde, avec plus d'une centaine de passages par jour, le niveau sonore mesuré est de 11 dB supérieur à celui mesuré à 40 km de la route maritime dans la bande spectrale centrée à 63 Hz (KINDA et al., 2017). De manière plus intense, le trafic portuaire peut dépasser les 2 300 passages par jour dans certains ports (www.marinetraffic.com). Le niveau sonore peut augmenter de 25 dB par rapport au bruit ambiant (MIHAIL et al., 2010).

Le bruit généré par les bateaux dépend de leur type, leur taille, leur vitesse et de leur mode de propulsion. Les pétroliers, les cargos et les gros navires de passagers sont les navires les plus bruyants et on estime qu'ils contribuent largement à l'augmentation du bruit ambiant (ROSS, 2013). Le son émis est composé d'une large bande fréquentielle avec un maximum d'énergie acoustique confiné dans la gamme basse (< 100 Hz ; MCKENNA et al., 2012). Les gros navires de commerce produisent des niveaux sonores avec une énergie

acoustique concentrée au-dessous de 100 Hz (192 dB re $1\mu\text{Pa}@1\text{m}$; HILDEBRAND, 2009), alors que les petits bateaux (bateaux de plaisance et certains bateaux de pêche) génèrent des fréquences plus hautes (1000-5000 Hz ; 160 dB re $1\mu\text{Pa}@1\text{m}$; HILDEBRAND, 2009) et sont généralement considérés comme ayant un impact limité géographiquement.

Bruit lié à des activités industrielles en mer

Eolien. Le son généré par les éoliennes en mer constitue une source de bruit continu et chronique à l'instar du bruit généré par le trafic maritime. Les parcs éoliens sont conçus pour avoir une durée de vie entre 20 et 25 ans (HOU et al., 2017) avec une possible extension de vie et par conséquent le bruit généré par cette activité risque d'affecter à long terme les organismes marins proches du site d'activité (GILL, 2005). Leur distribution est principalement localisée dans des eaux peu profondes ($< 25\text{ m}$) et à une distance de 30 km du littoral (HO et MBISTROVA, 2015). En Europe, 3 230 turbines sont installées avec 70 % de la capacité principalement concentrée dans la mer du Nord (HO et MBISTROVA, 2015).

Les différents composants d'une éolienne contribuent de manière significative au bruit sous-marin. Les pales génèrent un bruit aérodynamique induit par le vent qui se transmet à la colonne d'eau. En plus, la force appliquée par les vagues sur la structure et les vibrations générées par la turbine sont directement transmises à la colonne d'eau et au fond marin. L'énergie sonore produite est principalement composée de basses fréquences et dépend entre autres de la taille de l'éolienne, des conditions météorologiques ainsi que de la topographie du sous-sol (GÖTZ et al., 2009). Dans un rapport de DEGN (2000), le bruit sous-marin généré par une éolienne d'une capacité de 450 kW était évalué à 119 dB re $1\mu\text{Pa}$ à 25 Hz. Les mesures ont été prises à une distance de 20 m de l'éolienne, avec une vitesse de vent de $13\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ et avec un bruit ambiant de 86 dB re $1\mu\text{Pa}$ (à 25 Hz, éolienne à l'arrêt). La différence correspond à une augmentation du bruit ambiant de 33 dB. LINDELL (2003) a rapporté un fort niveau sonore sous-marin de 150 dB re $1\mu\text{Pa}@1\text{m}$ (180 Hz) et une accélération mesurée au niveau de la structure de $0,1\text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ pour une éolienne d'une puissance de 1,4 MW. Cette énergie acoustique libérée peut être détectée par des poissons sur des distances très grandes (WAHLBERG et WESTERBERG, 2005). Au moyen d'estimations et en utilisant les mesures acoustiques faites par LINDELL (2003), WAHLBERG et WESTERBERG (2005) ont estimé que le son émis par l'éolienne pourrait être détecté à une distance de 13 km par la morue de l'atlantique (*Gadus morhua*). Tout au long du cycle de vie d'un parc d'éolien, une augmentation du trafic maritime s'effectue à des fins de maintenance ce qui augmente de manière significative le bruit ambiant dans cette zone.

Pétrole et gaz. Des activités liées à la production et à l'exploitation des puits de pétroles telles que le forage à partir de plateformes fixes, mobiles ou à l'aide de navires de forage ainsi que le ravitaillement par bateaux produisent un bruit qui est relativement continu. Généralement, le bruit émis par les navires de forage est le plus fort avec un niveau sonore

de 190 dB_{rms} re 1 μPa@1m dans la gamme de fréquence entre 10 Hz et 10 kHz (RICHARDSON et al., 2013). Ce niveau sonore élevé est principalement dû à la transmission efficace du son par la coque du bateau et par l'utilisation continue de propulseurs afin de se tenir dans une position stable. Les données sur les niveaux sonores générés par les plateformes pétrolières sont plutôt rares. McCAULEY (1998) a enregistré le bruit émanant d'une plateforme pétrolière en mer de Timor près des côtes australiennes à une profondeur de 110 m. Le bruit ambiant mesuré était de 90 dB re 1 μPa sans aucune activité liée à la plateforme ou au trafic maritime proche. Le niveau sonore enregistré lors du fonctionnement de la plateforme était de 117 dB re 1 μPa à 125 m ce qui correspond à 158 dB re 1 μPa@1m.

2.5.2 Bruit sous-marin impulsif

Battage de pieux

Le battage de pieux génère des niveaux sonores très élevés à des fréquences basses. Cette technique est utilisée lors de la construction de fondations telles que celles utilisées pour les plateformes pétrolières et les parcs éoliens. Lors d'opération de construction en mer, un pieu est enfoncé dans le fond marin à l'aide d'un marteau hydraulique. La force générée par le marteau hydraulique peut dépasser les 3 000 kJ. La durée de chaque impulsion varie entre 30 et 50 ms avec une répétition toutes les 2 à 4 s (HILDEBRAND, 2009). Une autre méthode utilisée est l'enfoncement de pieux par mouvement vibratoire avec une fréquence de 20 à 40 Hz (MERCK et al., 2014). Cette méthode permet d'obtenir un niveau sonore inférieur de 15 à 20 dB par rapport à la méthode de battage avec marteau hydraulique (ANDERSSON et al., 2016). Néanmoins, la technique par mouvement vibratoire présente un caractère plus continu.

Le bruit généré lors de battage de pieux se propage par trois voies. L'impact au niveau de l'extrémité supérieure du pieu génère un son qui se propage dans l'air. Toutefois, une grande partie de l'énergie est réfléchiée par l'interface air/eau ce qui rend peu probable une large contribution au bruit sous-marin (SOLAN et al., 2016). Une 2^{ème} partie de l'énergie est transmise par le pieu à la colonne d'eau. Finalement, au niveau de l'extrémité inférieure du pieu qui est dans le substrat, les vibrations sont transmises au fond marin. L'énergie acoustique résultante peut parcourir des dizaines de kilomètres ce qui peut impacter les organismes marins sur des zones étendues (THOMSEN et al., 2006).

Les niveaux sonores mesurés varient selon le diamètre du pieu utilisé, la profondeur et la composition du substrat (NEDWELL et EDWARDS, 2004). Le spectre de fréquence du son généré est compris entre 20 Hz et 20 kHz avec des niveaux sonores qui dépassent les 200 dB_{p-p} re 1 μPa@1m (NAVY, 2014 ; THOMSEN et al., 2006). Par exemple, lors de travaux de construction de structures destinées à l'accostage de bateaux, on a rapporté que les niveaux sonores étaient d'environ 189 dB re 1 μPa@1m pour un pieu de 508 mm de diamètre et de 201 dB re 1 μPa@1m pour un pieu de 914 mm de diamètre (NEDWELL et al., 2003b). Des niveaux sonores relativement plus forts ont été enregistrés lors de

construction de structures pour éoliennes en mer. NEDWELL et al. (2003a) a rapporté un niveau sonore de 260 dB_{p-p} re 1μPa@1m à une profondeur de 5 m et 262 dB_{p-p} re 1μPa@1m pour une profondeur de 10 m. L'énergie maximale était détectée autour de 200 Hz.

Recherche sismique

Lors d'activité de prospection sismique, des canons à air tractés par un navire sont utilisés pour révéler les caractéristiques géologiques du fond marin sur plusieurs milliers de mètres. Les canons à airs libèrent un volume d'air sous haute pression (13,8 millions Pascal ; DRAGOSET, 2000) créant ainsi une onde sonore qui se propage vers le fond marin.

Le son réfléchi est détecté par des hydrophones fixés le long de câble à l'arrière du navire. Durant la prospection sismique, Les canons à airs sont déclenchés toutes les 10 à 15 secondes au fur et à mesure que le navire avance (HILDEBRAND, 2009). Les pulsations sonores créées sont composées de basses fréquences (< 250 Hz) avec une énergie principalement localisée entre 10 et 120 Hz et un pic d'amplitude entre 30 et 50 Hz (GÖTZ et al., 2009). Bien que l'énergie soit concentrée dans les basses fréquences, des études ont aussi rapporté une énergie acoustique significative à des fréquences supérieures à 1 kHz (BAIN et WILLIAMS, 2006 ; DERUITER et al., 2006).

Le niveau de pression acoustique produit par les canons à air dépend de leurs caractéristiques de fonctionnement ainsi que de leur nombre. Les niveaux sonores mesurés peuvent atteindre les 260 dB_{p-p}@1m pour un système de canon à air d'une puissance de 21·10⁷ Watt (HILDEBRAND, 2009).

Le son produit lors de cette activité peut se propager sur de longues distances. Effectivement, NIEUKIRK et al. (2004) ont pu enregistrer le son émis par les canons à air lors de prospection sismique au nord de l'océan atlantique à une distance de 3 000 km des hydrophones. Il faut également noter que le son émis peut aussi se propager à travers le sédiment et revenir dans la colonne d'eau après plusieurs kilomètres (MCCAULEY et HUGHES, 2006).

2.6 Effet de la pollution sonore sur les animaux marins

Les recherches étudiant les effets d'une pollution sonore sur les organismes marins se sont principalement intéressées aux poissons (52 %) et aux mammifères marins (21 % ; WILLIAMS et al., 2015). Chez les mollusques la quantité de travaux scientifiques ne représente que 12 % de la totalité des recherches (principalement chez les céphalopodes) bien qu'ils soient l'un des groupes les plus diversifiés du règne animal et revêtent une grande importance au sein de la chaîne alimentaire et de l'écosystème (WILLIAMS et al., 2015).

L'effet de la pollution sonore sur un organisme dépend, entre autres des capacités auditives de l'individu exposé (quelles fréquences il peut percevoir ?), de l'énergie acoustique reçue, et de la durée d'exposition. La pollution sonore peut directement ou indirectement causer différents effets. Par exemple, elle peut provoquer des changements comportementaux, masquer le signal sonore utile pour les organismes, provoquer des dommages à l'appareil auditif et avoir d'autres impacts physiologiques. Ces différents impacts sont intimement liés entre eux et l'un peut mener à l'apparition d'un autre effet. Un changement du comportement peut provoquer la perturbation de certaines fonctions vitales telles que la respiration et l'alimentation. Une perturbation de ces fonctions peut avoir un impact sur des processus tel que la reproduction ce qui peut avoir des effets sur toute la dynamique de la population avec des effets en chaîne possible sur un écosystème.

Effet du bruit chez les animaux à respiration aquatique (bivalves exclus)

On sait que de nombreux animaux marins utilisent les informations sonores émises dans leur environnement dans plusieurs aspects de leur biologie. La perception de ces informations peut être masquée par la présence d'une pollution sonore. Par exemple chez le poisson crapaud *Halobatrachus didactylus*, VASCONCELOS et al. (2007) ont étudié l'effet du bruit sur la communication entre individus. Lors de l'exposition de ces animaux à un bruit de bateau avec un niveau de pression acoustique de 131 dB à une distance de 20 m, les animaux ont éprouvé des problèmes auditifs temporaires. Les seuils de sensibilité mesurés ont été 36 dB supérieurs aux valeurs normales. En conséquence, le bruit a affecté la capacité de ces animaux à détecter les sons émis par leurs congénères.

Le comportement d'un individu ou de toute la population peut être altéré par le bruit. En effet, il a été démontré qu'un bruit généré par un passage de bateau (127 dB_{rms} re 1 μPa) provoque une plus grande vulnérabilité apparente contre les prédateurs, une réduction de l'activité de nidification et une augmentation de l'agressivité chez un groupe de cichlidés *Neolamprologus pulcher* (BRUINTJES et RADFORD, 2013). Chez l'Épinoche (*Gasterosteus aculeatus*), une exposition à un bruit blanc d'une puissance maximale de 148 dB (100-1000 Hz) a un effet significatif sur l'efficacité de la recherche de nourriture ce qui suppose un impact direct sur la reproduction et la survie (PURSER et RADFORD, 2011). Au niveau de la population, le bruit peut provoquer une migration forcée des animaux vers de nouveaux habitats qui peuvent être non satisfaisants (CARSTENSEN et al., 2006 ; MORTON et SYMONDS, 2002). Cela peut avoir un impact direct sur le taux de capture dans la pêche. Lors de travaux d'exploration sismique, une diminution du taux de capture de la morue (*Gadus morhua*) et de l'églefin (*Melanogrammus aeglefinus*) a été observée. Les taux de capture ont diminué de 70 % et de 50 % à l'intérieur et en dehors du secteur d'activité respectivement (ENGÅS et LØKKEBORG, 2002).

La pollution sonore peut provoquer une série de réponses physiologiques chez les animaux exposés. Les réponses peuvent être, entre autres, sous forme d'une augmentation du métabolisme, une réduction de la croissance ou d'une dépression du système immunitaire.

Exposé à des passages de bateau d'une puissance de 155 dB_{rms} re $1 \mu\text{Pa}$, il a été rapporté que le crabe vert (*Carcinus maenas*) présente une consommation d'oxygène plus élevée c'est à dire une augmentation de son métabolisme (WALE et al., 2013b). Une réduction du taux de croissance et de reproduction avec la présence de comportement agressif a été observée chez la crevette grise (*Crangon crangon*) élevée dans un aquarium comparé à des animaux élevés dans un milieu aux conditions sonores proches de leur environnement d'origine (LAGARDÈRE, 1982). Dans d'autres cas, une exposition au bruit peut avoir un effet délétère sur le système immunitaire. CELI et al. (2015) ont rapporté chez la langouste rouge (*Palinurus elephas*) exposée au bruit de bateau, une décroissance du nombre totale d'hémocytes et de l'activité de la phénoloxydase ainsi qu'une augmentation de l'expression des protéines totales et de la protéine de stress Hsp27.

Effet du bruit sur les bivalves marins

Chez les bivalves et les invertébrés marins en général, il n'y a que quelques études qui se sont intéressées aux effets provoqués par la pollution sonore (voir SOTO, 2016). Elles ont en général rapporté des réponses comportementales (fermeture des valves, enfouissement) lors de l'exposition à des stimulus sonores (ELLERS, 1995 ; MOSHER, 1972 ; ROBERTS et al., 2015 ; ZHADAN, 2005). Toutefois, ces recherches se sont focalisées sur l'étude de la détection du son et la détermination des seuils de sensibilité en utilisant des stimuli sonores de courtes durées (entre 5 s et 60 min).

En 1996, DONSKOY et al. (1996) ont dirigé une étude afin de développer des techniques acoustiques pour tenter de contrôler l'envahissement de la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) dans des conduits d'eau. Ils ont pu démontrer qu'une exposition de ces moules à des basses fréquences ($< 200 \text{ Hz}$) générées directement dans la colonne d'eau empêche leur accrochage au substrat et a un impact significatif sur leur capacité de reproduction. Dans un autre travail sur la coque commune (*Cardium edule*), KESTELEIN (2008) a étudié l'effet d'une exposition à des vibrations sur leur comportement. La coque vit continuellement enfouie dans le sédiment et utilise ses siphons pour filtrer et se nourrir de plancton. Exposé à des vibrations à différentes fréquences et amplitudes, KESTELEIN (2008) a observé une rétraction du siphon avec une fermeture des valves. Toutefois les auteurs non pas pu conclure si cette réaction comportementale perdure dans le temps. Les fréquences et puissances provoquant cette réponse comportementale ne sont pas mentionnées dans leur article. Contrairement à ce qui avait été rapporté chez la coque (*C. edule*), VAZZANA et al. (2016) n'ont observé aucun changement comportemental chez la moule méditerranéenne (*Mytilus galloprovincialis*) exposée à des bruits à différentes plages de fréquence ($0,1\text{--}5 \text{ kHz}$; $5\text{--}10 \text{ kHz}$; $10\text{--}20 \text{ kHz}$; $20\text{--}40 \text{ kHz}$; $40\text{--}60 \text{ kHz}$; 150 dB_{rms} re $1 \mu\text{Pa}$). Mais les animaux présentaient toujours des taux élevés de glucose, protéines totales, nombre total d'hémocytes, protéine de stress Hsp70 et de l'activité de l'acétylcholinestérase. L'absence d'une réponse comportementale peut être liée aux choix de la composition fréquentielle du stimulus ou aux conditions expérimentales.

Tout récemment deux études mieux élaborées pour la question qui nous intéresse dans cette thèse se sont focalisées sur l'impact d'une exposition sonore sur des durées plus longues. SOLAN et al. (2016) se sont intéressés à l'étude de l'impact de bruit impulsif et continu sur l'activité locomotrice d'un bivalve marin (la palourde *Ruditapes philippinarum*). Ce bivalve a été exposé durant 7 jours à un son continu mimant un passage de bateau d'une puissance comprise entre 135 et 140 dB re $1\mu\text{Pa}$ et à des sons impulsifs similaires à ceux enregistrés lors de travaux de construction des éoliennes en mer (puissance proche de 150 dB re $1\mu\text{Pa}^2\text{s}$). Les auteurs ont discuté du fait que la réduction de l'activité locomotrice *in situ* (diminution de la bioturbation) pourrait conduire à une diminution de la contribution de ce type de bivalves dans le transport et le transfert d'éléments nutritifs. Ce type de réponse, à échelle plus large pourrait avoir des répercussions sur tout l'écosystème comme l'ont discuté les auteurs. De son côté, PENG et al. (2016) ont fait une comparaison entre l'effet d'un bruit anthropique (100 dB) et d'un bruit naturel (80 dB) enregistré dans une zone intertidale sur le bivalve *Sinonovacula constricta*. Les résultats ont montré qu'une exposition à un bruit blanc de 100 dB active une réaction d'enfouissement, un ralentissement du métabolisme reflété par une répression des gènes impliqués dans la glycolyse, la biosynthèse des acides gras, le métabolisme du tryptophane et le cycle de Krebs. À l'inverse, un bruit naturel d'un niveau sonore de 80 dB était associé à des animaux plus actifs.

L'impact du bruit peut être critique dès le stage larvaire. Par exemple, les larves de pétoncle (*Pecten novaezelandiae*) exposées à des impulsions sonores ont éprouvé des malformations avec un retard significatif de développement (DE SOTO et al., 2013). Une vulnérabilité excessive au son a été aussi observée au stage véligère. Les auteurs ont lié cette observation à la calcification de la coquille qui crée une impédance sonore qui augmenterait le stress mécanique avec les tissus adjacents.

L'effet du bruit peut donc avoir de multiples effets à différents stades de la vie des bivalves. Mais cet impact peut aussi avoir des répercussions économiques majeures via les services fournis par le milieu naturel à l'homme. Le bruit peut en effet toucher la productivité de l'ensemble de l'écosystème. Il a été rapporté en 2010 par des pêcheurs une mortalité accrue de coquille St Jacques synchronisée avec de la prospection pétrolière au large de la côte de Tasmanie (Australian ABC news, 21 Octobre 2016). Les pertes ont été estimées à 70 millions de dollars pour un total de 24 000 tonnes de coquille St Jacques. Des recherches expérimentales ont été conduites pour déterminer les causes de ces mortalités et ont montré un impact physiologique chez les coquille St Jacques adultes exposés à des impulsions sismiques (DAY et al., 2017). Par contre elles n'ont tiré aucune conclusion sur un lien direct entre la mortalité de ces animaux observée par les pêcheurs et la prospection pétrolière.

Nous étudierons dans ce travail les capacités auditives chez un exemple de mollusque bivalve dont la culture est très largement développée au niveau international, l'huître du

Pacifique *Magallana gigas*, anciennement *Crassostrea gigas*.

Nous montrerons quelles fréquences elle peut "entendre" à partir d'une source localisée dans la colonne d'eau et nous calculerons les seuils de puissance provoquant une réponse comportementale. La réponse comportementale mesurée étant une fermeture transitoire des valves qui est un comportement de protection, nous proposerons que l'huître puisse entendre à des seuils de pression sonore plus bas que ceux que nous rapporterons (Chapitre 4). Nous discuterons de ce que suggèrent nos travaux et des nouvelles relations possibles qu'on peut maintenant imaginer entre l'huître et un environnement sonore naturel.

Nous étudierons ensuite l'impact que peut avoir l'exposition à la pollution sonore chez l'huître du Pacifique en laboratoire (Chapitre 5) et sur le terrain (Chapitre 6).

Dans le chapitre 5 nous exposerons les animaux à une pollution sonore qu'on peut trouver dans un port d'activité moyenne (92 passages de cargo /jour). Nous verrons que la pollution sonore a un impact répressif (ou dépressif) sur la physiologie des huîtres et nous concluons que cet effet agit via un phénomène qui n'avait jamais été rapporté, une diminution de leur activité de ventilation et de filtration.

Dans le chapitre 6 nous analyserons des résultats obtenus sur 2 ans d'étude lors d'enregistrements réalisés dans le Port de Santander. Nous y avons suivi des animaux natifs de Santander et des animaux ayant subi une transplantation depuis une baie propre proche de Santander, San Vicente de la Barquera, dans le port de Santander. Une telle étude est d'abord l'analyse d'une situation multistress dans laquelle la pollution sonore est un stress parmi d'autres. Mais nous verrons qu'on retrouvera à Santander des modifications comportementales décrites en laboratoire où nous les avons attribuées au bruit.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1 Modèle biologique

3.1.1 L'huître *Magallana gigas*

L'huître *Magallana gigas* précédemment *Crassostrea gigas* (Thunberg , 1793), appelée aussi l'huître creuse, est un mollusque bivalve du genre *Magallana* et de la famille des *Ostreidae*. Son anatomie a été largement étudiée mais le travail de GALTISOFF (1964) sur l'espèce américaine *Crassostrea virginica* reste une référence intéressante. L'huître a deux valves asymétriques reliées au niveau de la charnière par un ligament élastique avec une valve inférieure concave (valve gauche) qui s'attache au substrat et une valve supérieure (valve droite) plate (Figure 3.1 A). Elle est facilement identifiable avec sa couleur vert gris et sa coquille laminé et rugueuse. Elle se fixe individuellement ou en groupe sur des roches ou des substrats mous en zones intertidale ou subtidale. C'est un organisme filtreur qui se nourrit de phytoplancton et peut tolérer une large gamme de températures et de salinité (RUESINK et al., 2006).

La coquille de l'huître protège le corps mou se trouvant à l'intérieur. Celui-ci est entouré par un manteau et contient différents organes (Figure 3.1 B). Les branchies sont les organes respiratoires de l'huître mais ils interviennent aussi dans l'alimentation. Le système digestif est quant à lui constitué d'une bouche, d'un court œsophage et d'un estomac qui se termine par l'anus. Le système circulatoire de l'huître comprend un cœur, des artères et des veines.

Le système nerveux, considéré dans l'échelle animale comme peu développé, comprend une paire de ganglions cérébroïdes et une paire de ganglions viscéraux. Finalement, l'appareil reproducteur comprend une gonade qui enveloppe la glande digestive.

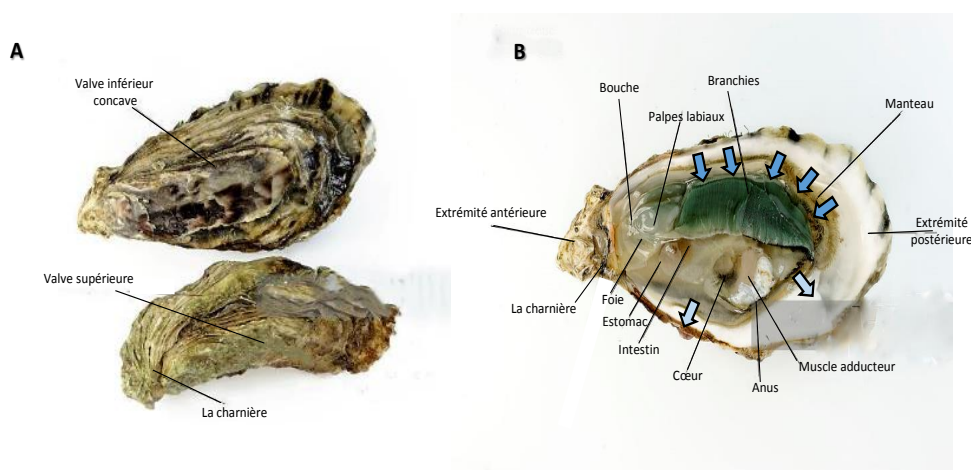


FIGURE 3.1 – L’huître creuse *Magallana gigas*. A, vue supérieure et inférieure de la coquille. B, anatomie de l’huître *M. gigas*. Les flèches indiquent le sens du courant d’eau ventilée.

3.1.2 Préparation pré-expérimentale des huîtres

Les huîtres utilisées lors des différentes expériences provenaient de 3 sites différents selon le lieu de l’expérimentation (Arcachon, Santander et San Vicente). Elles ont été prélevées sur place ou obtenues auprès d’ostréiculteurs locaux. À Arcachon, avant toute expérimentation, les huîtres (provenant d’Arcachon) ont été maintenues en stabulation pendant 3 semaines dans des grands réservoirs (400 L) alimentés en eau de mer en circuit ouvert et soumises à la photopériode naturelle.

Avant le début de chaque expérience, les huîtres ont été récupérées et équipées de capteurs pour le suivi de leur comportement. Cette manipulation qui n’apparaît pas invasive provoque pourtant un stress très clair à l’enregistrement chez les animaux qui mettent environ 1 semaine à récupérer (Massabuau, observation personnelle). Pour cette raison, les huîtres sont posées dans les bacs expérimentaux pour une durée minimale d’acclimatation de 7 jours avant le début effectif de l’expérience.

3.2 Design expérimental

Au cours de ce travail de thèse, 3 expériences ont été réalisées. Les procédures et les designs expérimentaux suivis sont présentés dans cette partie.

3.2.1 Expérience 1 en laboratoire

Cette première expérience avait pour objectif l’étude du sens de l’audition chez l’huître *Magallana gigas* et fait l’objet d’un article traité en détail dans le chapitre 4 (article : The sense of hearing in the Pacific oyster, *Magallana gigas*). L’expérience a pris place dans les locaux de la station marine d’Arcachon. Les huîtres ont été placées dans un anneau d’un volume de 350 L (Figure 3.2) situé dans une salle d’expérimentation climatisée

et rendue hermétique à la lumière extérieure. Les huîtres posées sur un sac à huîtres vide étaient continuellement alimentées en eau de mer non filtrée. L'eau était pompée en continu de la baie d'Arcachon. Du phytoplancton était ajouté quotidiennement. La température, la photopériode, la salinité et le pH étaient continuellement contrôlés tout au long de l'expérience. Les plus grands soins ont été pris pour minimiser les vibrations générées par l'expérimentateur et celles transmises par des sources externes. Pour réduire ces vibrations transmises à l'anneau, le débit d'eau a été canalisé sous l'eau pour éviter une collision avec la surface et la création de bulles. La production de courant dans l'anneau a été générée à l'aide d'un axe pourvu de disques rotatifs entraînant le mouvement de l'eau. En effet, la vitesse du courant d'eau influence profondément l'activité ventilatoire chez les huîtres (DOLMER, 2000) et dans cette expérience le courant généré était maintenu constant tout au long de l'expérimentation. L'anneau a également été isolé des vibrations extérieures à l'aide de supports d'absorption de vibrations composés de balles de tennis, de bacs de sable et de planches de bois aggloméré. Tous les équipements d'acquisition des enregistrements audio ont été placés à distance pour minimiser toute perturbation pendant les essais et le comportement était suivi en ligne pour détecter toute perturbation anormale.

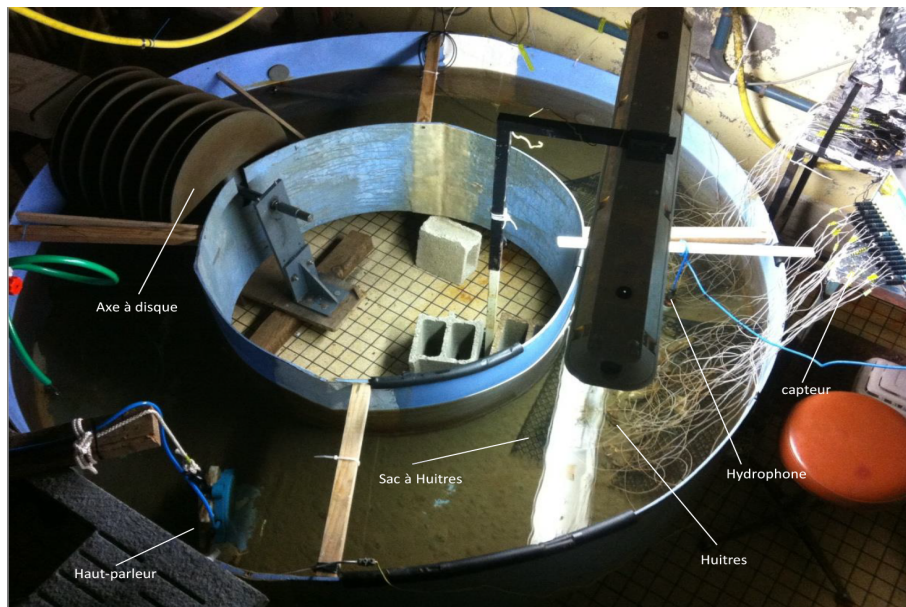


FIGURE 3.2 – Illustration du dispositif expérimentale pour la caractérisation du sens de l'audition chez l'huître *Magallana gigas*. Volume : 350 L, diamètre extérieur : 2 m, diamètre intérieur : 1 m.

Les huîtres ont été exposées lors de cette expérience à différents stimulus sonores. Le son généré était sous forme d'un son pur composé d'une unique fréquence (Figure 3.3). Bien que les sons purs soient peu susceptibles de se produire dans le terrain, seule une compréhension de la réponse des huîtres à l'égard de chaque fréquence permet une bonne caractérisation de leur capacité à percevoir des sons.

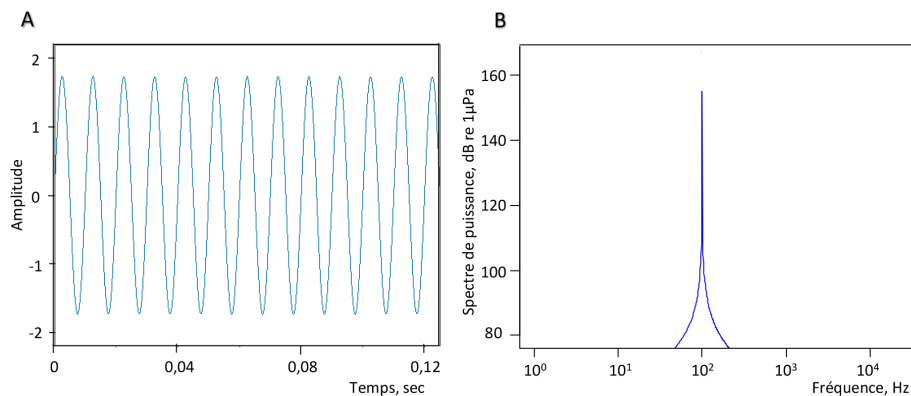


FIGURE 3.3 – Exemple d’un stimulus utilisé lors de l’exposition des huîtres au son. A, onde sinusoïdale. B, Analyse spectrale de l’onde sinusoïdale montrant sa composition fréquentielle (100 Hz) et sa puissance.

Lors de ces tests, le comportement des animaux était affiché directement sur une interface de commande Labview (Figure 3.4). Ceci permettait d’observer les réactions des animaux aux stimuli sonores appliqués en temps réel. Tous les tests ont été effectués durant la période d’éclairage c’est-à-dire entre 9 et 18 h.

Les enregistrements valvaires des animaux sur toute la période des tests ont été stockés sur ordinateur pour un traitement ultérieur.

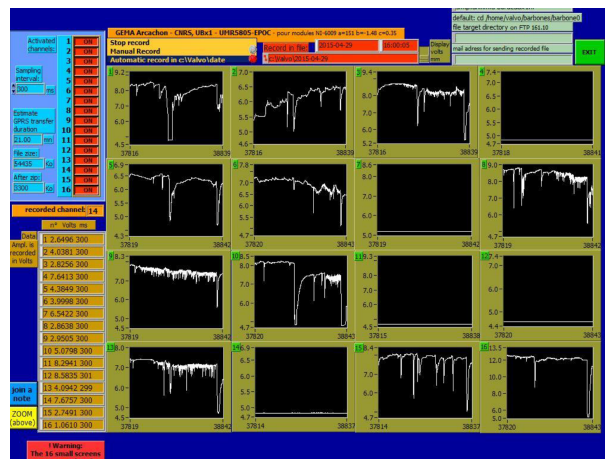


FIGURE 3.4 – Interface du logiciel Labview pour le suivi et l’enregistrement du comportement valvaire des huîtres.

3.2.2 Expérience 2 en laboratoire

La deuxième expérience a eu lieu également en laboratoire et avait pour objectif l’étude de l’effet de la pollution sonore et son interférence avec une pollution métallique sur les huîtres (Chapitre 5 ; article : Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas*). L’expérience a été menée dans la même pièce que pour l’expérience 1 non plus dans l’anneau décrit plus haut mais pour

des raisons pratiques dans des bacs. Les huîtres ont été disposées dans 4 bacs identiques (Figure 3.5). Les bacs ont été alimentés en eau de mer non filtrée provenant du bassin d'Arcachon. Le débit de renouvellement de l'eau a été contrôlé à l'aide d'un débitmètre. Pendant l'expérimentation, les huîtres ont été nourries avec des algues déshydratées. Et afin d'homogénéiser le volume d'eau dans les bacs et créer un courant d'eau minimum et stable, des bulleurs d'aquarium placés dans des airs lifts ont été utilisés. Tout au long de l'expérience, les paramètres physiques (température, pH et salinité) ont été surveillés. Les huîtres ont été soumises, durant toute la période, à une alternance lumière : obscurité de 13h : 11h.

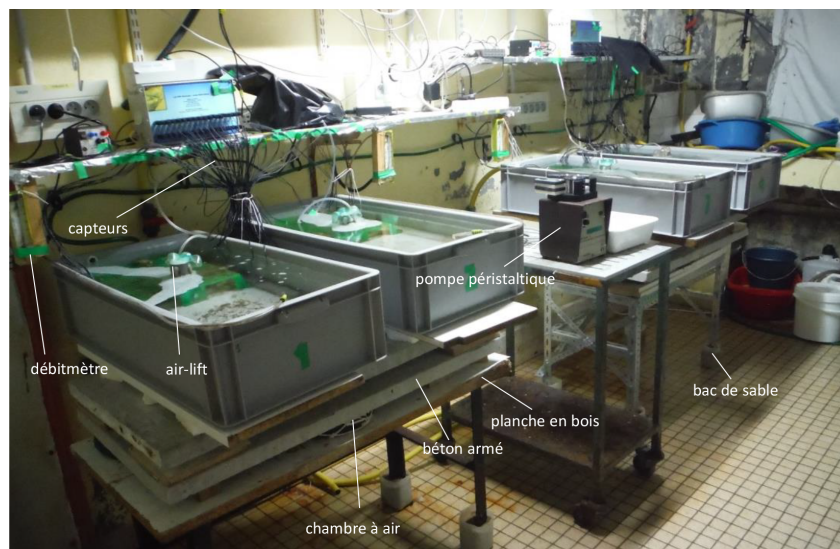


FIGURE 3.5 – Vue générale du dispositif utilisé lors d'exposition des huîtres au bruit couplé à une contamination métallique.

Pour réduire au maximum toute transmission des vibrations, les bacs ont été installés sur des bancs antivibratoires. Le système était composé de différentes couches : bacs à sable, balles de tennis, planches de bois aggloméré, chambres à air et plaques en béton. Le but à nouveau était de prévenir et limiter toute perturbation de l'activité ventilatoire des animaux étudiés (MASSABUAU, 2001).

Des huîtres équipées de capteurs pour le suivi de leur comportement ont été placées à nombre égal dans les 4 bacs. D'autres huîtres non équipées ont été étudiées sans capteur pour quantifier la teneur en cadmium dans leurs tissus et procéder à des analyses génétiques. Sur les 4 bacs, deux bacs (2 répliquas) ont été utilisés pour l'exposition au bruit couplé à une contamination au cadmium alors que les deux autres bacs (2 répliquas) ont été contaminés au cadmium sans exposition au bruit. Dans les bacs exposés au bruit, un haut-parleur a été suspendu et immergés dans la colonne d'eau pour la production du son (Figure 3.6).

Après une période d'acclimatation qui a duré 6 jours, les huîtres placées dans les bacs équipés de haut-parleur ont été exposées au bruit. L'idée était d'exposer les animaux à une

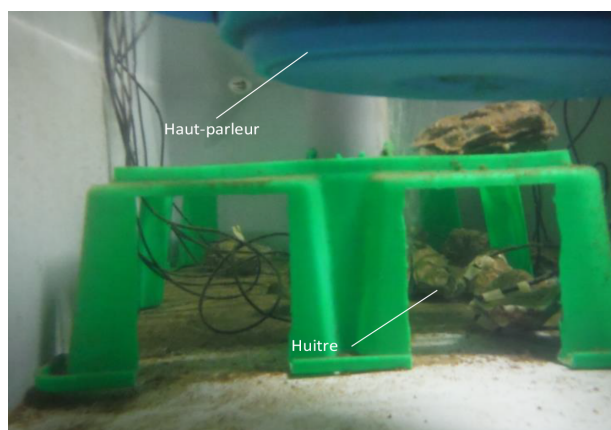


FIGURE 3.6 – Vue de l'intérieur du bac expérimentale avec une vue sur le haut-parleur immergé.

ambiance sonore relativement proche de celle observée dans un port de commerce. Les pistes sonores ont donc été créées pour obtenir des bruits de passage de bateau (Figure 3.7) avec des périodes de silence (= bruit ambiant) entre les passages pour un total de 92 passages par jour. Après les 5 jours d'exposition au bruit, la contamination au cadmium (concentration de cadmium libre = $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) a été initiée dans tous les bacs pour une période de 15 jours. Lors de l'exposition, la concentration du cadmium a été vérifiée à l'aide de prélèvements journaliers d'eau. Les prélèvements des individus pour le dosage du cadmium dans les tissus et pour l'analyse génétique ont été effectués pendant la période d'exposition.

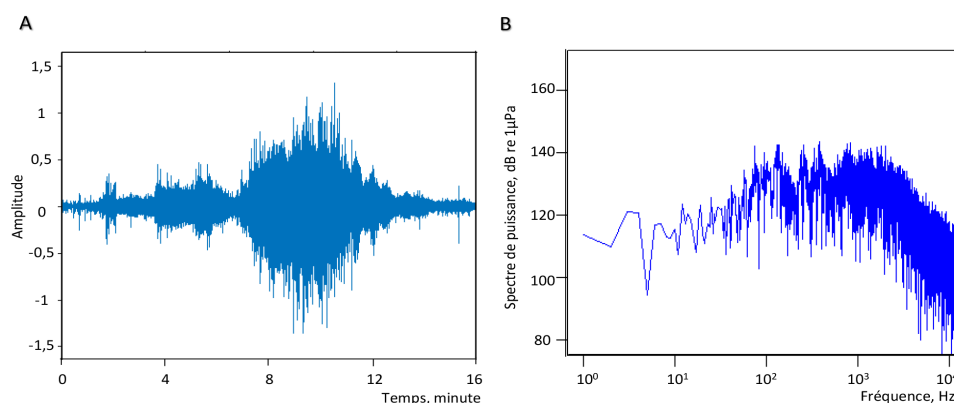


FIGURE 3.7 – Exemple d'enregistrement d'un passage de bateau dans le port de Santander. A, enveloppe sonore du passage de bateau d'une durée de 16 minutes. B, Analyse spectrale du son montrant sa composition fréquentielle et sa puissance.

3.2.3 Expérience 3 sur le terrain

La troisième expérience a eu lieu sur le terrain. L'expérience avait pour objectif d'effectuer une analyse comparée du comportement de l'huître *M. gigas* dans un port commercial (Chapitre 6). L'étude a été réalisée sur deux années consécutives enregistrées en 2011 et

2012 et nous avons analysé, traité et interprété les enregistrements au cours de cette thèse. Lors de la première année (2011), des huîtres originaires du port de Santander, un port situé dans le golfe de Gascogne, ont été équipées de capteurs pour le suivi de leur comportement. Le trafic à l'intérieur du port de Santander est majoritairement composé de gros cargos (67,24 %) et de navires de pêches (11,21 %) (<https://www.fleetmon.com/>). Plusieurs paramètres comportementaux ont été étudiés tels que la durée d'ouverture valvaire, le rythme d'ouverture et de fermeture, l'amplitude d'ouverture, la croissance et la détection des événements de pontes. Le comportement des huîtres de Santander a été comparé à celui des huîtres vivant dans le bassin d'Arcachon. Le Bassin d'Arcachon est également sur le Golfe de Gascogne et son embouchure est à ≈ 230 km de celle du Port de Santander. Le bassin d'Arcachon a été pris comme référence peu ou pas exposé à une pollution sonore audible pour les huîtres car il connaît une faible activité maritime marchande : aucun cargo par rapport au port de Santander, une dizaine de chalutiers et présence majoritaire de bateaux de plaisance. De plus nous avons à la Station Marine d'Arcachon un historique important d'enregistrements du comportement de *M. gigas* depuis 2006.

Durant la deuxième année (2012) un lot d'huître ($n = 8$) ramené de la baie de San Vicente de la Barquera, une baie située à 50 km du port de Santander et qui connaît une faible activité de port de pêche comparable à celle du Bassin d'Arcachon, a été équipé de capteurs et immergé au côté d'huîtres originaires du port de Santander ($n = 8$). Les animaux ont été installés rigoureusement à la même position que l'année d'étude précédente (2011). L'objectif pour cette deuxième année d'étude a été de suivre le comportement d'huîtres dites 'naïves' dans un port commercial et de comparer leur comportement avec des huîtres vivant depuis leur naissance dans cet environnement sonore bruyant.

3.3 Enregistrement de l'activité valvaire des huîtres par valvométrie HFNI

3.3.1 La valvométrie HFNI

La valvométrie à Haute Fréquence Non Invasive (HFNI) est un procédé qui a été développé et utilisé au sein de l'équipe Écotoxicologie Aquatique depuis 1997. L'objectif est d'étudier et de suivre le comportement des huîtres en continu au laboratoire et à travers le monde sans influencer leur comportement (ANDRADE et al., 2016 ; TRAN et al., 2003), en minimisant tout stress lié à l'intervention humaine. Les intérêts de l'étude avec ce système sont multiples puisqu'on peut à la fois faire de la recherche fondamentale, de la recherche appliquée et de l'observation à long terme sur plusieurs années à moindre coût. On peut en particulier faire l'analyse des rythmes biologiques des animaux, le suivi de l'évolution de leur comportement valvaire et l'étude de l'effet de facteurs anthropiques sur leur biologie. En effet, tous les mouvements rapides ou lents des valves des huîtres

sont intimement liés à des processus physiologiques tels que la respiration, la nutrition, la croissance, la ponte ou la mort qui peuvent être perturbées par la dégradation de la qualité du milieu où baigne l'animal (Sow et al., 2011 ; TRAN et al., 2003).

Le système consiste au niveau de l'huître en deux électrodes (électroaimants) très légères d'un poids nu égal à 54 mg. Chaque électrode est un solénoïde enrobé d'une résine protectrice, l'une étant émettrice et l'autre réceptrice. Les deux électrodes, munies d'un câble flexible de 1 à 1,5 m, sont collées au niveau de chaque valve du bivalve et leur extrémité est liée à une carte électronique d'acquisition.

Le courant électrique étant un déplacement de charge électrique va générer un champ électromagnétique qui croît ou décroît en fonction de la distance entre les deux électrodes. Ainsi, la distance entre les deux valves de l'huître est mesurée. La contribution du bruit électronique au signal est minimale (inférieur à 1 μm en termes de mesure de distance). Après calibration, la tension entre les deux électrodes est convertie en millimètre à l'aide de formules mathématiques décrites dans Sow et al. (2011).

3.3.2 Utilisation du valvomètre HFNI au laboratoire et sur le terrain

Pour les valvomètres déployés sur le terrain, le dispositif est plus complexe (Figure 3.8 A). Seize paires d'électrodes mesurant l'activité valvaire des huîtres sont connectées à un boîtier étanche placé sous l'eau à côté des huîtres. Le boîtier immergé avec les huîtres contient une carte électronique analogique qui enregistre les informations en continu mesurées par les électrodes. Cette carte électronique est liée par un câble ombilical à un boîtier à la surface qui contient une deuxième carte électronique munie d'un module de téléphonie mobile. Le système prélève à intervalles réguliers les mesures de l'activité valvaire des huîtres. Chaque 0,1 s, 3 paquets d'informations sont obtenus pour chaque huître : la distance entre les valves, l'heure et le numéro de l'huître. Cela signifie que l'état d'ouverture et de fermeture valvaire pour un animal parmi le groupe de 16 huîtres est mesuré chaque 1,6 s. Les données brutes sont par la suite transférées, à la fin de chaque jour (minuit), du terrain vers le laboratoire grâce au réseau de téléphonie mobile (GPRS, General Packet Radio service). Les données transférées sont ensuite sauvegardées dans une base de données centrale pour traitement et analyse.

Pour les expériences effectuées au laboratoire, un valvomètre muni d'une carte électronique composé de 16 voies pour la connexion de 16 couples d'électrodes a été utilisé (Figure 3.8 B). L'écartement valvaire mesuré au niveau des électrodes de chaque huître est traité par la carte électronique toutes les 0,3 s. Les données (heure, numéro de l'animal et voltage) sont enregistrées sur l'ordinateur et traitées à l'aide d'une application développée sous Labview (Figure 3.4).

3.3. ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITÉ VALVAIRE DES HÛÎTRES PAR VALVOMÉTRIE HFNI

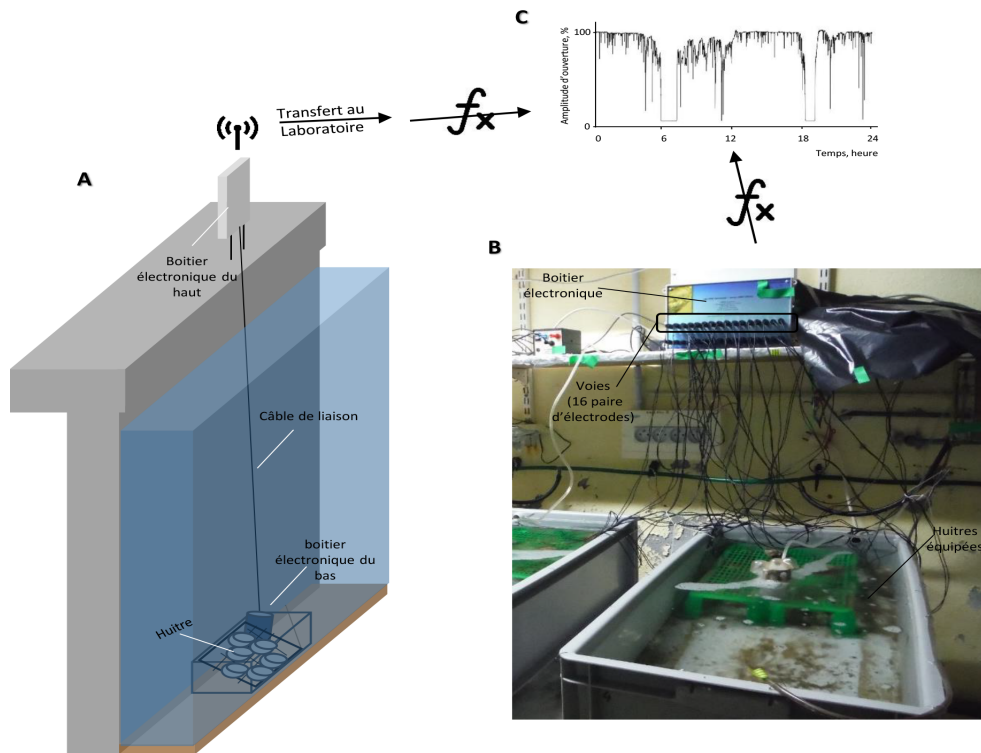


FIGURE 3.8 – Illustration du système d'acquisition des enregistrements valvaires. A, schéma de principe du procédé suivi lors d'enregistrements sur le terrain. B, valvomètre utilisé lors d'expérience au laboratoire. C, forme du signal brute après traitement.

3.3.3 Traitement des données valvométriques

Les enregistrements bruts obtenus au laboratoire et sur le terrain sont traités et analysés chaque jour à l'aide d'algorithmes mathématiques et de manière automatisée (Sow et al., 2011). L'ensemble des données est traité sous Linux (Système d'exploitation open source) sur une station de travail DELL biprocesseur, 16 cœurs. Pour un lot de 16 huîtres, cela représente une analyse de 2 592 000 points par jour. Chaque jour et pour chaque site d'étude que ce soit au laboratoire ou sur le terrain, les analyses sont présentées sous forme de graphes sur le site de l'Œil du Mollusque ou MolluSCAN eye (<https://molluscan-eye.epoc.u-bordeaux.fr>). De cette manière les évolutions quotidiennes, mensuelles et annuelles du comportement des bivalves peuvent être suivies en continu et des comparaisons peuvent être faites entre les sites d'études.

Diverses analyses sont conduites automatiquement pour traiter les données brutes valvométriques reçues du terrain ou lors d'expériences au laboratoire. Parmi les analyses utilisées dans cette étude on peut citer : la durée d'ouverture et de fermeture journalière du groupe, l'amplitude d'ouverture horaire, le nombre de micro-fermetures, le rythme d'ouverture et de fermeture, la ponte et la mesure d'un index de croissance au cours du temps.

Le calcul de certains paramètres est basé sur l'utilisation de seuils. Les seuils sont calculés

en considérant le maximum et le minimum de l'amplitude d'ouverture de chaque huître durant 24 h. Différents seuils peuvent être choisis (5 %, 30 %, 55 % et 80 % ou tout seuil au choix) en fonction du paramètre étudié. Les formules mathématiques pour le calcul de ces seuils ont été décrites dans Sow et al. (2011).

Le calcul de la durée d'ouverture et de fermeture journalière, est basé sur la mesure du temps que l'huître passe ouverte ou fermée. Si l'amplitude d'ouverture valvaire est inférieure à 5 % l'animal est considéré comme fermé alors que si elle dépasse ce seuil, l'animal est considéré ouvert (Figure 3.9). La durée d'ouverture journalière pour chaque animal est mesurée de 0 à 24h. Une moyenne de la durée d'ouverture du groupe par jour peut être calculée par la suite.

La durée d'ouverture et de fermeture peut aussi être exprimée en pourcent par tranche horaire de 1 h de 0 à 24 h (Figure 3.9). En utilisant un seuil (par exemple un seuil à 5 %), si l'animal est continuellement ouvert pendant l'heure le pourcentage horaire d'ouverture est de 100 %, alors que si celui-ci reste fermé pendant l'heure le pourcentage horaire de fermeture est de 0 %. Toutes les valeurs intermédiaires sont possibles.

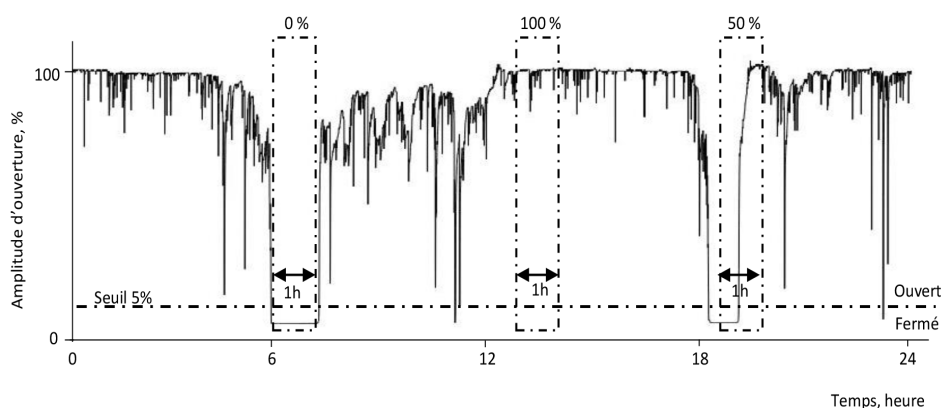


FIGURE 3.9 – Activité valvaire d'une huître enregistrée dans le bassin d'Arcachon. Pour cet exemple, l'huître est restée ouverte pendant 22 h et 58 minutes pour un seuil fixé à 5 %.

Le temps de réaction de chaque animal à un stimulus (ici un stimulus sonore) peut être mesuré avec précision à la seconde près. Dans nos expériences ce temps a été calculé entre l'instant où le stimulus a été appliqué et l'instant où l'animal a réagi. Cette valeur est un index de la sensibilité d'un animal à un stimulus. Ce temps de réaction a été mesuré chez les huîtres exposées à un stimulus sonore (son pur) afin de déterminer les fréquences les plus pertinentes pour elles (voir chapitre 4).

L'amplitude d'ouverture horaire se définit en pourcent. La valeur journalière de l'amplitude minimale et maximale de l'ouverture valvaire est mesurée pour chaque individu sur les 6 derniers jours d'enregistrement. L'amplitude minimale observée sur les 6 derniers jours correspond à 0 % d'ouverture alors que l'amplitude maximale observée correspond à 100 % (Figure 3.10). Pour chaque tranche horaire, le pourcentage d'amplitude

3.3. ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITÉ VALVAIRE DES HÛÎTRES PAR VALVOMÉTRIE HFNI

d'ouverture de l'huître est calculé par rapport à ces niveaux. Une moyenne du pourcentage d'amplitude horaire chez le groupe peut également être calculée pour chaque jour d'étude.

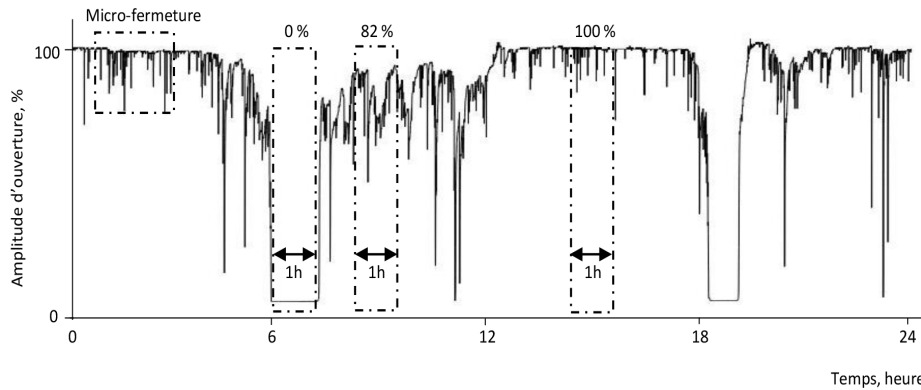


FIGURE 3.10 – Activité valvaire d'une huître enregistrée dans le bassin d'Arcachon. Le pourcentage d'amplitude horaire est calculé en fonction de l'amplitude d'ouverture maximale et minimale sur les 6 derniers jours d'enregistrements de l'activité valvaire de l'huître.

Les micro-fermetures ou fermetures partielles sont des fermetures partielles des valves (Figure 3.10). Ces mouvements peuvent être dénombrés pour chaque animal sur une période de 24h par rapport à différents seuils (5 %, 30 %, 55 % et 80 %). Cette approche permet de mettre dans des catégories les différents mouvements des huîtres en les classant suivant leur amplitude. L'étude de ces mouvements peut indiquer une réaction de l'animal contre un agent toxique, informer sur un possible état de stress et donner une idée générale sur son activité valvaire (HABERKORN et al., 2011 ; TRAN et al., 2010 ; TRAN et al., 2015).

La ponte chez les huîtres femelles est caractérisée par une bouffée de fermetures rapides très particulières des valves (Figure 3.11). La durée des contractions chez *M. gigas* est en moyenne d'une trentaine de minutes. Son profil dans les enregistrements valvométriques a bien été décrit et étudié par GALTSOFF (1964) et BERNARD et al. (2016). La détection d'événement de pontes s'effectue par une inspection visuelle des tracés ou à l'aide d'algorithmes mathématiques (AHMED et al., 2016 ; Sow, unpublished). La valvométrie HFNI permet de ce fait d'identifier la présence ou l'absence des périodes de ponte, de déterminer leur heure exacte ainsi que d'étudier divers facteurs environnementaux associés.

Le taux de croissance peut être mesuré en ligne et en continu à l'aide de la valvométrie HFNI. Puisque chez les huîtres et les mollusques bivalves en général la calcification s'effectue sur la face interne des valves, au niveau de la cavité palléale par le manteau ; lorsque les couches de croissance sont déposées, la distance minimale entre les électrodes au niveau de la coquille augmente (SCHWARTZMANN et al., 2011). En traçant l'amplitude

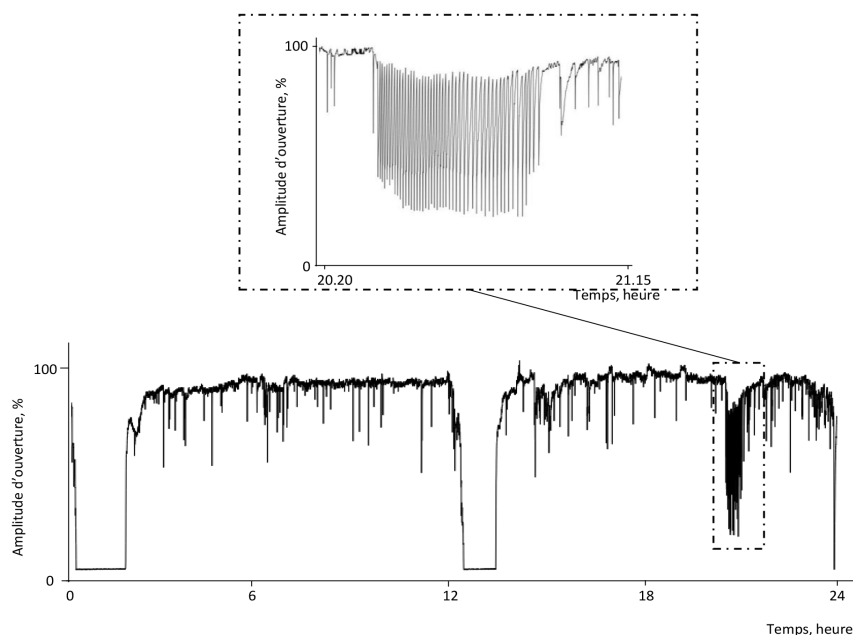


FIGURE 3.11 – Exemple d’un évènement de ponte de l’huître *M. gigas* survenu sur le bassin d’Arcachon.

d’ouverture minimale journalière de chaque huître en fonction du temps cela permet d’obtenir les courbes de croissance (Figure 3.12). SCHWARTZMANN et al. (2011) ont montré l’accord de la technique avec la mesure par sclérochronologie et PAYTON et al. (2017a) avec les méthodes classiques mais ponctuelles de mesure de taille de la coquille avec un pied à coulisse et de pesée.

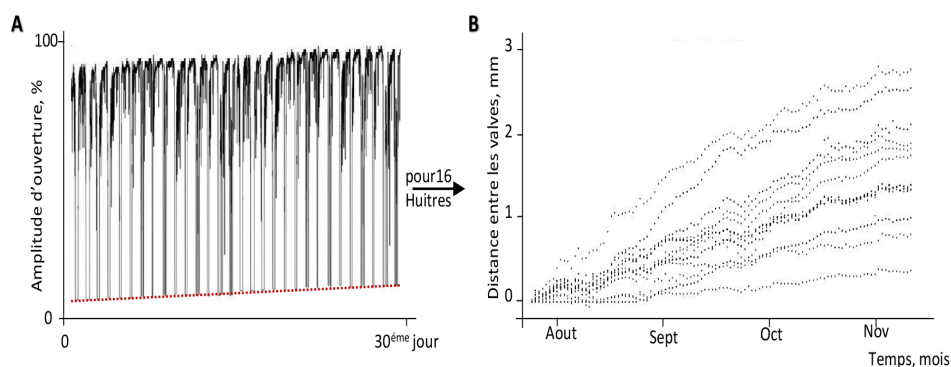


FIGURE 3.12 – Mesure du taux de croissance chez l’huître *M. gigas* à l’aide de la valvo-métrie. A, enregistrement de l’activité valvaire d’une huître sur 30 jours. B, Exemple de courbe de croissance pour 16 huîtres.

L’actogramme est un diagramme utilisé pour représenter la distribution temporelle des périodes d’activités et de repos de chaque individu durant l’étude afin d’identifier les tendances d’activité valvaire. L’état ouvert ou fermé de chaque individu est représenté par un code-barre (Figure 3.13). Chaque ligne résume donc l’activité valvaire de chaque individu

3.3. ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITÉ VALVAIRE DES HÛÎTRES PAR VALVOMÉTRIE HFNI

pendant 24 h. Suivant le seuil choisi un actogramme est obtenu qui a différentes significations. Les changements d'état ouvert-fermé sont obtenus avec le seuil à 5 % puisqu'un animal avec une amplitude de fermeture inférieure à 5 % est considéré comme fermé. Par exemple pour un seuil de 5 %, si l'amplitude d'ouverture des valves est inférieure au seuil de 5 %, une barre noire est tracé alors que si l'amplitude d'ouverture des valves est supérieure à ce seuil c'est une barre blanche qui est tracé (voir Figure 3.13A et le code barre correspondant en bas de la figure). Les autres seuils (30 %, 55 % et 80 %) permettent d'analyser l'activité valvaire à différentes amplitudes d'ouverture. Une superposition des activités journalières du groupe d'animaux permet d'obtenir un actogramme sur le jour (Figure 3.13B), des semaines, des mois ou sur des années (Figure 3.13C).

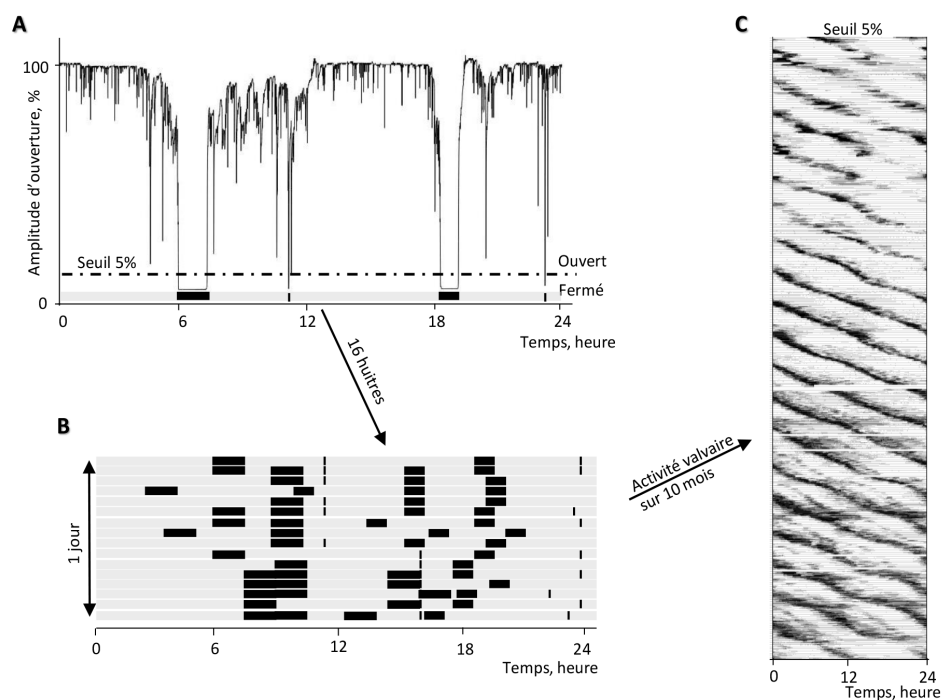


FIGURE 3.13 – Actogramme représentant le rythme d'ouvertures et de fermetures valvaires chez l'huître *M. gigas*. A, enregistrement de l'activité valvaire d'une huître avec son actogramme au seuil de 5 % sous le tracé (noir, fermé ; blanc, ouvert à plus de 5 % du comportement d'ouverture maximum sur les 6 j glissants précédant). B, actogramme sur une journée pour un groupe de 16 huîtres. Chaque actogramme individuel est sur une ligne, l'ensemble résume visuellement l'activité du groupe. C, actogramme sur une période de 10 mois. Tous les actogrammes journaliers (B) sont superposés pour montrer visuellement le comportement du groupe étudié au cours du temps. Ici on voit très bien la dérive régulière des fermetures (en noir) et ouvertures (en blanc) liée au rythme des marées.

Caractérisation - quantification des rythmes par approche chronobiologique. L'analyse des rythmes de l'activité d'ouverture et de fermeture valvaire est réalisée à l'aide du logiciel Time series Analysis Sériel Cosinor (v 6.3, Euroestech). Dans un premier temps le jeu de données est vérifié afin de s'assurer de l'absence de distribution aléatoire (diagramme

d'autocorrélation) et de phénomène stationnaire (fonction d'autocorrélation partielle). Ces tests valident ou non l'observation de phénomènes biologiques. Ensuite, la périodicité du jeu de données est étudiée par analyse spectrale à l'aide du périodogramme de Lomb et Scargle (SCARGLE, 1982). Pour valider l'existence d'un rythme le test de l'ellipse doit être rejeté et la probabilité que l'amplitude du rythme soit nulle doit être inférieure à 0,05. Le percent rhythm définit le pourcentage de l'activité étudiée. Cette technique d'analyse a été développée et appliquée à l'huître et aux bivalves en général par TRAN et al. (2011).

3.4 Acquisition et analyse des enregistrements sonores

3.4.1 Génération et enregistrement du son

Génération du son

La bande-son utilisée dans les différentes expérimentations a été créée et/ou modifiée à l'aide du logiciel Cool edit Pro (v2.0, Syntrillium Software Corporation, USA), un programme d'édition de piste audio sous Windows. Lors de l'expérience 1 (Chapitre 4), un son pur dont la fréquence est constante au cours du temps a été créé afin d'exposer les huîtres et déterminer les fréquences et puissances qui provoquent une réponse comportementale. La durée de chaque bande sonore était de 180 s avec une ouverture graduelle du son d'une durée de 70 s incluse. Les bandes sonores créées sous format wav (Waveform audio format) ont été jouées lors de cette expérience à l'aide de deux types différents de haut-parleurs connectés à un amplificateur (Figure 3.14). Le premier haut-parleur acheté dans le commerce produisait des sons dans une gamme de fréquence entre 80 Hz et 20 kHz (Figure 3.14 A). Il était équipé d'une masse additionnelle en plomb afin d'augmenter son inertie et optimiser son rendement. Durant l'expérience, le haut-parleur a été suspendu dans la colonne d'eau à l'aide de bandes de caoutchouc en prenant soin de n'avoir aucun contact avec le fond et les parois de l'anneau.

Un deuxième haut-parleur fabriqué au laboratoire a été utilisé afin d'étudier l'effet des plus basses fréquences entre 10 et 80 Hz (Figure 3.14 B). Ce dernier était composé d'un transducteur électroacoustique aérien d'une puissance de 200 W. Un cylindre en plastique a été collé au niveau de la membrane du transducteur et une plaque en plastique rigide a été collée au bout du cylindre. Lors des tests, seule la plaque en plastique était immergée dans la colonne d'eau. Cette dernière transmettait les mouvements vibratoires de la membrane du transducteur électroacoustique dans la colonne d'eau.

Lors de l'expérience 2, deux haut-parleurs du commerce (Fig. 3.14 A) ont été utilisés pour exposer les huîtres au bruit. Un bruit de passage de bateau a été sélectionné parmi les enregistrements effectués antérieurement dans le port de Santander. Le son choisi a été modifié à l'aide du logiciel Cool Edit Pro pour obtenir deux passages avec deux amplitudes différentes. Trois pistes sonores d'une durée d'une heure ont été créées en

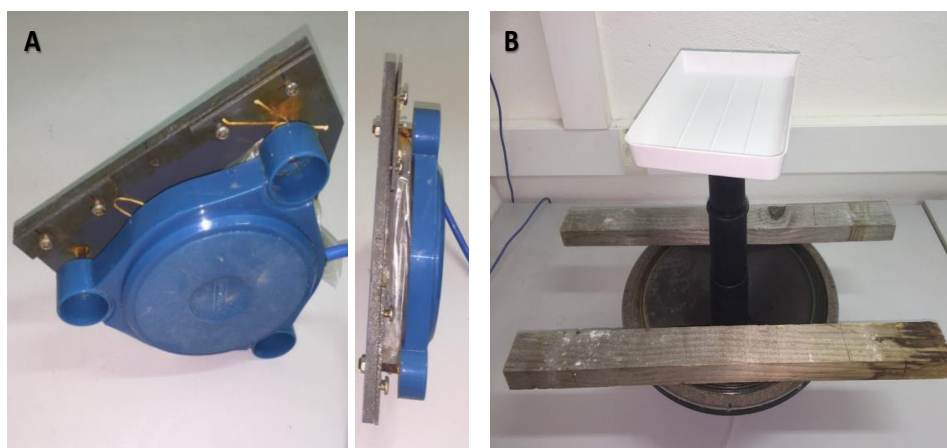


FIGURE 3.14 – A, Haut-parleur de commerce (80 Hz-20 kHz) lesté de plaques de plomb emballés dans du plastique. B, Haut-parleur aérien équipé d'un cylindre et d'une plaque en plastique pour la transmission du son dans la colonne d'eau.

alternant des passages à grande et plus petite amplitude espacés par des périodes de silence. L'intérêt était de créer des conditions proches de celles observées dans un port de commerce.

Enregistrement du son

Le son produit lors des différentes expériences a été enregistré à l'aide d'un hydrophone muni d'un amplificateur interne et d'une bande passante utile comprise entre 10 Hz et 100 kHz (H2a-XLR, Aquarian Audio Product). L'hydrophone a été relié à un amplificateur de tension et les données ont été enregistrées avec le logiciel Wavelab (v4.0, Steinberg Media Technologies) ou lu directement à l'aide d'un oscilloscope. Dans le port de Santander (Expérience 3), l'ordinateur utilisé était programmé pour enregistrer le son par blocs d'une heure avec une fréquence d'échantillonnage de 44,1 kHz.

Pour mesurer l'accélération au niveau d'une coquille d'huître, un accéléromètre (M28 IEPE) lié à deux amplificateurs en série (gain x1 et gain x100) a été utilisé. Pour ce faire, une surface plate a été préparée par abrasion au niveau de la valve inférieure de l'huître et l'accéléromètre a été solidement fixé à cette surface avec un ruban adhésif (Figure 3.15).

3.4.2 Mesure instantanée de la pression acoustique et de l'accélération linéaire

Lors des expérimentations, une mesure directe et instantanée de la pression acoustique appliquée sur l'hydrophone a été possible. Pour un signal avec une amplitude constante dans le temps, la tension développée au niveau de l'hydrophone peut être mesurée directement à l'aide d'un oscilloscope. En effet, en branchant l'oscilloscope au niveau de la sortie de l'amplificateur on peut obtenir la valeur de la tension en RMS, crête ou crête à crête. Connaissant cette valeur, la pression acoustique peut être déduite de la formule suivante :

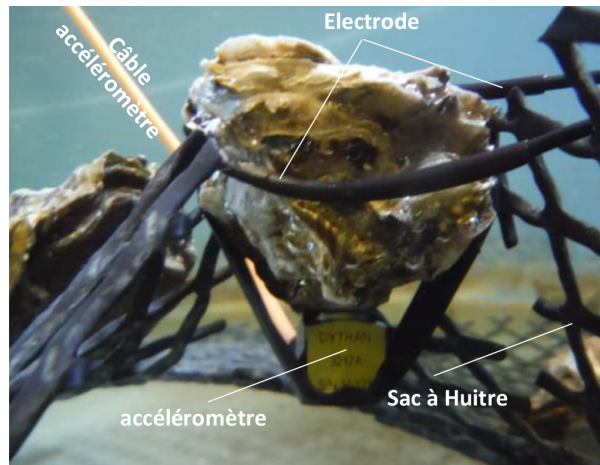


FIGURE 3.15 – Photo illustrant la mesure de l'accélération.

$$P = 20 \log_{10}(U) - G - RS \quad (3.1)$$

avec P la pression acoustique en dB re $1 \mu\text{Pa}$, U la tension mesurée avec l'oscilloscope en volt, G le gain de l'amplificateur et RS la sensibilité de l'hydrophone en dB re $1\text{V}/\mu\text{Pa}$. La valeur de la sensibilité de l'hydrophone est fournie par le fabricant et généralement les hydrophones ont une courbe de sensibilité relativement plate jusqu'à leur fréquence de résonance.

D'autre part, la mesure de l'accélération linéaire subie par les huîtres est possible en utilisant un accéléromètre. La lecture de la valeur de la tension au niveau de la sortie de l'amplificateur de l'accéléromètre peut être effectuée à l'aide de l'oscilloscope. Puisque l'accéléromètre permet de mesurer l'accélération linéaire selon les 3 axes orthogonaux, en repositionnant l'accéléromètre, 3 valeurs de tension correspondant aux 3 axes (x , y et z) sont obtenues. La valeur de l'accélération linéaire peut être déduite directement de la valeur de sensibilité de l'accéléromètre fournie par le fabricant. En effet, la sensibilité de l'accéléromètre est exprimée en tension par rapport à 1 g (100 mv/g dans le cas de l'accéléromètre utilisé dans l'étude présente). La valeur de 1 g correspond à $9,80665\text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ ce qui permet de déduire la valeur de l'accélération suivant chaque axe.

Le vecteur résultant est obtenu par la formule suivante :

$$a = \sqrt{a_x^2 + a_y^2 + a_z^2} \quad (3.2)$$

3.4.3 Analyse des enregistrements sonores

Récupération de la pression acoustique à partir du signal numérisé

Pour récupérer la pression acoustique mesurée par l'hydrophone des données numérisées et enregistrées sur l'ordinateur deux étapes sont nécessaires : une conversion des données

numérisées en un signal de tension, s'ensuit une conversion de ce signal de tension en un signal en pression.

La chaîne de mesure des signaux sonores (Figure 3.16) lors des expérimentations effectuées était composée d'un hydrophone qui converti la pression sonore en un signal électrique, un amplificateur fabriqué au laboratoire, utilisé pour augmenter l'amplitude du signal avant son enregistrement, et un convertisseur analogique numérique (CAN) dont la fonction est de traduire le signal analogique en valeurs numériques codées sur plusieurs bits.

Afin de pouvoir récupérer la mesure originale de la pression acoustique il est nécessaire de connaître la tension générée par unité de pression acoustique au niveau de l'hydrophone, le gain de l'amplificateur utilisé et la tension d'entrée au niveau du convertisseur analogique numérique.

Pour l'étude présente, la sensibilité de l'hydrophone est celle donnée par le fabricant. Le gain de l'amplificateur a été mesuré en envoyant un signal à l'entrée de l'amplificateur à l'aide d'un générateur de basse fréquence et en mesurant le voltage à la sortie. Le ratio de la tension à l'entrée et à la sortie permet d'obtenir le gain réel de l'amplificateur. D'un autre côté, la tension d'entrée au niveau du convertisseur analogique numérique a été obtenue en appliquant un signal d'une fréquence et une amplitude connue au niveau de l'hydrophone. La calibration a été effectuée pour une fréquence spécifique choisie mais dans la pratique la variation de la sensibilité de l'hydrophone est faible dans la gamme de fréquence des mesures d'intérêt ce qui permet d'utiliser cette calibration sur toute la gamme de fréquence utile de l'hydrophone.

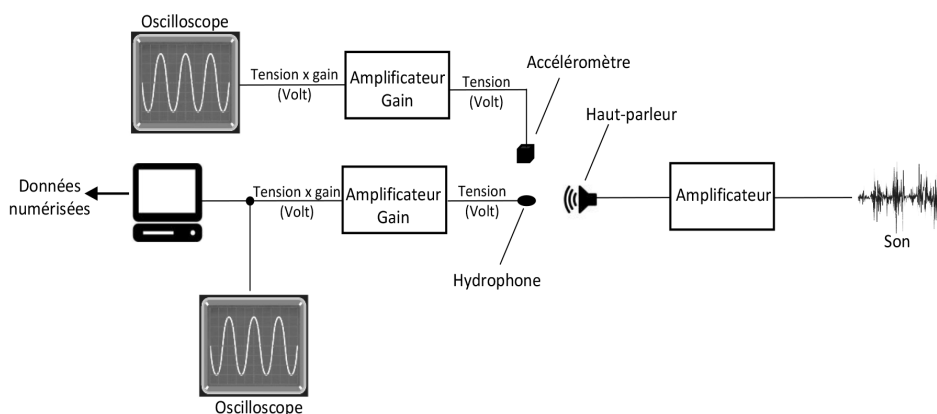


FIGURE 3.16 – Vue générale de la chaîne de production et d'acquisition des données audio lors des différentes expériences effectuées. Dans le port de Santander seule une mesure de la pression acoustique a été effectuée.

Analyse des données

À l'inverse de la lecture directe de la tension à la sortie de l'amplificateur de l'hydrophone à l'aide de l'oscilloscope (voir section 3.4.2), la caractérisation acoustique des milieux lors

des expérimentations requiert généralement une analyse approfondie du signal en appliquant une transformation dans le domaine fréquentiel afin (i), d'analyser la quantité d'énergie comprise dans chaque bande spectrale et (ii), décrire la variabilité et les événements discrets dans le temps tels que les passages de bateaux.

De multiples paramètres acoustiques peuvent être calculés à partir du signal sonore :

Analyse par bande de tiers d'octave (de l'anglais 1/3-octave band levels). Cette forme d'analyse permet de mesurer l'énergie comprise dans chaque bande de fréquence. Une octave correspond au doublement de la fréquence. L'intérêt est donc de concentrer l'analyse sur une bande de fréquence et non sur une fréquence précise. Cela permet un calcul plus rapide pour des enregistrements volumineux et produit comme résultat un volume faible de données.

Le résultat de l'analyse peut être présenté sous forme de spectrogrammes (Figure 3.17). Ce genre de présentation permet de repérer par inspection visuelle des événements discrets tels que des bruits anthropiques et de suivre les changements des niveaux sonores par bande spectrale dans le temps.

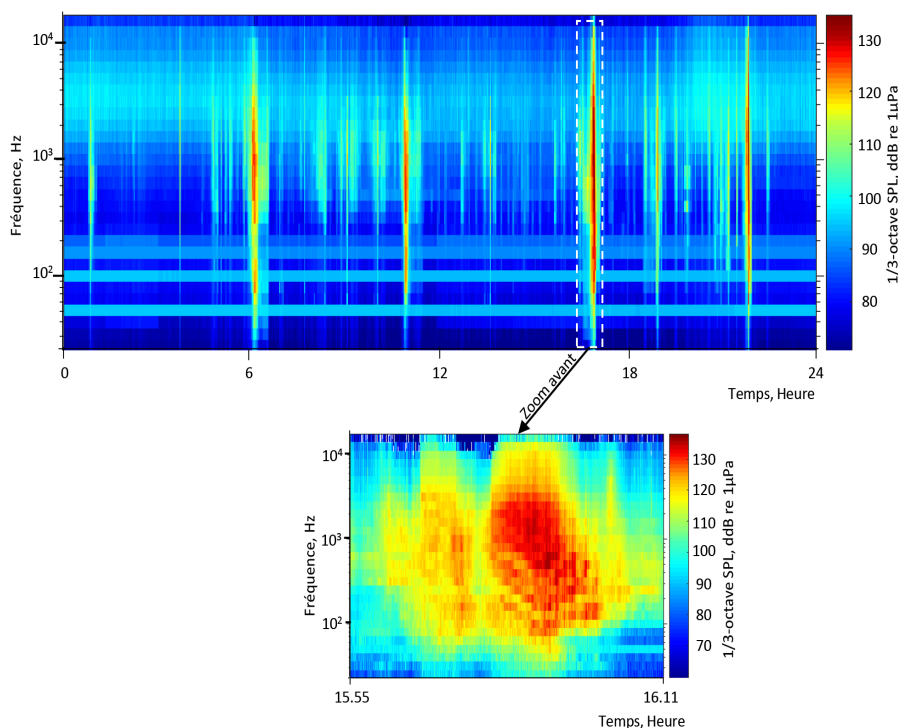


FIGURE 3.17 – Analyse par bande de tiers d'octave sur la gamme de fréquence 5Hz–10kHz effectuée sur un enregistrement audio du bruit dans le port de Santander. On observe la présence d'évènements intermittents attribués à des passages de bateau.

En pratique, pour produire une analyse en bande de tiers d'octave une transformée de Fourier discrète (TFD) est utilisée. Brièvement, le signal audio est une succession temporelle d'échantillons représentant la valeur du signal à un instant t . Des informations tels que l'amplitude à instant t peuvent être obtenues alors que des informations de types

fréquentielles sont inaccessibles sous la forme temporelle du signal. La transformée de Fourier discrète permet de transformer un signal temporel en sa présentation fréquentielle. Sa formulation est la suivante pour un signal x de N échantillons :

$$x(k) = \sum_{n=0}^{N-1} x(n)e^{\left(\frac{-2i\pi kn}{N}\right)} \quad \text{pour} \quad 0 \leq k < N \quad (3.3)$$

L'implémentation de cette fonction sur ordinateur est possible par le biais de fonctions prédéfinies disponibles dans le logiciel R ou dans Matlab. Après la transformation dans le domaine fréquentiel plusieurs étapes sont nécessaires jusqu'à l'obtention du spectrogramme. Un calcul de la densité spectrale de puissance qui correspond au carré du module de la transformée de Fourier divisé par le nombre d'échantillon N , et une conversion en dB suivent l'étape initiale de la transformée de Fourier discrète. Pour les sons purs utilisés pour caractériser le sens de l'audition chez l'huître (expérience 1), le même procédé est suivi pour obtenir l'amplitude du son générée en fonction de la fréquence (Figure 3.3 B).

Le niveau de pression acoustique. Le niveau de pression acoustique calculé dans une gamme de fréquences bien définie est obtenu après utilisation d'une transformée de Fourier discrète. De manière similaire au calcul effectué pour l'analyse par bandes de tiers d'octave, le niveau de pression acoustique correspond à l'intégrale de l'énergie acoustique dans une gamme de fréquences données. Une unique valeur numérique est obtenue comme résultat ce qui offre un outil simple de description du niveau d'énergie du milieu étudié (Figure 3.18).

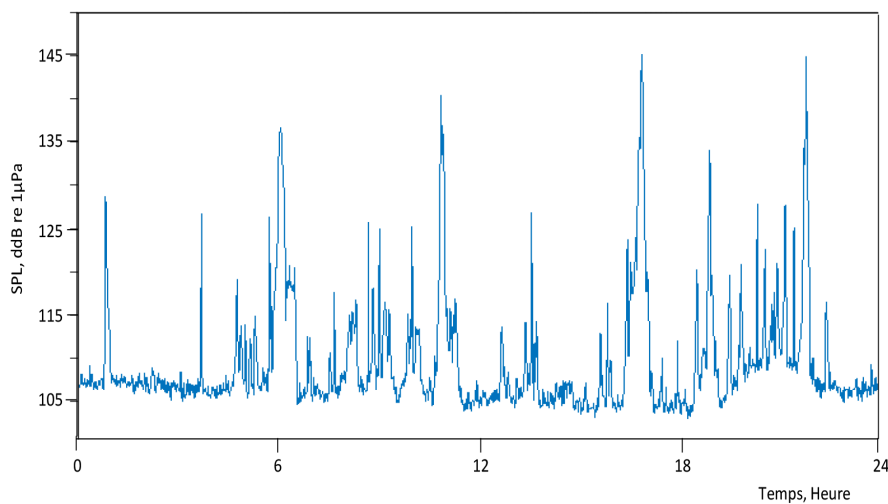


FIGURE 3.18 – Niveau de pression acoustique sur la gamme de fréquence 5Hz–10kHz du bruit mesuré dans le port de Santander.

Niveau d'exposition acoustique. Le niveau d'exposition acoustique est une sommation de l'énergie produite par une source sonore sur une période de temps donnée. Cet indicateur est souvent utilisé pour évaluer l'effet d'une exposition cumulée au bruit sur les animaux

marins. Pour des sons continus le niveau d'exposition acoustique peut être mesuré dans une bande fréquentielle donnée selon la formule suivante :

$$SEL = SPL + 10\log_{10}(T) \quad (3.4)$$

avec T , la durée totale du signal traité.

Plusieurs fonctions et packages sont disponibles sur le logiciel R et Matlab pour implémenter les différentes fonctions nécessaires pour l'analyse d'un fichier audio. Parmi ces packages on peut citer le package 'seewave' (SUEUR et al., 2018) et 'tuneR' (LIGGES, 2013) sur le logiciel R, et la boîte à outils pour l'analyse des signaux et les algorithmes pour la caractérisation des habitats édité par MERCHANT et al. (2015) disponibles sur le logiciel Matlab. Il est bien de noter que l'utilisation de ces différents codes prédéfinis permet de faire des analyses complètes des fichiers audios avec comme résultats des données non calibrées. Des modifications des codes sources sont nécessaires en prenant en compte la sensibilité de l'hydrophone, le gain de l'amplificateur ainsi que le gain du convertisseur analogique numérique pour obtenir des valeurs calibrées.

3.4.4 Caractéristiques générales du champ acoustique dans les bacs expérimentaux

Lors des différentes expériences, qu'elles soient réalisées pour caractériser le sens de l'audition ou/et l'étude de l'impact du bruit sur les animaux marins, des bacs de petites dimensions sont généralement utilisés. Cela permet de réaliser des expériences dans un milieu où des paramètres physico-chimiques classiques sont bien contrôlés. Toutefois, le champ acoustique à l'intérieur du bac est affecté par la réverbération due aux multiples réflexions du son sur les parois et à la résonance. Cela rend la caractérisation du champ acoustique dans ces bacs très complexe. Les particularités du champ acoustique générés sont globalement très différentes de celles observées dans le milieu naturel (ROGERS et al., 2016). Les alternatives à l'utilisation des bacs de dimensions comme celles de la Figure 3.19 (Longueur : 2,5 m ; largeur : 1,52 m ; profondeur d'eau : 1,28 m) avec des parois rigides spécialement conçus pour limiter les réflexions sont d'un côté très coûteuses et d'un autre côté totalement inadaptées à la physiologie de l'huître. En particulier, les huîtres sont des animaux filtreurs dont le comportement est très associé à la vitesse du courant et, autant il est possible de contrôler un courant dans un anneau, autant cela devient complexe (voir impossible) dans un bac conçu pour des études sur la propagation du son. Dans notre approche, c'est le problème du « bien être » des animaux en expérience qui a toujours été mis en avant.

Tel que montré dans la figure 3.19 (DUNCAN et al., 2016), pour les fréquences basses le champ acoustique décrit par le niveau de pression acoustique et le mouvement de particule varie de manière progressive loin de la source. À mesure que la fréquence

3.4. ACQUISITION ET ANALYSE DES ENREGISTREMENTS SONORES

augmente, des changements importants dans les distributions spatiales du niveau de la pression et de la vitesse des particules se produisent. Également, le rapport entre la vitesse des particules et la pression dans le bac est supérieur à celui estimé dans des conditions de champ libre (en milieu naturel).

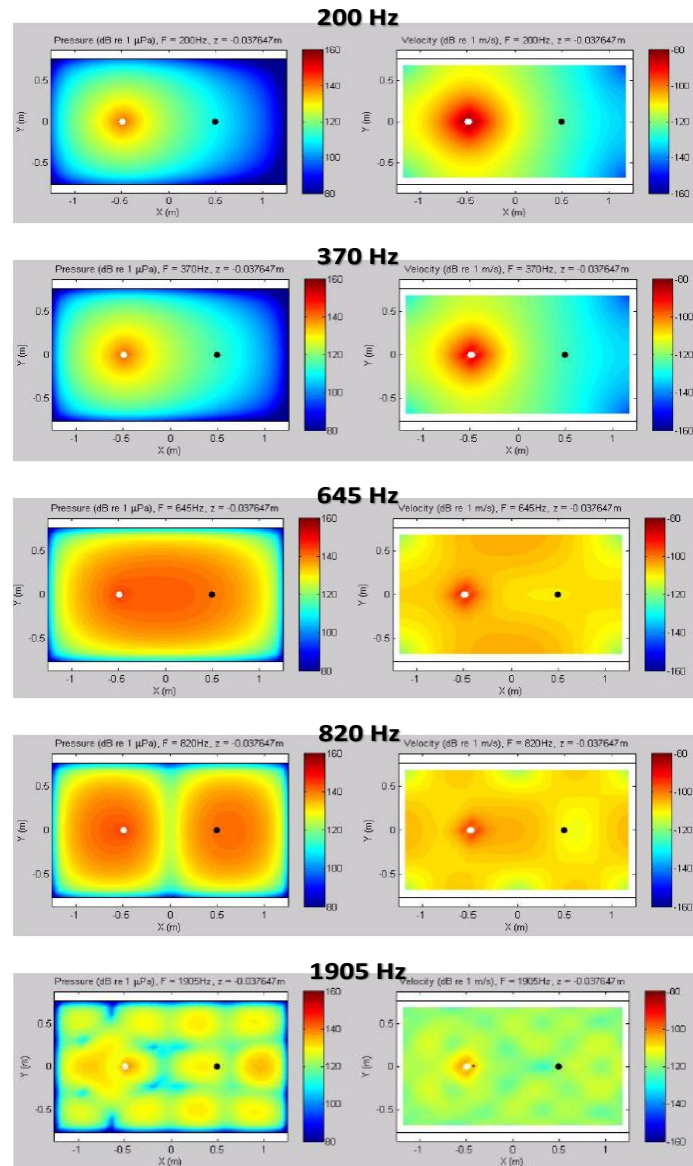


FIGURE 3.19 – Modélisation du champ acoustique dans un bac rectangulaire (Longueur : 2,5 m ; largeur : 1,52 m ; profondeur d'eau : 1,28 m) pour des fréquences entre 200 et 2000 Hz. Le point blanc représente la source, alors que le point noir représente la position du capteur de pression et de mouvements de particules (DUNCAN et al., 2016).

En raison de la complexité du champ acoustique dans les bacs, Il est donc essentiel de mesurer directement le niveau de pression acoustique et le mouvement de particules en utilisant les capteurs de mesure appropriés. Dans le cadre de notre expérience, le niveau de pression acoustique et les trois composantes de la vitesse des particules ont

été mesurés dans le champ acoustique proche de l'huître ou sur l'huître et des analyses spectrales ont été réalisées pour s'assurer que le son reçu au niveau des capteurs était représentatif du son émis par la source.

3.5 Dosage du cadmium et analyse génétique

Lors de l'étude de l'effet de la pollution sonore et son interférence avec une pollution métallique (cadmium) sur les huîtres (Chapitre 5), des tissus (branchie et glande digestive) ont été prélevés à différents intervalles de temps pour quantifier la concentration en cadmium dans les tissus et pour effectuer une analyse de l'expression des gènes pour déceler et caractériser de possibles dérèglements au niveau cellulaire. Les procédures suivies sont présentées dans cette partie.

3.5.1 Dosage du cadmium dans les tissus

Dissection

Lors de l'expérience 2 (Chapitre 5) le cadmium a été utilisé d'un côté comme un marqueur indirect de l'activité ventilatoire des huîtres (aux concentrations utilisées il ne modifie pas l'activité ventilatoire alors que sa bioaccumulation est une fonction de l'activité ventilatoire, voir le chapitre 5) et d'un autre côté pour obtenir des informations sur l'effet du cadmium au niveau cellulaire en présence ou absence d'une pollution sonore. Lors de la dissection des individus, toutes les précautions ont été prises afin d'éviter toute contamination des échantillons. La branchie et la glande digestive ont été prélevées pour déterminer la teneur des tissus en cadmium. Les branchies se trouvent en contact direct avec le milieu contaminé et sont par ce fait une porte d'entrée principale du contaminant dans l'organisme (GONZALEZ et al., 2006). L'autre voie d'entrée est la digestion puisque les particules filtrées par l'animal pour se nourrir baignent également dans l'eau contaminée où se trouvent les huîtres. La glande digestive est donc aussi d'un grand intérêt pour quantifier l'accumulation de cadmium chez les bivalves (SAAVEDRA et al., 2008). Les tissus prélevés ont été conservés à -20°C jusqu'à leur dosage par spectrométrie d'absorption atomique.

Au cours de l'exposition des huîtres au cadmium et au bruit, des échantillons d'eau ont été collectés dans chaque bac pour effectuer des dosages du cadmium dissous dans la colonne d'eau. Les échantillons d'eau prélevés ont été filtrés à 0,45 μm et ont été directement acidifiés par ajout de 1 % d'acide nitrique (65 %). Ils ont été ensuite stockés à -20°C jusqu'à leur dosage au laboratoire par ICP (Inductive Coupled Plasma. Model : 700 series ICP-OES, Agilent Technologies).

Minéralisation

Afin de quantifier la concentration des échantillons en cadmium, les tissus ont été préalablement mis à sécher pendant 48h à une température de 45°C puis pesés. S'ensuit une

minéralisation des tissus qui consiste en une destruction de la matière organique sous l'effet combiné de la température et de l'acide nitrique concentré. Les tissus ont été placés dans des tubes à minéralisation en présence de 3 mL d'acide nitrique (65 %) puis minéralisés pendant 3 h à une température de 100°C. Chaque série minéralisée comprenait 2 blancs (3 mL d'acide nitrique chacun) et 2 échantillons certifiés Dolt-5. L'intérêt est de contrôler que les étapes de préparation des échantillons lors de la minéralisation n'apportent pas de contamination métallique externe. En fin de minéralisation une fois les tubes refroidis, les échantillons ont été dilués avec l'ajout de 15 mL d'eau ultra pure (eau Milli-Q).

Dosage au four

Après l'étape de minéralisation, les teneurs en cadmium des tissus ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite. Un étalonnage était effectué avant le début des analyses. Celui-ci s'obtient en mesurant l'absorbance de solutions étalons à concentrations progressives. La concentration des échantillons à analyser est donc directement déduite en rapportant les valeurs d'absorbance sur la droite d'étalonnage obtenue.

Une fraction de chaque échantillon minéralisé est placée dans des tubes qui ont été installés par la suite dans la machine (240Z AA, Agilent Technologies) pour analyse. Ensuite, l'échantillon est en partie aspiré à l'aide d'un capillaire et déposé dans un four à graphite. Pour éviter toute interférence, l'échantillon est mélangé avant son dépôt dans le four avec une solution de nitrate de magnésium qui a un rôle d'activateur de combustion de la matrice et de sulfate de palladium qui forme un alliage stable avec le cadmium ce qui augmente sa température d'atomisation. Plusieurs traitements thermiques sous flux d'argon sont appliqués. Dans un premier temps, une phase de séchage à 120°C pendant 40 s a lieu, puis les matières volatiles de la matrice de l'échantillon sont détruites par pyrolyse à 250°C durant 5 s. Une période de refroidissement est appliquée afin de permettre au four d'atteindre une température relativement basse. L'échantillon est ensuite minéralisé à 600°C pendant 25 s puis atomisé à 1800°C durant 3 s. Dans le même alignement que le four se trouve une lampe à cathode qui génère une émission atomique propre au cadmium. Après atomisation, l'échantillon est converti en atomes gazeux et absorbe le rayonnement émis par la lampe à cathode de manière plus ou moins importante en fonction de sa concentration. Des capteurs mesurent l'intensité des rayonnements en entrée et en sortie après absorption par les atomes de gaz. La différence entre les deux intensités permet de déterminer la concentration initiale de l'échantillon analysé. Enfin, le four procède à son nettoyage à 2500°C durant 3 s avant de procéder à l'analyse suivante. Après avoir indiqué le poids sec de chaque échantillon et avoir pris en compte les facteurs de dilution appliqués lors de la préparation des échantillons, le logiciel de la machine fournit la concentration de l'échantillon en mg/kg.

3.5.2 Analyse de l'expression des gènes

Prélèvement et préparation des échantillons

Lors de la dissection des huîtres, une partie de la branchie et de la glande digestive a été prélevée pour l'étude des niveaux d'expression de gènes d'intérêt. Peu de recherches se sont intéressées à l'effet de la pollution sonore au niveau génique sur les bivalves marins. Par conséquent, peu de données sont disponibles sur les gènes cibles utilisés dans l'étude de l'effet de la pollution sonore sur les animaux marins. Dans une étude récente, PENG et al. (2016) a étudié l'effet d'une exposition sonore sur le comportement d'enfouissement, le métabolisme et l'expression de gènes liés au métabolisme chez la bivalve *Sinonovacula constricta*. Dans cette étude, des gènes impliqués dans la glycolyse, la biosynthèse des acides gras et certains gènes impliqués dans le cycle de Krebs ont été induits ou réprimés en fonction du niveau sonore du son appliqué. Dans notre étude un total de 19 gènes a été choisi, codant pour des protéines impliquées dans diverses voies métaboliques, pour l'étude de l'effet d'une exposition sonore chronique en présence d'un contaminant métallique sur les huîtres au niveau génique (Chapitre 5). Ces gènes codent pour la citrate synthase (Cs), l'isocitrate déshydrogénase [NADP] (Idh2), l'isocitrate déshydrogénase [NAD] (Idh3a), la dihydrolipoyl déshydrogénase (DLD) et la malate déshydrogénase (Mdh) impliquées dans le cycle de Krebs; l'acétyl-CoA carboxylase (Acac) et la triacylglycérol-lipase (Tgl) impliquées dans la voie de biosynthèse des acides gras et le métabolisme des lipides; la superoxyde dismutase cytoplasmique (Sod1), la superoxyde dismutase mitochondrial (Sod2), la catalase (Cat) et la glutathion peroxydase (Gpx) impliquées dans la défense contre le stress oxydant; la métallothionéine (isoform 2) (MT2) impliqué dans le processus de détoxification; la p53 (p53) et la Bax (Bax) impliquées dans l'apoptose; le cytochrome C oxydase (subunit 1; Cox1) impliqué dans le métabolisme mitochondrial; la titine (Tnt) et la twitchine (Twt) impliquées dans l'activité musculaire; le récepteur de la dopamine D2 (DRD2) et la lectine de type C (CLEC1). Cette dernière est impliquée dans la sélection de la nourriture au niveau des branchies (ESPINOSA et al., 2009).

Après le prélèvement des échantillons de l'organisme, 50 à 70 mg de tissu ont été mis en tube avec 800 μ L de Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Le Trizol est un réactif conçu pour isoler l'ARN, l'ADN et les protéines des tissus. Il permet le maintien de l'intégrité de l'ARN grâce à une inhibition efficace de l'activité des ARNases. Des microbilles en céramique ont été ajoutées au mélange (tissu + Trizol) et le mélange a ensuite été broyé au FastPrep (MP Biomedicals) pendant 60 s à une fréquence de 30 Hz. Cette étape permet la destruction des membranes et la libération des composés intracellulaires sans altération des acides nucléiques. Les échantillons ont été stockés ensuite à -80°C.

Séparation des composés ARN, ADN et protéines

Après la décongélation des échantillons broyés, 160 μL de chloroforme ont été ajoutés à l'homogénat. Après une agitation brève est une incubation de 5 min à température ambiante, les échantillons ont été centrifugés pendant 15 min à 12 000 g et à une température de 4°C. À la fin de cette centrifugation, on observe la présence d'une phase aqueuse contenant l'ARN, une interphase de couleur blanchâtre correspondant à l'ADN génomique et une couche organique inférieure de couleur rouge contenant les protéines. La phase aqueuse a été alors transférée dans un tube propre et 500 μL d'isopropanol ont été ajoutés. Après une agitation manuelle des tubes, les échantillons ont été incubés pendant 10 minutes à température ambiante et centrifugés pendant 10 min à 12 000 g à une température de 4°C. Après cette étape on observe l'apparition d'un culot blanchâtre qui signe la présence des ARNs. Les culots ont été alors rincés avec 1 mL d'éthanol à 75 % de façon à éliminer toute trace de contamination. S'ensuit une étape de centrifugation d'une durée de 5 minutes à 7 600 g et à 4°C. Les culots ont alors été séchés à l'air libre pendant 3 à 5 min pour une évaporation totale des traces résiduelles d'alcool. Les culots ont été ensuite dilués dans 50 à 100 μL d'eau (RNases et DNases free). Les ARNs ainsi obtenus ont été conservés à -80°C. À ce stade, un contrôle de la qualité et de la quantité de l'ARN obtenu est possible par spectrophotométrie. En effet, les acides nucléiques absorbent des longueurs d'onde à 206 nm. Une unité d'absorbance est donc équivalente à une quantité précise d'ARNs. D'un autre côté, les protéines absorbent une longueur d'onde à 280 nm. Ainsi, la qualité de préparation d'ARNs peut être évaluée par le calcul du ratio A260/A280. Pour un ratio compris entre 1,8 et 2 la préparation d'ARNs est considérée comme pure.

Transcription inverse

Les ARNs étant fragiles, il est plus pratique de travailler à partir d'ADNc qui peut être obtenu par transcription inverse. La synthèse des ADNc est réalisée par une sélection des ARNm via l'ajout d'oligonucléotides poly-dT et l'utilisation d'une enzyme qui est la transcriptase inverse M-MLV (Moloney murine leukemia virus). Pour chaque échantillon, 10 μL d'un mélange de 2 à 5 μg d'ARN total et d'eau (RNases et DNases free) ont été ajoutés à 1 μL d'oligo dT₁₈. Ce mélange a été incubé pendant 3 min à une température de 80°C et a été transféré directement dans la glace. Dans chaque tube, 4 μL du tampon M-MLV, 1 μL de dNTP 10mM, 1 μL de M-MLV, 0,25 μL de RNAsin et 3 μL d'eau (RNases et DNases free) ont été ajoutés. Le tout a été incubé directement à 37°C pendant 60 min. À la fin de la transcription inverse les échantillons ont été conservés à -20°C.

PCR quantitative

La PCR quantitative offre l'avantage de pouvoir suivre en temps réel l'amplification d'un gène cible. Ce suivi de l'amplification dépend de l'utilisation d'un agent intercalent fluorescent qui est le SYBR Green. Celui-ci s'incorpore entre les bases des ADN double brins et produit une émission de fluorescence. Ainsi pour chaque nouvelle molécule d'ADN

formée le signal de fluorescence augmente. D'un autre côté, des amorces spécifiques à chaque gène cible permettent l'amplification de ces gènes d'intérêt par la Taq polymérase.

La réaction PCR a été réalisée dans un volume de 15 μL sur plaque de 96 puits. Au niveau de chaque puit a été ajouté un mix contenant le tampon d'activité, la Taq polymérase, le MgCl_2 , les dNTPs et le SYBR Green. À ce mélange a été également ajouté 3 μL d'échantillon d'ADNc que l'on souhaite amplifier et 12 μL d'un mélange contenant les amorces sens et amorce anti-sens de l'ADNc cible. La RT-qPCR a été exécutée dans un Mx3000P (Stratagene). Le programme d'amplification commence par l'activation de la Taq polymérase à 95°C pendant 3 min suivi de 50 cycles composés de 10 s à 95°C pour la dénaturation des brins, 30 s à 60°C pour l'hybridation des amorces et 1 min à 95°C pour la polymérisation.

Pour chaque gène, des amorces spécifiques ont été déterminées à l'aide du logiciel de conception Light Cycler (version 1.0, Roche) ou à l'aide d'un logiciel web (primerquest). Pour chaque paire d'amorces, l'efficacité de la PCR a été obtenue en déterminant la pente de la courbe étalon obtenue à partir d'une analyse de dilution en série de l'ADNc. Cinq gènes de référence (*12S*, *ef1 α* , *rpl7*, *gapdh*, *actb*) ont été testés en utilisant Bestkeeper, geNorm et Normfinder. Dans notre cas le gène *12S* a été sélectionné. L'expression du niveau de transcription de chaque échantillon a été normalisée avec le gène *12S* de référence d'expression stable en utilisant la méthode du $2^{-\Delta\Delta C_t}$ décrite par LIVAK et SCHMITTGEN (2001).

3.6 Statistiques

Pour caractériser le sens de l'audition chez l'huître *M. gigas*, les huîtres ont été exposées à des sons purs à amplitude croissante. Lorsqu'une réaction à lieu, pour chaque fréquence le pourcentage de réponse ainsi que le niveau de pression acoustique ont été calculés. Afin d'expliquer la relation entre le pourcentage de réponse au stimulus dans le groupe et le niveau de pression acoustique, une régression logistique a été réalisée. Les paramètres de régression estimés ont été utilisés pour prédire le pourcentage de réponse du groupe par rapport au niveau de pression acoustique généré pour chaque fréquence. Des tests statistiques ont été effectués (le test de Hosmer-Lemeshow et le test du rapport de vraisemblance) afin d'évaluer la qualité d'ajustement du modèle et dans quelle mesure le pourcentage de réponse du groupe était bien prédit en fonction du niveau de pression acoustique.

Après avoir vérifié les hypothèses d'indépendance, de normalité et d'homosédasticité des données obtenues lors des différentes expériences, les comparaisons entre groupes ont été effectuées par une analyse de variance (ANOVA). En présence de différence, le test des rangs de Tukey a été utilisé pour les comparaisons deux à deux. Dans le cas où la normalité et l'homosédasticité des données n'ont pas été obtenues, le test de Kruskal-Wallis a été effectué et le test de Dunn a été pris en compte pour une comparaison deux à deux. Les

différences entre les distributions ont été évaluées à l'aide du test de Kilmogorov-Smirnov alors que les différences entre les variances ont été évaluées à l'aide d'un test de Levene.

Pour les différents résultats statistiques, une probabilité de $p < 0,05$ a été jugée significative. Tous les tests statistiques ont été accomplis à l'aide du logiciel R (TEAM, 2017).

CARACTÉRISATION DU SENS DE L'AUDITION CHEZ L'HUÎTRE *Magallana gigas*

4.1 Introduction

L'audition est l'une des cinq capacités sensorielles avec la vision, le toucher, l'odorat et le goût qui permettent à un animal d'être en relation avec son environnement. De nombreux animaux marins utilisent leur sens de l'audition pour capter les signaux sonores émis par différentes sources dans le milieu marin. Ces signaux sonores contiennent des informations essentielles à la survie et à la reproduction tels que la présence de prédateurs ou de partenaires, la disponibilité de nutriments et/ou des informations pour choisir un habitat favorable (AMORIM et NEVES, 2008 ; GANNON et al., 2005 ; LILLIS et al., 2013 ; MONTGOMERY et al., 2006 ; PAYNE et WEBB, 1971). La perception de l'information acoustique par un animal, même aquatique, fait donc partie du paysage qui l'entoure et peut être essentielle, ou excessivement importante, pour accomplir ses fonctions vitales. La valeur sélective (valeur adaptative, succès reproducteur ou fitness en anglais) d'un individu dépend en partie de ses capacités auditives (FARINA, 2012).

Le sens de l'audition a bien été étudié chez les mammifères marins et chez les poissons. En revanche, il existe très peu d'informations sur la perception du son (le sens de l'audition) chez les invertébrés marins et encore moins chez les mollusques bivalves.

Chez certains bivalves, on a rapporté des réactions comportementales lors d'exposition à des stimuli sonores. Par exemple, chez la telline, un mollusque bivalve vivant sur les plages sableuses, il a été démontré que ce bivalve détecte et utilise les vibrations sonores générées par les vagues comme un signal pour sortir du sable et migrer, surfer avec la vague (ELLERS, 1995). D'autres études ont rapporté différentes réactions comportementales à divers stimuli sonores tels que la réaction d'enfouissement chez la palourde

Ruditapes philippinarum ou la fermeture des valves chez la moule *Mytilus edulis* (MOSHER, 1972 ; ROBERTS et al., 2015 ; SOLAN et al., 2016 ; ZHADAN, 2005). Cependant, la plupart de ces études se sont intéressées aux réactions comportementales ou aux effets des expositions sonores sur les bivalves sans mettre l'accent sur la compréhension et la quantification de la source émise et la bonne détermination des fréquences perçues et des seuils de sensibilité. De manière générale, jusqu'à présent, il y a peu d'informations sur les capacités auditives chez les bivalves marins, les sources sonores qu'ils perçoivent et l'importance du son dans leur vie. En fait il n'y avait aucune étude complète sur ce sujet.

L'objectif de ce chapitre a été d'aborder cette question des capacités d'audition chez les bivalves marins. Nous l'avons étudié chez un bivalve filtreur qui est l'huître *Magallana gigas*. L'idée a été de décrire les capacités auditives chez l'huître en déterminent la gamme de fréquences qu'elle perçoit et les seuils de sensibilité associés. Pour ce faire, nous avons mené une étude comportementale en utilisant le mouvement des valves comme indicateur de réponse à l'exposition à un stimulus sonore émis à partir de la colonne d'eau. L'étude des capacités auditives chez ce bivalve peut fournir des informations sur la façon dont il interagit avec son environnement sonore et prédire les sources sonores qui peuvent l'affecter de façon positive et négative.

4.2 The sense of hearing in the Pacific oyster, *Magallana gigas*

RESEARCH ARTICLE

The sense of hearing in the Pacific oyster, *Magallana gigas*

Mohcine Charifi^{1,2,3}, Mohamedou Sow^{1,2}, Pierre Ciret^{1,2}, Soumaya Benomar³, Jean-Charles Massabuau^{1,2*}

1 University of Bordeaux, EPOC, UMR 5805, Arcachon, France, **2** CNRS, EPOC, UMR 5805, Talence, France, **3** Unit of Research on Biological Rhythms, Neuroscience and Environment, Faculty of Science, Mohammed V-Agdal University, Rabat, Morocco

* jean-charles.massabuau@u-bordeaux.fr



Abstract

There is an increasing concern that anthropogenic noise could have a significant impact on the marine environment, but there is still insufficient data for most invertebrates. What do they perceive? We investigated this question in oysters *Magallana gigas* (*Crassostrea gigas*) using pure tone exposures, accelerometer fixed on the oyster shell and hydrophone in the water column. Groups of 16 oysters were exposed to quantifiable waterborne sinusoidal sounds in the range of 10 Hz to 20 kHz at various acoustic energies. The experiment was conducted in running seawater using an experimental flume equipped with suspended loudspeakers. The sensitivity of the oysters was measured by recording their valve movements by high-frequency noninvasive valvometry. The tests were 3 min tone exposures including a 70 sec fade-in period. Three endpoints were analysed: the ratio of responding individuals in the group, the resulting changes of valve opening amplitude and the response latency. At high enough acoustic energy, oysters transiently closed their valves in response to frequencies in the range of 10 to <1000 Hz, with maximum sensitivity from 10 to 200 Hz. The minimum acoustic energy required to elicit a response was 0.02 m·s⁻² at 122 dBrms re 1 μPa for frequencies ranging from 10 to 80 Hz. As a partial valve closure cannot be differentiated from a nociceptive response, it is very likely that oysters detect sounds at lower acoustic energy. The mechanism involved in sound detection and the ecological consequences are discussed.

OPEN ACCESS

Citation: Charifi M, Sow M, Ciret P, Benomar S, Massabuau J-C (2017) The sense of hearing in the Pacific oyster, *Magallana gigas*. PLoS ONE 12(10): e0185353. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353>

Editor: José A. Fernández Robledo, Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, UNITED STATES

Received: August 2, 2017

Accepted: September 11, 2017

Published: October 25, 2017

Copyright: © 2017 Charifi et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data is within the paper and its Supporting Information files.

Funding: M. Charifi was supported by scholarships provided by Campus France within the framework 603 of the Cooperation between MESRSFC (Morocco) and the Embassy of France / Institut 604 Français in Morocco, NEUROMED (7th Programme Framework on Capacity Building In 605 Mediterranean Area) and GDRI de Neurosciences, n°198, CNRS, INSERM (France) and 606 CNRST (Morocco). This work was funded

Introduction

There is an increasing concern that anthropogenic noise could have a significant impact on the marine environment. It has been shown that man-made noise has a deleterious effect on marine mammals, fish and cephalopods (see Peng et al. [1] for a review), but there is still insufficient data on the effect of noise on most invertebrates [2]. More generally, there is insufficient data on the ability of invertebrates to detect either water-borne or substrate-borne vibrations. What are their sound perception capacities? We addressed this question in a filter-feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas* (*Crassostrea gigas*), a bivalve mollusc. It is plentiful along various coasts and is the object of major aquaculture efforts in numerous countries. In aquatic animals,

the MolluSCAN eye Project. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

the ability to detect acoustic signals—either transmitted through the water column or via the substrate where they live—is of paramount importance, as acoustic signals have unique advantages by comparison to visual and chemical stimuli: they travel rapidly, and one can detect them independent of the light levels and current direction [3].

Sound detection in invertebrates has been largely studied on crustaceans, which use sound vibrations for communication. By means of behavioural and electrophysiological techniques, thresholds have been determined, providing support for low-frequency sensitivity [4–8]. In Mollusca, studies on cephalopods have reported behavioural and physiological responses to waterborne sound stimuli at low frequencies [9–12]. In both groups the particle motion component of a sound wave, rather than the pressure, is likely to be what they perceive [7, 11, 12]. In contrast, little is known about sound detection and sensitivity in bivalve molluscs despite their importance to the marine ecosystem.

To summarize, Mosher in 1972 [13] induced burrowing behaviour in the Baltic clam or Baltic tellin, *Macoma balthica*, by stimulating the wall of its experimental tank. In 1995, Eilers [14] performed an elegant study on a related bivalve, the digger boy or swatch-riding clam, which lives on sandy beaches of the East Coast of the USA. He demonstrated its ability to detect vibrations produced by the waves and to move up and down along a beach with the rising and falling tides. In 2005, Zhadan [15] reported that a special organ in pectens, the abdominal sense organ, is sensitive to water vibrations. Finally, in 2015 Roberts et al. [16] studied the sensitivity of the blue mussel, *Mytilus edulis*, to substrate-borne vibrations and demonstrated their sensitivity in the range of 5–400 Hz. Vazzana et al. in 2016 [17], working on the mussel *M. galloprovincialis*, reported an absence of behavioural reactions to sweep tones 0.1–60 kHz but significant changes of various biochemical parameters in their haemolymph, from 0.1–5 kHz. Peng et al. in 2016 [18], studying digging behaviour and gene expression in razor clams, showed that a white noise (at ≈ 80 and 100 dB re 1 μ Pa) induced deeper digging and changes in the expression of metabolism-related genes.

To determine whether an animal possesses the sense of hearing is a matter of definitions. If hearing is a response to the pressure component of sound in the ambient environment using specialized organs as ears, bivalve molluscs as many other animals do not hear. If according to Popper et al. [6] there is a need for a gas-filled space to sense pressure changes, again they cannot hear. However, Pumphrey [19] gave an alternative definition. For him, “Hearing is the reception of vibratory stimuli of any kind and nature, provided that the sound source is not in contact with the animal’s body”. In addition, Ladich and Fay [20] report that “hearing is the act of perceiving sound, a sensory function that involves the entire organism’s behaviour. . . which can only be measured using behavioural methods”.

In the present report on oysters, we chose group reactions of rapid valve closure as endpoints of behavioural responses to various sound frequencies at different acoustic energies. Indeed, a wide and resting opening status in unrestrained and settled bivalve molluscs is an index of their welfare [21–23]. In contrast, a rapid decrease of valve opening is a major way to protect their soft body when they detect a threat or whenever they are under special stress or pressure [22]. The objective of the study was to describe the hearing capacities of the Pacific oyster *M. gigas*, including its hearing range and sensitivity. The ecological consequences are discussed in terms of sound sources, including natural sources and noise pollution that contribute to their auditory environment.

Materials and methods

All experiments were performed using 18-month-old Pacific oysters, *M. gigas* (diploid), at the Marine Station of Arcachon. They were purchased from local oyster farmers in the Bay of

Arcachon, France and were chosen a priori according to their shell length ($\approx 70\text{--}75$ mm). This area has sporadic traffic noise mostly composed of recreational and fishing boats (6–19m). Two different groups of 16 oysters were studied in April–May 2015 (group A, $n = 16$) and September 2015 (group B, $n = 16$). All research detailed in this study complied with French law.

Experimental design

The experiments were performed in a 350-L raceway (external diameter 2 m; internal diameter 1 m; depth 0.15 m; see Fig 1A). The set-up was an open flow system with a renewal rate of $250\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$. Oysters were continuously provided with unfiltered seawater directly pumped from the Bay of Arcachon, and dehydrated phytoplankton was added daily at 9 a.m. local time. Normoxic water flow was piped in underwater to prevent collision with the surface and decrease background noise. The water was maintained at a temperature of $15.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, a salinity of 28–32/1000 and a pH of 7.8–8.0. Water current velocity deeply influences the ventilatory activity of filter feeders (see [24], for example) and it was accordingly decided that the water current would be kept constant throughout the experiment. To reduce noise production, the current was generated by a laboratory-made multiple-plate water current generator entrained by a motoreductor (MDP, France). The speed was constant, maintained at the desired value using a FIRST-DC-1C control card (MDP, France) controlled by LabVIEW (National Instrument). The near-bottom current was $\approx 5\text{--}8\text{ cm s}^{-1}$, which was representative of speeds occurring in situ and reported at Eyrac Pier in front of the Marine Station of Arcachon, France [25]. The water level was constant. The photoperiod was artificially maintained constant above the oysters (L:D 12:12; irradiance above the oysters was $\approx 30\text{ }\mu\text{E m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ during the light period and $\approx 1\text{ }\mu\text{E m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ during the dark period, Biospherical Instruments Inc., San Diego, California, USA; neon light MASTER TL-D Xtra 36W/865 1SL, Philips, France). The flume was isolated from external vibrations using vibration-absorbing supports (from top to bottom: tennis balls, wooden boards and sandboxes, Fig 1A) in a room with no external light source. The rest of the room was not illuminated, and the equipment required for sound and behavioural acquisition was placed at a distance to limit external disturbance during and between trials. Oysters equipped with electrodes, see below, were acclimatized to the experimental set up for at least 10 days before any experiment. They were not lying on the bottom of the flume but on an empty oyster bag (mesh size 1.5 cm) in the water column.

Sound generation and recordings (frequency, sound pressure and acceleration)

Oysters were exposed to different pure tones in order to assess the frequencies and acoustic energy levels that induce behavioural responses. The sound stimuli were created in Cool Edit Pro (version 2.0, Syntrillium Software Corporation, USA) using the tone generation tool (WAV format, sampling rate: 44.1 KHz, 16-bit resolution). Each track of 180 sec pure tone included a 70 sec fade-in (a gradual increase in the level of the audio signal) and no fade-out (no gradual decrease in the level of the signal). The tracks were played with a computer connected to an amplifier (model: AA-5810, AKAI Electric Co. Ltd., Japan) through two different underwater speakers depending on the sound stimulus: a commercial underwater loudspeaker and a laboratory-made loudspeaker. The commercial loudspeaker (model: US-0130, Randson Public Address, France) produced signals in the frequency range 80 Hz to 20 kHz (Fig 1B1). It was attached to a plate weighing 3 kg to increase its inertia and suspended in the water column using rubber bands, without direct contact with the bottom or the sides of the flume.

The laboratory-made underwater loudspeaker (Fig 1B2) was used to produce signals from 10 to 80 Hz. It was made from a 38 cm diameter loudspeaker with a mid/bass driver,

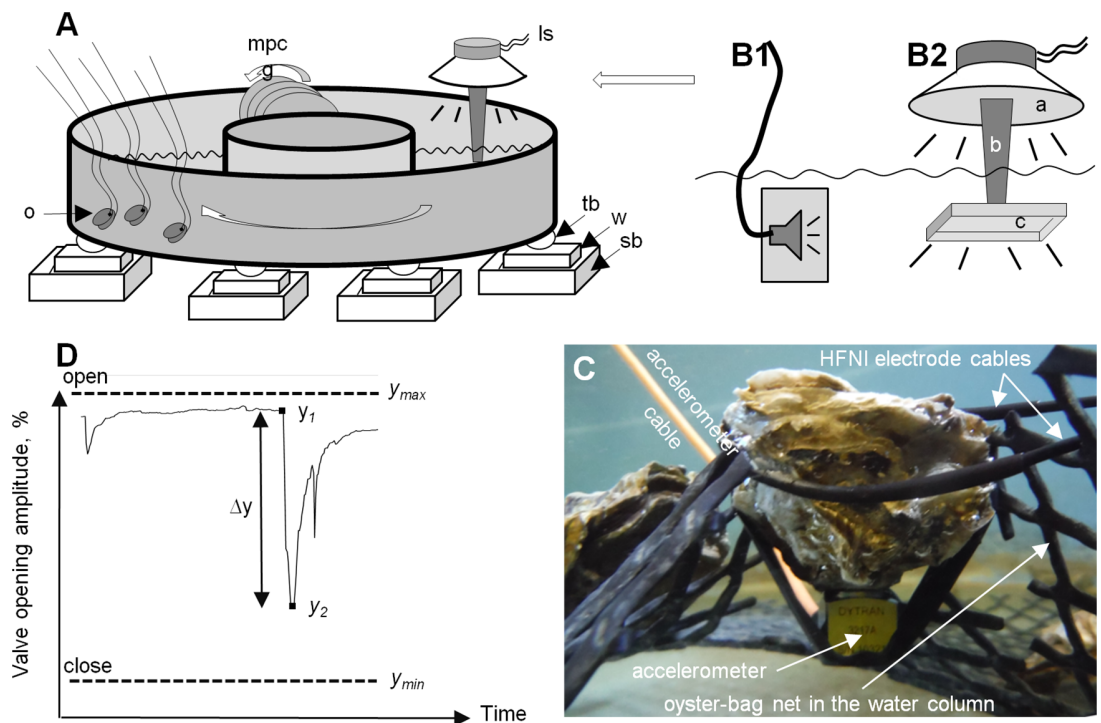


Fig 1. Experimental set-up and quantification of oyster response. A, schematic view. Is, loudspeaker position; mpcg, multiplate current generator; o, oysters equipped with electrodes; tb, tennis ball; w, wooden board; sb, sandbox; tb, w and sb compose a vibration absorber. B1, commercial loudspeaker to produce tones at frequencies from 80–20000 Hz; B2, laboratory-made loudspeaker for frequencies from 10–80 Hz. D, typical valve closure response and measured values: y_{max} , daily maximum VOA (valve opening amplitude); y_{min} , daily minimum VOA; y_1 , VOA prior to valve closing; y_2 , minimal VOA during response; Δy , amplitude of the response expressed in %, see the [Materials and methods](#) section. C, set-up for shell acceleration measurement.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353.g001>

impedance 4 ohms, 200 W rms (where rms is root mean square). An empty plastic cylinder (length 36 cm, diameter 7 cm) was glued on the loudspeaker's membrane, and a rigid plastic plate (length, 25 cm; width, 18 cm; edge, 3 cm; thickness, 4 mm; 150 g) was glued at its end. In use, the body of the loudspeaker was lying on thick foam gaskets on the edge of the flume. Only the rectangular plastic plate was underwater. The sound was recorded at the level of the oysters using a broad-band hydrophone with an internal buffer amplifier (model: H2a-XLR, sensitivity -180 dB re 1 V/ μ Pa, useful range: 10 Hz to 100 kHz, Aquarian Audio Product) linked to a voltage amplifier (Mx34c, Rolls Corporation, USA) and recording software (WaveLab v4.0, Steinberg Media Technologies). In a preliminary experiment, an accelerometer (Dytran underwater accelerometer, model 3217A-10, frequency range 1–10000 Hz, sensitivity 97 mV/g from 10–1000 Hz, weight 5 grams, size 12.7 x 12.7 mm) with 2 amplifiers in series (1 M28 IEPE, gain x1; 1 laboratory-made amplifier, gain x 100) was used to determine oyster shell accelerations at various sound pressure levels (SPLs) and frequencies. The analysis was performed on 5 oysters (shell length 70–75 mm, weight 72.4 ± 10.7 g; $m \pm sd$) at different places on the oyster bag. On each animal, a flat surface was prepared on the lower cupped valve and the accelerometer was firmly secured to this surface with electrical tape (Fig 1C). There were no significant differences among the 5 oysters nor any based on position on the bag. For each frequency, the relationship between sound pressure level in the water column and shell acceleration was calculated and is shown in Fig 2A. The general relationship was

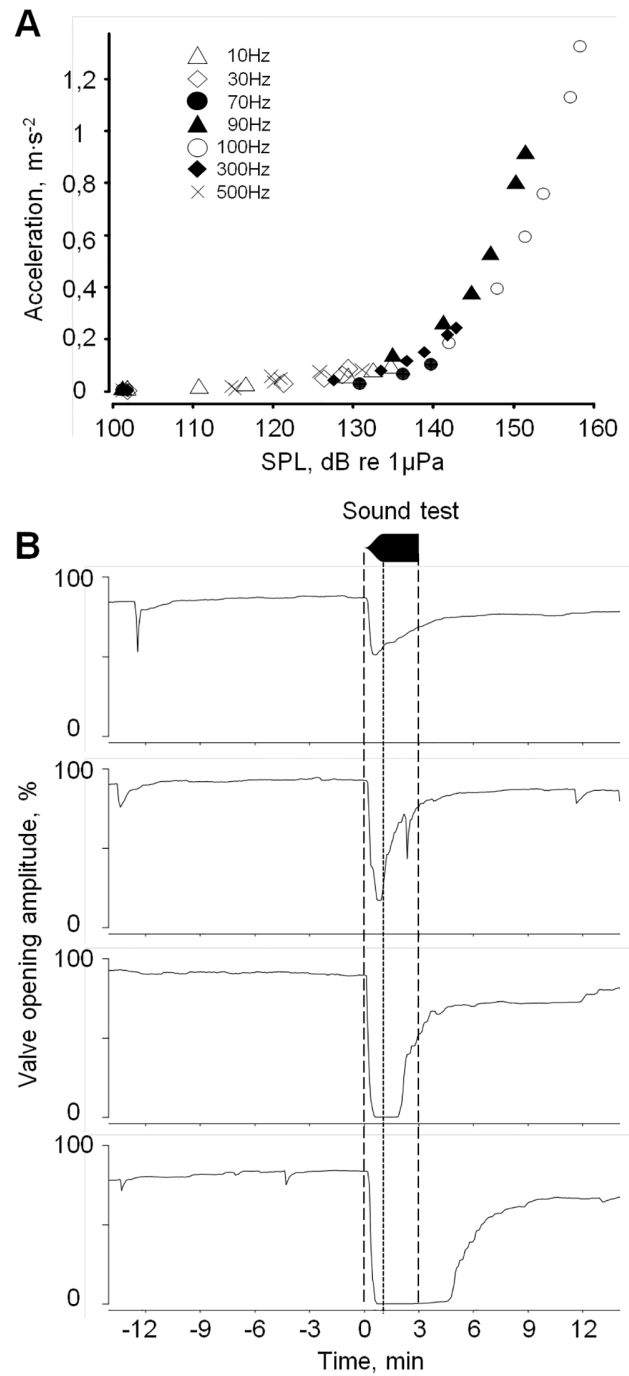


Fig 2. Typical oyster responses to 3 min of pure tone (100 Hz). A, relationship between shell acceleration and sound pressure level at various frequencies. B, from top to bottom, waveform and typical responses ranging from minimal to maximal responses as a function of time. Dashed lines, onset and offset of the stimulus; dotted line, end of the fade-in period; n = 4 individuals.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353.g002>

$y = e^{(ax + b)}$. At 10 Hz, $a = -14.22$, $b = 0.087$; 30 Hz, $a = -19.9$, $b = 0.134$; 70 Hz, $a = -21.74$, $b = 0.14$; 90 Hz, $a = -19.09$, $b = 0.13$; 100 Hz, $a = -18.48$, $b = 0.12$; 300 Hz, $a = -18.28$, $b = 0.12$; 500 Hz, $a = -11.24$, $b = 0.067$. For technical reasons, it was not possible to measure acceleration for each oyster during the sound exposure runs, these curves were used to derive acceleration from SPL recordings. Shell acceleration and sound pressure level are expressed in rms for all measurements. The recording files were digitized at a 44.1 kHz sampling rate (16-bit resolution) and calibrated using pure sine waves played with a wav player and measured at the output of the voltage amplifier with an oscilloscope (model: DSO-X 3012A, Agilent Technologies). No test was taken into account from 700–1000 Hz and 8–10 kHz due to loud-speaker technical restrictions (insufficient acoustic energy).

The background noise in the experimental flume was recorded with and without current. With the current generator running, the background sound pressure level was 101 ± 8 dBrms re $1 \mu\text{Pa}$ in the water column and the reference acceleration was $0.003 \pm 0.001 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ on oyster shells ($n = 15$ records). The background noise was also recorded in the Bay of Arcachon in February (Eyrac Pier, latitude 44.66° , longitude -1.16°) using the same hydrophone. Each recording was 20 sec in duration, taken at a depth of 2 m (sea state 2) and without any boats (oyster farmers or coastal trawlers) in sight. The spectral levels of the recordings were analysed using a written script in R [26].

Sound treatment protocol

Although pure tones are unlikely to occur often in the field, an understanding of oyster responses to them is fundamental to characterize their sound perception ability. The 1st series of sound tests was performed on group A. During a single day, a sound test (1 pure tone, duration 3 min) was performed every 30 min according to the following sequence of frequencies: 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 and 800 Hz. This protocol was repeated on 10 consecutive days. The 2nd series of sound tests was performed on group B following the same experimental procedure but for frequencies ranging from 10–80 Hz. Over the experimental period, the oysters presented a diurnal behaviour pattern. All trials were conducted under light conditions.

Behavioural analysis by valve activity recording

Valve activity was studied using high-frequency noninvasive valvometry. The HFNI valvometer is a high-frequency, noninvasive (HFNI) biosensor employed to monitor the valve behaviour of bivalve molluscs. It is a new-generation technique enabling the online study of the behaviour of bivalve molluscs in a lab or in their natural habitat, without interfering with normal behaviour.

Lightweight electromagnets, designed to minimize disturbance to bivalves' behaviour, were made of two resin-coated electromagnets (56 mg each) glued on each valve and connected by 1.5 m flexible wires to a lab HFNI valvometer. An electromagnetic current between the electrodes was generated, allowing measurement of the amplitude of valve opening expressed from 0 to 100%. The laboratory protocol used here was designed to sample at 3.3 Hz from 16 animals in a sequential order. Every 300 ms, 3 packets of information were produced: distance between valves at the electrode level, sampling time and animal number. According to the present sampling rate, at the individual level, the system performed a measurement of the opening status every 4.8 sec. The basic principles are developed in Sow et al. [27], and examples of application are reviewed in Andrade et al. [28]. The data were analysed according to two protocols. They were transmitted via an acquisition card (NI-USB-6009, National Instrument, Austin, TX, USA) and recorded by a computer using in-house script in LabVIEW (National Instrument). They were also processed to a DELL workstation for analysis

performed automatically using both a Bash script (Unix) and mathematical code written in R. The original records were published online on the professional pages of the MolluSCAN eye website (<https://molluscan-eye.epoc.u-bordeaux.fr/index.php?rubrique=accueil&lang=en&site=EYRAC>).

An individual response was characterized by a decrease of valve opening amplitude (VOA) as shown in Fig 1D. The amplitude of the response, expressed as a percentage, was calculated as

$$\Delta y = \frac{y_1 - y_2}{y_{\max} - y_{\min}} \times 100 \quad (1)$$

where y_1 is the distance between the electrodes at the beginning of the change of VOA; y_{\min} , the daily minimal distance between electrodes (valve closed); y_2 , the minimal distance between the electrodes during the decrease of VOA; y_{\max} , the daily maximal distance between electrodes (valve fully open). The response, a decrease of VOA, was considered a response to sound if it appeared in the 70 sec fade-in stage of the sound exposure and if its amplitude was at least -10%. For each replicate, the number of responses was counted at each frequency and expressed as percentages. In addition, for every sound test, the sound pressure level and the corresponding shell acceleration at which the valve closure started were noted during post-analyses. Three different parameters were derived from this primary endpoint. They were the percentage of responding individuals, the amplitude of valve closure and the delay of the response.

Statistics and estimation of sound perception sensitivity (threshold curves)

As stated above, oysters were exposed to different sound frequencies with t_0 representing the beginning of the test. When a response occurred, the response delay, the associated pressure level and the shell acceleration were computed. To describe the effect that the explanatory variables (SPL and acceleration) has on the dependent variable (% of response in the group), linear regression is the most frequently used type of regression in predictive analysis. However, when the response takes one of only two possible values representing a presence or absence of reaction (0 or 1), the appropriate regression analysis is logistic regression. Logistic regression is used to explain the relationship between a dependent binary variable and one or more independent variables. The specific form of the model is as follows:

$$\text{logit}(p) = \log\left(\frac{\pi}{1 - \pi}\right) = \beta_0 + \beta_1 \log(x) + \varepsilon \quad (2)$$

where β_0 is the intercept parameter and β_1 is the vector of the slope parameter. They are unknown regression parameters to be estimated. Maximum likelihood estimators (MLEs) were considered. The principle of MLE is to find estimators that maximize the likelihood function. The estimated parameters of the model were used to predict the percentage of response in the group relative to sound pressure level and/or shell acceleration. This allowed us to produce a predicted behavioural threshold curves that summarizes the sensitivity of oysters at different frequencies. To assess the goodness of fit of the model and how well the dependent variable is predicted based on the independent variables, the Hosmer-Lemeshow test [29] and likelihood ratio index [30] were used. Comparisons among frequency groups were performed by analysis of variance (ANOVA), after checking assumptions of independence, normality and homoscedasticity of the data. When the normality and the homoscedasticity were not met graphically and from ad-hoc tests, we used a Kruskal-Wallis test. If significant effects were detected, the multiple comparison tests between treatments was used to determine which

groups are different with pairwise comparisons adjusted appropriately. For all statistical results, a probability of $p < 0.05$ was considered significant. All data are provided as supporting Informations ([S1 Database](#))

Results

First delimitation of the sound perception range

As a preliminary experiment, oysters were exposed to a pair of wide-range acoustic sweep tones at maximum acoustic energy. A decrease of valve opening amplitude (VOA, [Fig 2B](#)) was observed in the oysters for the sweep composed of frequencies ranging from 10 to 600 Hz with an averaged pressure level of 146 dBrms re 1 μPa and a shell acceleration of $0.4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$. No reaction was seen when oysters were exposed to the sweep of frequencies from 1 to 20 kHz with an averaged pressure level of 148 dBrms re 1 μPa and a shell acceleration of $0.1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$. Based on this observation, our study focused on their sound perception responses to tones in the frequency range from 10 to 600 Hz.

Typical responses to sound

Depending on the sound frequency, the number of responding oysters exhibiting a decrease of VOA ranged from 0 to 100%, and the valve closure amplitude and the response delay were variable. [Fig 2B](#) shows a typical set of VOA changes in 4 oysters responding to a 3 min tone at 100 Hz, $1.32 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ at shell level and 158 dBrms re 1 μPa . All valve closures started less than 5 seconds after t_0 . The maximum VOA decrease was reached in approximately 30–40 sec. This was systematically followed by a slow valve reopening starting either during or after the 3 min sound test. Then, the valve opening amplitude remained steady, without any particular agitation, until the next sound test. Similar responses were never observed when the sound was turn-off. In a preliminary test series, it was found that the responses were independent of the order of sound frequency presentation, either decreasing or increasing ($p < 0.05$). We then turned to an analysis of the frequencies oyster can perceive at maximum acoustic energy before looking for their hearing thresholds.

Hearing range

The calculated response curve shown in [Fig 3A](#) shows that oysters were sensitive to frequencies ranging from 10 to <1000 Hz. The greatest response falls within the frequency range 10–200 Hz, with 60–95% of animals responding during each test. An analytical approach describing the response curve by logistic regression highlights the highly significant correlation between response and sound frequency (% of responding oysters = $2.021 - 0.006$ frequency; $p < 0.001$). The percentage of responding oysters to frequencies from 10–40 and 90–100 Hz was significantly different to response from 300–600 Hz ($p < 0.05$). As loudspeakers do not produce a constant maximum acoustic energy at all frequencies, [Fig 3B1 and 3B2](#) show respectively the simultaneously measured SPL in the water column ([Fig 3B1](#)) and the corresponding maximum shell acceleration ([Fig 3B2](#)) from 10–10 000 Hz. It shows that SPL was independent of frequency ($r^2 = 0.06$, $p = 0.13$) while some lowest shell accelerations were measured at the highest frequencies ($r^2 = 0.12$, $p = 0.06$).

We then switched to an analysis of the change of valve opening amplitude at these various sound frequencies to broaden our view of the oyster's sensations. Specifically, we examined whether the change of VOA revealed a protective behaviour or a stress reaction that was related or proportional in some way to sound frequency. [Fig 3C](#) shows that two frequency ranges, 10–20 and 90–100 Hz, induced a maximum decrease of VOA of 43 ± 3 and $51 \pm 6\%$,

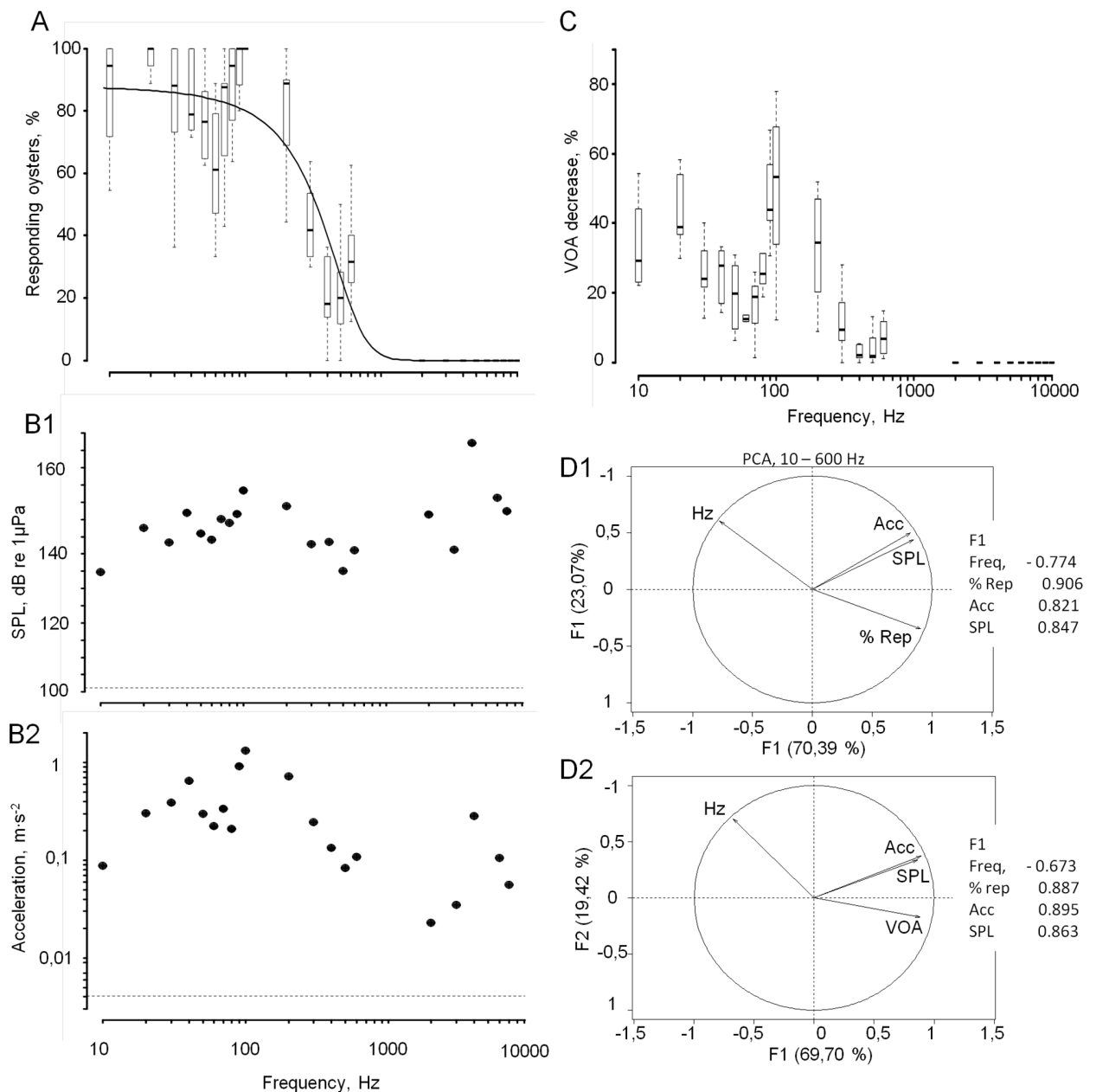


Fig 3. Oysters responded to sound frequencies and exhibit two peaks of maximum sensitivity at 20 and 90–100 Hz. A, a logistic regression described the relationship between the percentage of responding oysters in a group and sound frequency. For each frequency, the distribution is described by quartiles (bold line, median). B1, the measured sound pressure level, SPL, for the studied frequencies expressed in rms. B2, the measured shell accelerations at various frequencies expressed in rms. C, the relationship between the percentage of valve opening amplitude and sound frequency. At each frequency, the data distribution is described by quartiles. N = 16 oysters. D1 and D2, Principal Component Analysis describing the correlation between the percentage of responding oysters (% Rep, D1) and valve opening-amplitude decrease (VOA, D2) combined with frequency (Hz), shell acceleration (Acc) and sound pressure level (SPL).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353.g003>

respectively. In contrast, the frequencies near 60 Hz (40–80 Hz), which were already associated with a significantly lower percentage of responses in the group (see Fig 3A), induced a weakest decrease of valve opening amplitude, with a mean value of only $12 \pm 0.7\%$. This minimal decrease was not different from the closing amplitude observed at 300 and 600 Hz ($12 \pm 2\%$ at

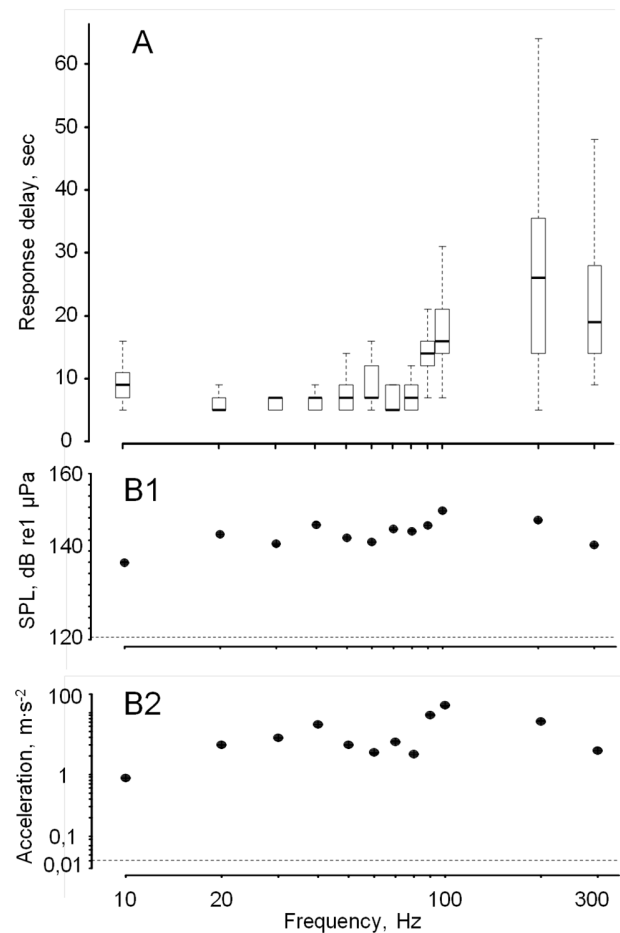


Fig 4. Response delay is function of sound frequency from 10–300 Hz. A, The response delay was systematically shorter from 10–80 Hz and the variability smaller from 10–80 Hz, with an exception at 60 Hz, illustrating a particular sensitivity to the lowest frequencies, N = 16 oysters. B1 and B2 represent the measured sound pressure levels, SPL, and shell accelerations for frequencies from 10–300 Hz.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353.g004>

300 Hz, $p = 0.868$ and $9 \pm 3\%$ at 600 Hz, $p = 0.062$) but significantly different from the responses at 20 and 100 Hz ($p < 0.01$). To quantify the above observations, Principal Component Analysis (PCA) were performed on the percentage of responding oysters and valve opening-amplitude decrease (VOA) combined with frequencies ranging from 10–600 Hz (the hearing range), shell accelerations and sound pressure levels (Fig 3D1 and 3D2). Components 1 and 2 explained $\approx 90\%$ of the total variance (Fig 3D1, 93.46%; Fig 3D2, 89.12%). Fig 3D1 and 3D2 show that the percentage of responding oysters and the valve opening amplitude were positively correlated to shell acceleration and sound pressure levels. On the contrary they were negatively related to frequency.

To gain a final insight into the responses of oysters to various frequencies, we next examined the response delay of each oyster with respect to the stimulus onset (with t_0 representing the time at which the fade-in period of the sound test started). The delay and the response delay homogeneity varied with frequency (Fig 4A). A multiple regression with “forward selection” showed that frequency explains 75% of the variability of response delay, while shell acceleration and pressure level respectively explain 10% and 1% of the variability. The delays were

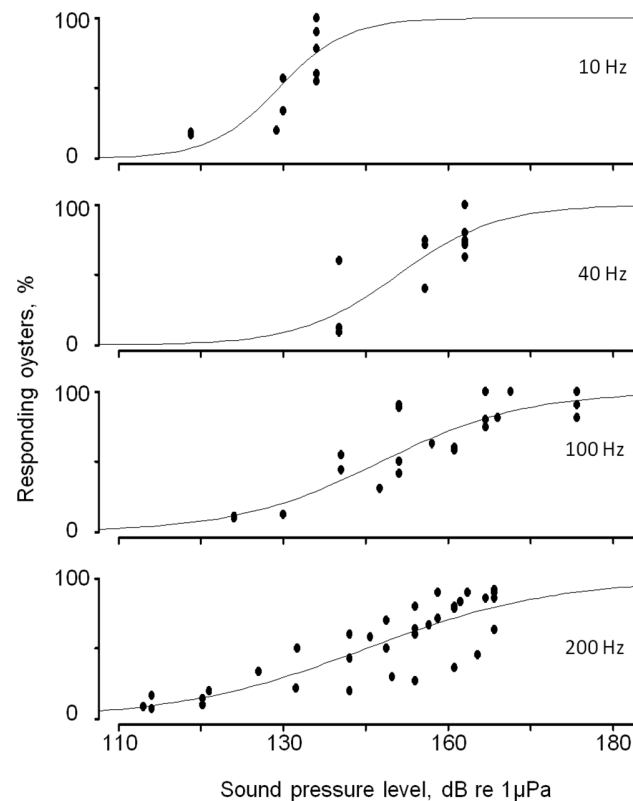


Fig 5. Identifying thresholds at various sound pressure levels for various frequencies. Four examples of logistic regression models describing the relationship between oyster group responses and sound pressure levels at 10, 40, 100 and 200 Hz. Sound pressure levels are expressed as dBrms.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353.g005>

systematically shorter and more homogenous for frequencies ranging from 10 to 80 Hz. They were longer and more variable for frequencies from 100 to 300 Hz. The response delay at 90 Hz was longer than the delay at 10, 20, 30, 40, 50, 70, 80 Hz ($p < 0.05$), whereas it was not significantly different to 60 Hz. As the valve closure is a result of sound perception by the animals, it shows that low frequencies carried a different meaning than higher frequencies. To continue our examination of oyster sound perception, we then switched to an analysis focusing on their sensitivity to sound intensities.

Sensitivity to sound intensity: Towards a graphic representation

The minimum sound intensity associated with a decrease of valve opening amplitude was studied at various frequencies (10, 30, 80, 100, 200, 300 and 400 Hz). The dependent variable was the percentage of oysters showing a decrease of VOA. A logistic regression was performed to estimate a model that adequately explained the relationship between valve response and acoustic energy. Fig 5 presents 4 examples of response curves for 10, 40, 100 and 200 Hz. The model was significant for frequencies ranging from 10 to 400 Hz but not significant for 500 or 600 Hz. Consequently, these frequencies were not included in the estimation.

Using the model, sensitivity thresholds to acoustic energy at various frequencies were obtained. The acoustic energy levels required to induce a valve reaction in 30 to 100% of individuals in the exposed oyster groups (effect acoustic energy, EAE, from 30–100%, EAE_{30} – EAE_{100}) were estimated. Fig 6 shows the corresponding series of curves including sound

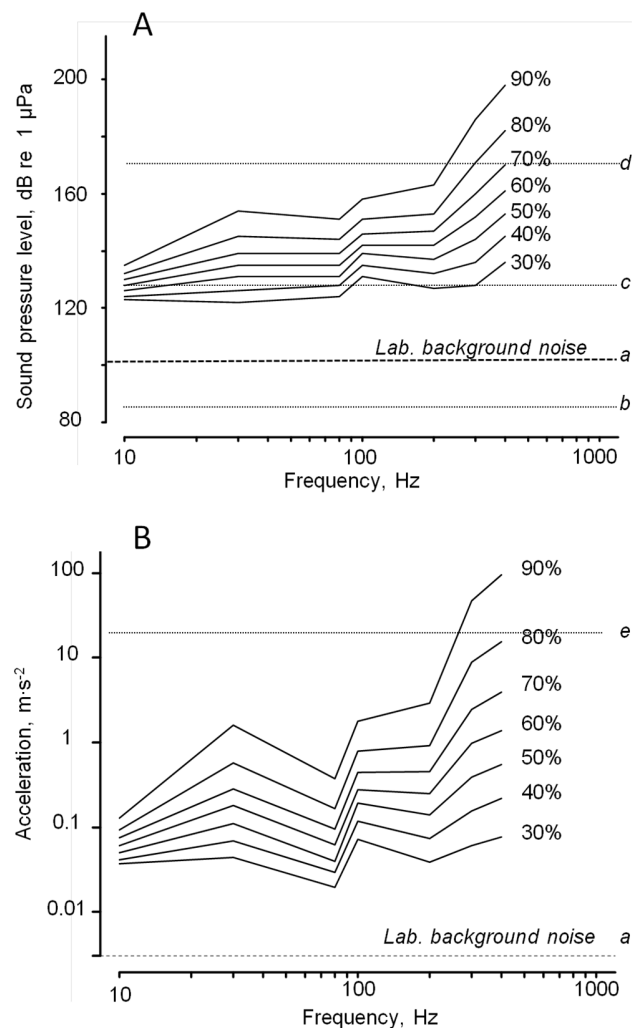


Fig 6. Behavioral thresholds (*M. gigas*) based on the percentage of responding oysters in a group. At each sound frequency, the percentage of responding oysters increased with sound pressure level, SPL, and shell acceleration allowing a family of curves to be drawn. A, Relationship among SPL, frequency and percentage of responding oysters. a, b, c and d, are examples of *in situ* noise recordings (rms; a, background noise under laboratory conditions; b, background noise at Eyrac pier, Bay of Arcachon, France; c, background noise in Poole Harbour, UK [31]; d, noise level produced by a cargo boat at 10 m away [32]. B, Relationship among shell acceleration, frequency and percentage of responding oysters. a, laboratory background noise; e, water motion of breaking waves on a rocky shore [33]. The minimum acoustic energy required to evoke a response increased with frequency.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353.g006>

pressure levels (Fig 6A) and shell accelerations (Fig 6B). Clearly, the acoustic energy required to obtain a given percentage of response increases with frequency. Oysters are the most sensitive to sound at the lowest frequencies. To support the interpretation, we added informations to the graph about various marine noise backgrounds. On Fig 6A and 6B, the dashed line a shows the background noise in our laboratory conditions. On Fig 6A dashed line b is a noise recorded in the Bay of Arcachon in winter (Eyrac Pier, France) with no boating around, the dashed line c shows the background noise for Poole Harbour (UK, [31]) and the dashed line d gives the sound level (172 dB re 1 μPa) produced by a cargo vessel at 10 m (173 m length, 16 knots; [32]). On Fig 6B, the dashed line e shows an example of flow acceleration generated by

breaking waves on rocky shores, 2 cm above the substratum, at Pacific Grove, California (within beds of the mussel *M. californianus*; wave height, 0–0.5 m; [33]).

Discussion

The present work provides a study of sound perception ability in oysters *M. gigas* using a behavioural approach based on transient valve closure reactions. We have shown that *M. gigas* is sensitive to sound in the range of 10 to < 1000 Hz—-independent or nearly independent of sound pressure level and shell acceleration under our experimental conditions—with two maximum valve closure reactions at 10–20 Hz and 90–100 Hz. The response delay was systematically faster in the lowest frequency range, 10–80 Hz. The minimum acoustic energy required from 10–80 Hz to evoke a response in 30% of a group was estimated by modelling to ≈ 122 dBrms re 1 μPa and $0.02 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$. It increased with frequency. Importantly, as a partial valve closure cannot be differentiated from a response to a nociceptive stimulus, the data show that *M. gigas* should detect lower acoustic energy.

Comparison with published data in terms of bandwidth and acoustic energy

This is the first report quantifying the sound perception ability in oysters. While a large amount of work has been devoted to fish [20], very few works have focused on the question of sound perception in bivalve molluscs. Most likely, the most advanced one is the work by Roberts et al. [16] on blue mussels, *M. edulis*. As we did in our study, they used valve reaction as an endpoint of sound perception. They studied the impact of substrate-borne vibrations—mimicking anthropogenic operations such as pile driving and blasting—while we studied the perception of sound generated in the water column. Using a shaker system, Roberts et al. [16] produced pure tones in the range of 5–410 Hz, and they established the threshold sensitivity of mussels lying on a sand and gravel bottom. They concluded that *M. edulis* responses were relatively constant from 5–90 Hz with a sharp decrease in sensitivity at 210 Hz. Under their experimental procedure, the minimum sound intensity required to initiate a response ranged from 0.06 to $0.55 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ (rms, 5–410 Hz). Although there are differences of experimental design and possibly species-specific differences, these findings are consistent with present results. On another side, unlike what they observed, oysters in the present work exhibited a gradual and continuous reduction in sensitivity with increasing frequency above 200 Hz while for mussel thresholds were relatively constant across frequency.

Mosher [13] was probably the first to demonstrate that a bivalve mollusc can detect low frequency vibrations. He elicited burrowing behaviours in *Macoma balthica* exposed to vibrations produced by a small solenoid unit working at 2–50 Hz (unknown SPL) and applied on the aquarium sides. The activity was recorded by a kymograph, and the response was obtained after a minimum of 5 sec exposure, which is comparable to the minimum response delay reported in the present work. Ellers [14] studied the swatch-riding clam *Donax variabilis*. *D. variabilis* perceive the vibrations created by incoming waves at frequencies ranging from 1 to 1000 Hz. They were more responsive to frequencies from 20–140 Hz (at 146 dBrms re 1 μPa) and pure tones at 72 Hz (150 dBrms re 1 μPa). They were less responsive to 832 Hz despite a relatively higher pressure level (166 dBrms re 1 μPa). Using a different approach, Zhadan [15] studied the role of the abdominal sense organ (ASO) in two pecten species, *Mizuopecten yesoensis* and *Chlamys swifti*. He reported that contractions of the mantle velum edge in both species are sensitive to modulated ultrasonic vibrations in the range 30–1000 Hz without any information on applied sound pressure level. Finally, Vazzana et al. [17] studied behaviour and changes of haemolymphatic parameters in *M. galloprovincialis* following 30 min exposures

to various sweep tones ranging from 100 Hz to 60 kHz (maximum SPL of 150 dB_{rms} re 1 μ Pa). They observed no change of behaviour whatever the applied sound frequency. At 100–5000 Hz, which includes frequencies to which invertebrates are responsive, they found significantly higher values of the following biochemical stress parameters: glucose, total protein, total haemocyte number, HSP 70, and AChE activity. These results show that the internal physiology of *M. galloprovincialis* can be significantly modified by frequencies similar to what was reported for *M. edulis* [16] and what we report here for *M. gigas*.

In Mollusca, a significant amount of work has been devoted to cephalopods. *Octopus ocellatus* [10] is remarkably sensitive to frequencies ranging from 50 to 280 Hz with a minimal threshold at 0.0005 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ (rms). As in oysters it exhibits a decrease of sensitivity above 200 Hz. The cuttlefish *Sepia officinalis* have been reported to react to frequencies from 1–100 Hz with a threshold ranging from 0.008 to 2 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ (rms; [12]). In the same species, Samson et al. [34] studied the relationship between sound pressure levels, frequency and different types of behavioural responses. They exposed them to pure tones ranging from 80 to 1000 Hz with SPL of 85–188 dB_{rms} re 1 μ Pa and particle acceleration from 0–17.1 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$. It is worth noticing that the first reported behavioural changes (small body pattern change and fin movements) occurred at 150 Hz and 0.02 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ (125 dB_{rms} re 1 μ Pa), which is comparable to the sensitivity reported at 200 Hz for *M. gigas* (0.04 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ and 128 dB_{rms} re 1 μ Pa; Fig 6).

In crustaceans, Roberts et al. [7] reported sensitivity ranging from 0.02–0.44 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ (rms, 5–410 Hz) for *Pagurus bernhardus* exposed to substrate-borne vibrations. Salmon [8] showed that *Uca pugilator* is more sensitive to frequencies ranging from 30 to 60 Hz with a threshold of 0.04–0.05 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ (rms). It is less sensitive to frequencies between 240 and 1000 Hz (2 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$, rms). The frequency range and highest sensitivity reported in crustaceans are then close to values found in oysters (current work) and mussels [16].

On the contrary fish without swim bladder appears to be more sensitive to sound than oysters. Karlsen [35] examined the sensitivity of the plaice *Pleuronectes platessa*. He measured thresholds of approximately 0.00005 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ (rms) at 10 and 30 Hz. The cod *Gadus morhua* is even more sensitive at 60 Hz with a threshold reaching 0.00001 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ (rms; from [36]).

How do oysters perceive sound vibrations?

In water-breathers, sound reaches sense organ directly since their body has more or less the same density as the water. Their sense organ, along with the rest of the body, moves with the sound. Different structures allow such a perception of sound pressure and/or of particle motion [6, 37]. In fish, the swim bladder or any other gas-filled structure gives sound pressure sensitivity. In the absence of a gas-filled structure, as, for example, in elasmobranch, the otolith organs allow sound detection through direct response to acoustic particle motion [38]. In crustaceans, different sensory systems are present including setae cells, chordotonal organs and statocyst receptors [6, 39]. In molluscs, including bivalve molluscs, statocysts also exist, and since they are mass loaded by statolith(s) they are evidently good candidates to detect particle motion in a similar manner to the otolith-loaded hair cells in the vertebrate ear. In bivalve molluscs, statocysts and hair cells have been described in adults and larvae of scallops (*Pecten maximus*), blue mussel (*M. edulis*), freshwater mussels (*Anodonta cygnea*) [39, 40, 41], Anomalodesmata (which include the razor shells [42]) and oysters (*Ostrea edulis* [43]; Tsirulis [44] cited in Budelmann [45]).

In cephalopods, the role of statocysts has also been well studied. As reviewed by Budelmann [45], cephalopods have been shown to detect water-borne sounds using their statocysts. Williamson [46] showed that isolated statocysts of octopus showed peak sensitivity at 70–100 Hz, and Kaifu et al. [10] reported that an absence of statocyst abolishes the response following

behavioural tests. Cephalopods have also superficial receptor systems that sense local water pressure movements. They are analogous to the amphibian and fish lateral line and include the presence of ciliated sensory cells. They are highly sensitive to local water oscillation in the range of 0.5–400 Hz, with a threshold at 100 Hz as low as 0.06 μm peak-to-peak water displacement at the receptor cell [45].

What do oysters perceive in the field?

To review the various vibrations present around oyster *M. gigas* fields, one can differentiate between biotic and abiotic vibrations of natural and anthropogenic origins. In shallow waters, the main abiotic source is certainly the breaking surf, emitting at frequencies from 10–800 Hz and at sound pressure levels up to 120 dBrms re 1 μPa between 10 and 20 Hz [47]. Records made from the pier at Scripps Institution of Oceanography (California, US) report breaking waves generating sound pressure levels up to 110–118 dB re 1 μPa between 100 and 200 Hz [48]. Gaylord [33] studied the relationship between wave height, intertidal water velocities and accelerations on rocky shores. He reported that fully breaking waves 0–0.5 m high produced $1.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ velocities and $25 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ accelerations while 1.0–1.5 m high waves generated $3.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ and $70 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ velocities and accelerations. Water flow and currents also emit sounds that are interesting for the present purpose. Tonolla et al. [49] reported that a current of $0.4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ can generate noise at frequencies from 30 to 500 Hz and with a sound pressure level up to 120 dB, and they suggested that it could affect fish behaviour, triggering displacement to different habitats. Mat et al. [50] reported that the tidal rhythmicity of oyster valve closing/opening, described by Tran et al. [21] in the coastal zones, follows either an endogenous or an exogenous pathway, by means of a circadian clock or not. We show that sounds and vibrations produced by breaking waves and currents are in the sensitivity range of mussels and oysters. We propose that, at rising tide it could be a tidal cue triggering oyster circatidal activity and increasing their fitness to their particular habitat. Ubertini et al. [51] reported that thunderstorms could be potential spawning triggers in the oyster *M. gigas* and that lightning impacts are associated with the largest larvae cohorts in the Thau lagoon (France). Thunderstorms include claps of thunder and produce infrasound bursts that are 3 sec in duration with peaks at 10–30 Hz and 100–300 Hz [52] which are audible to oysters. Consequently, we also propose that the hearing ability in oysters could (i), play a role in synchronizing spawning events, (ii) influence spawning efficiency and then (iii) participate indirectly in the control of oyster population dynamics.

Numerous animals produce sounds at frequencies noticeable by oysters or other bivalves that have the same capacity. The limiting factors will be the acoustic energy and the distance from the source. Interestingly, numerous fishes produce sounds below 1 kHz. The oyster toadfish, a well-known predator of young oysters, produces an agonistic sound with a fundamental frequency between 90 and 100 Hz [53]. Swimming fishes produce sounds mainly composed of frequencies less than 100 Hz [54], which are, again, in the oyster hearing range. Lobsters, *Homarus americanus*, which can feed on young oysters produce carapace vibrations from 90–260 Hz, which generate water-borne acoustic signals [55]. In the tropics, sounds produced by crustaceans have been recorded. Patek and Cadwell [56] reported that the mantis shrimp, *Hemisquilla californiensis*, known to kill prey such as sea snails by spearing and stunning them, produces sounds at a fundamental frequency ranging from 20 to 60 Hz. Fiddler crabs, which can also feed on young oysters, found among mangroves and along sea beaches, lagoons and swamps, produce sounds correlated with the vibratory movements of their ambulatories. Part of this sound profile is at frequencies between 150 and 250 Hz. These sounds are directly transmitted in the substrate, and the louder sounds can propagate at distances of 10 m [57]. On a

theoretical basis, all of the above sounds and vibrations could be perceived by oysters. In contrast, they should not hear snapping shrimps, the major source of biological noise in coastal tropical waters (peak-to-peak source levels varying from 183–189 dB re 1 μ Pa [58]), because they produce frequencies in the range 2–200 kHz. This of course is speculation, but it does raise the prospect of exciting research directions for the future.

For the last few decades, noise pollution has been a major problem in the marine environment, evidently including the coastal zone inhabited by oysters and various bivalve molluscs. Most of this pollution is at low frequencies (below 1 kHz) and is due to distant and nearby cargo boats scattered in the oceans (for recent reviews, see [32, 59]). Shipping generates sounds up to 180–190 dB re 1 μ Pa @ 1 m, with much of the power concentrated below 200 Hz. However, other sources are also of major importance. The most powerful are explosions (up to 300 dB re 1 μ Pa @ 1 m for 10–200 Hz) and seismic research (220–230 dB_{peak} re 1 μ Pa for 5–300 Hz; and vibrations level up to 0.001 m·s⁻¹ peak at 296 m from the source). Pile driving can generate up to 237 dB re 1 μ Pa @ 1 m for 20–1000 Hz, drilling from a fixed platform produced noise up to 145–190 dB re 1 μ Pa @ 1 m at frequencies between 10 to 100 Hz, and wind turbines generate sound up to 140–150 dB re 1 μ Pa @ 1 m in the bandwidth 16 Hz to 20 kHz with a major amplitude at 30–200 Hz [32]. Importantly, note that shipping and wind turbines are considered to produce sound continuously. All of these sounds are within the hearing ability of oysters especially if we consider that substrate vibration is also encountered as a result of sound in the water. In contrast, small recreational boats, jet skis and water bikes, which produce sounds at 1–5 kHz (150–180 dB re 1 μ Pa @ 1 m), should not be heard by oysters.

Invertebrates are a major component of biodiversity. Understanding their relationship with the world of sound, especially how they interact with it, is clearly under evaluated but is a fascinating challenge.

Supporting information

S1 Database. All data base.
(XLSX)

Acknowledgments

The authors would like to thank Damien Tran, Olivier Poncelet and Christine Biateau for helpful discussions.

Author Contributions

Conceptualization: Mohcine Charifi, Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

Data curation: Mohcine Charifi, Mohamedou Sow, Jean-Charles Massabuau.

Formal analysis: Mohcine Charifi, Mohamedou Sow, Jean-Charles Massabuau.

Funding acquisition: Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

Investigation: Mohcine Charifi.

Methodology: Mohcine Charifi, Pierre Ciret, Jean-Charles Massabuau.

Project administration: Mohcine Charifi, Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

Software: Mohamedou Sow, Pierre Ciret.

Supervision: Mohamedou Sow, Pierre Ciret, Jean-Charles Massabuau.

Validation: Mohcine Charifi, Pierre Ciret, Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

Visualization: Mohcine Charifi, Mohamedou Sow, Jean-Charles Massabuau.

Writing – original draft: Mohcine Charifi, Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

References

1. Chao P, Xinguo Z, Guangxu L. Noise in the Sea and Its Impacts on Marine Organisms. *Int J Environ Res Public Health*. 2015; 12: 12304–12323. <https://doi.org/10.3390/ijerph121012304> PMID: 26437424
2. de Soto NA. Peer-reviewed studies on the effects of anthropogenic noise on marine invertebrates: From scallop larvae to giant squid. In: Popper AN, Hawkins A, editors. *The Effects of Noise on Aquatic Life II*. New York: Springer; 2016. pp. 17–26.
3. Rogers PH, Cox M. Underwater Sound as a Biological Stimulus. In: Atema J, Fay RR, Popper AN, Tavolga WN, editors. *Sensory Biology of Aquatic Animals*. New York: Springer; 1988. pp. 131–149.
4. Breithaupt T, Tautz J. The Sensitivity of crayfish mechanoreceptors to hydrodynamic and acoustic stimuli. In: Wiese K, Krenz WD, Tautz J, Reichert H, Mulloney B, editors. *Frontiers in Crustacean Neurobiology*. Basel: Birkhäuser; 1990. pp. 114–120.
5. Goodall C, Chapman C, Neil D. The acoustic response threshold of the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L.) in a free sound field. In: Wiese K, Krenz WD, Tautz J, Reichert H, Mulloney B, editors. *Frontiers in Crustacean Neurobiology*. Basel: Birkhäuser; 1990. pp. 106–113.
6. Popper AN, Salmon M, Horch KW. Acoustic detection and communication by decapod crustaceans. *J Comp Physiol A*. 2001; 187: 83–89. PMID: 15523997
7. Roberts L, Cheesman S, Elliott M, Breithaupt T. Sensitivity of *Pagurus bernhardus* (L.) to substrate-borne vibration and anthropogenic noise. *J Exp Mar Bio Ecol*. 2016; 474: 185–194.
8. Salmon M. Signal Characteristics and Acoustic Detection by the Fiddler Crabs, *Uca rapax* and *Uca pugilator*. *Physiol Zool*. 1971; 44: 210–224.
9. Kaifu K, Segawa S, Tsuchiya K. Behavioral responses to underwater sound in the small benthic octopus *Octopus ocellatus*. *J Mar Acoust Soc Jpn*. 2007; 34: 266–273.
10. Kaifu K, Akamatsu T, Segawa S. Underwater sound detection by cephalopod statocyst. *Fish Sci*. 2008; 74: 781–786.
11. Mooney TA, Hanlon RT, Christensen-Dalsgaard J, Madsen PT, Ketten DR, Nachtigall PE. Sound detection by the longfin squid (*Loligo pealeii*) studied with auditory evoked potentials: sensitivity to low-frequency particle motion and not pressure. *J Exp Biol*. 2010; 213: 3748–3759. <https://doi.org/10.1242/jeb.048348> PMID: 20952625
12. Packard A, Karlsen HE, Sand O. Low frequency hearing in cephalopods. *J Comp Physiol A*. 1990; 166: 501–505.
13. Mosher JL. The responses of *Macoma balthica* (Bivalvia) to vibrations. *J Molluscan Stud*. 1972; 40: 125–131.
14. Ellers O. Discrimination among wave-generated sounds by a swash-riding clam. *Biol Bull*. 1995; 189: 128–137. <https://doi.org/10.2307/1542463> PMID: 27768488
15. Zhadan PM. Directional sensitivity of the Japanese scallop *Mizuhopecten yessoensis* and Swift scallop *Chlamys swifti* to water-borne vibrations. *Russ J Mar Biol*. 2005; 31: 28–35.
16. Roberts L, Cheesman S, Breithaupt T, Elliott M. Sensitivity of the mussel *Mytilus edulis* to substrate-borne vibration in relation to anthropogenically generated noise. *Mar Ecol Prog Ser*. 2015; 538: 185–195.
17. Vazzana M, Celi M, Maricchiolo G, Genovese L, Corrias V, Quinci EM, et al. Are mussels able to distinguish underwater sounds? Assessment of the reactions of *Mytilus galloprovincialis* after exposure to lab-generated acoustic signals. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2016; 201: 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.06.029> PMID: 27371112
18. Peng C, Zhao X, Liu S, Shi W, Han Y, Guo C, et al. Effects of anthropogenic sound on digging behavior, metabolism, Ca²⁺/Mg²⁺ ATPase activity, and metabolism-related gene expression of the bivalve *Sinonovacula constricta*. *Sci Rep*. 2016; 6: 24266. <https://doi.org/10.1038/srep24266> PMID: 27063002
19. Pumphrey RJ. Hearing. *Symp. Soc. Exp. Biol*. 1950; 4: 3–18.
20. Ladich F, Fay RR. Auditory evoked potential audiometry in fish. *Rev. Fish Biol. Fish*. 2013; 23: 317–364. <https://doi.org/10.1007/s11160-012-9297-z> PMID: 26366046

21. Tran D, Nadau A, Durrieu G, Ciret P, Parisot JP, Massabuau JC. Field chronobiology of a molluscan bivalve: How the moon and sun cycles interact to drive oyster activity rhythms. *Chronobiol Int*. 2011; 28: 307–17. <https://doi.org/10.3109/07420528.2011.565897> PMID: 21539422
22. Schwartzmann C, Durrieu G, Sow M, Ciret P, Lazareth CE, Massabuau JC. In situ giant clam growth rate behavior in relation to temperature: A one-year coupled study of high-frequency noninvasive valvometry and sclerochronology. *Limnol Oceanogr*. 2011; 56: 1940–1951.
23. Tran D, Sow M, Camus L, Ciret P, Berge J, Massabuau JC. In the darkness of the polar night, scallops keep on a steady rhythm. *Sci Rep*. 2016; 6: 32435. <https://doi.org/10.1038/srep32435> PMID: 27577847
24. Dolmer P. Feeding activity of mussels *Mytilus edulis* related to near-bed currents and phytoplankton biomass. *J. Sea Res*. 2000; 44: 221–231.
25. Massabuau JC, Forgue J. A field versus laboratory study of blood oxygen status in normoxic crabs at different temperatures. *Can J Zool*. 1996; 74: 423–430.
26. R Development Core Team (2015). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
27. Sow M, Durrieu G, Briollais L, Ciret P, Massabuau JC. Water quality assessment by means of HFNI valvometry and high-frequency data modeling. *Environ Monit Assess*. 2011; 182: 155–70. <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1866-9> PMID: 21229302
28. Andrade H, Massabuau JC, Cochrane S, Ciret P, Tran D, Sow M, et al. High frequency non-invasive (HFNI) bio-sensors as a potential tool for marine monitoring and assessments. *Front Mar Sci*. 2016; 3:187.
29. Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression*. Second edition. New York: Wiley; 2000.
30. McFadden D. Conditional logit analysis of qualitative choice behavior. In Zarembka P, editor. *Frontiers in Econometrics*. New York: Academic Press; 1973. pp.105–142.
31. Nedwell JR, Edwards B. A review of measurements of underwater man-made noise carried out by Subacoustech Ltd, 1993–2003. UK: Subacoustech Ltd; 2004 Report No.: 534R0109.
32. Hildebrand J. Anthropogenic and natural sources of ambient noise in the ocean. *Mar Ecol Prog Ser*. 2009; 395: 5–20
33. Gaylord B. Detailing agents of physical disturbance: wave-induced velocities and acceleration on rocky shore. *J Exp Mar Bio Ecol*. 1999; 239: 85–124.
34. Samson JE, Mooney TA, Gussekloo SWS, Hanlon RT. Graded behavioral responses and habituation to sound in the common cuttlefish *Sepia officinalis*. *J Exp Biol*. 2014; 217: 4347–4355. <https://doi.org/10.1242/jeb.113365> PMID: 25394634
35. Karlsen HE. Infrasound Sensitivity in the Plaice (*Pleuronectes Platessa*). *J Exp Biol*. 1992; 171: 173–187
36. Sigray P, Anderson MH. Particle motion at an operational wind turbine in relation to hearing sensitivity in fish. *J Acoust Soc Am*. 2011; 130: 200–207. <https://doi.org/10.1121/1.3596464> PMID: 21786890
37. Popper AN, Higgs DM. Fish: hearing, lateral lines (Mechanisms, role in behavior, adaptations to life underwater). In: Steel JH, Turekian KK, Thorpe SA, editors. *Encyclopedia of Ocean Sciences*. Oxford: Academic; 2009. pp. 476–482.
38. Popper AN, Fay RR. Rethinking sound detection by fishes. *Hear Res*. 2011; 273: 25–36 <https://doi.org/10.1016/j.heares.2009.12.023> PMID: 20034550
39. Budelmann BU. Hydrodynamic receptor systems in invertebrates. In: Coombs S, Görner P, Münz H, editors. *The Mechanosensory Lateral Line*. New York: Springer; 1989. pp. 607–631.
40. Barber VC, Dilly PN. Some aspects of the fine structure of the statocysts of the molluscs *Pecten* and *Pterotrachea*. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*. 1969; 94: 462–78. PMID: 5306803
41. Cragg SM, Nott JA. The ultrastructure of the statocysts in the pediveliger larvae of *Pecten maximus* (L.) (Bivalvia). *J Exp Mar Bio Ecol*. 1977; 27: 23–36.
42. Morton B. Statocyst structure in the Anomalodesmata (Bivalvia). *J Zool*. 1985; 206: 23–34.
43. Erdmann W. Untersuchungen über die Lebensgeschichte der Auster Nr. 5 über die Entwicklung und die Anatomie der “ansatzreifen” Larve von *Ostrea edulis* mit Bemerkungen über die Lebensgeschichte der Auster. *Wiss. Meeresunters N.F. Abt. Helgoland*. 1934; 19: 1–24.
44. Tsirulis TP. The ultrastructural organization of statocysts of some bivalve molluscs (*Ostrea edulis*, *Mytilus edulis*, *Anodonta cygnea*). *Cell tissue biol*. 1981; 23: 631–637.
45. Budelmann BU. Hearing in non-arthropod invertebrates. In: Webster DB, Fay RR, Popper AN, editors. *The Evolutionary Biology of Hearing*. New York: Springer; 1992. pp 141–155.

46. Williamson R. Vibration sensitivity in the statocyst of the northern octopus, *Eledone cirrhosa*. *J Exp Biol.* 1988; 134: 451–454.
47. Haxel JH, Dziak RP, Matsumoto H. Observations of shallow water marine ambient sound: The low frequency underwater soundscape of the central Oregon coast. *J Acoust Soc Am.* 2013; 133: 2586–2596. <https://doi.org/10.1121/1.4796132> PMID: 23654367
48. Deane GB. Sound generation and air entrainment by breaking waves in the surf zone. *J Acoust Soc Am.* 1997; 102: 2671–2689.
49. Tonolla D, Lorang MS, Heutschi K, Tockner K. A flume experiment to examine underwater sound generation by flowing water. *Aquat Sci.* 2009; 71: 449–462
50. Mat AM, Massabuau JC, Ciret P, Tran D. Looking for the clock mechanism responsible for circatidal behavior in the oyster *Crassostrea gigas*. *Mar Biol.* 2014; 161: 89–99.
51. Ubertini M, Lagarde F, Mortreux S, Le Gall P, Chiantella C, Fiandrino A, et al. Gametogenesis, spawning behavior and larval abundance of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in the Thau lagoon: Evidence of an environment-dependent strategy. *Aquaculture.* 2017. 473: 51–61.
52. Dubrovsky NA and Frolov VM. Thunderstorm as a source of sounds in the ocean. In: Buckingham MJ, Potter JR, editors. *Sea surface sound '94*. Lake Arrowhead: University of California; 1996. pp. 112–124.
53. Fine ML. Mismatch between sound production and hearing in the Oyster Toadfish. In: Tavolga WN, Popper AN, Fay RR, editors. *Hearing and Sound Communication in Fishes*. New York: Springer; 1981. pp. 257–263.
54. Kasumyan AO. Sounds and sound production in fishes. *J. Ichthyol.* 2008; 48: 981–1030.
55. Henninger HP, Watson WH. Mechanisms underlying the production of carapace vibrations and associated waterborne sounds in the American lobster, *Homarus americanus*. *J Exp Biol.* 2005; 208: 3421–3429. <https://doi.org/10.1242/jeb.01771> PMID: 16109901
56. Patek SN, Caldwell RL. The stomatopod rumble: Low frequency sound production in *Hemisquilla californiensis*. *Mar Freshw Behav Physiol.* 2006; 39: 99–111.
57. Salmon M, Horch K. Acoustic signaling and detection by semi-terrestrial crabs of the family Ocypodidae. In: Winn HE, Olla BL, editors. *Behavior of marine animals*. Boston: Springer; 1972. pp 60–96.
58. Au WW, Banks K. The acoustics of the snapping shrimp *Synalpheus parneomeris* in Kaneohe Bay. *J Acoust Soc Am.* 1998; 103: 41–47.
59. Götz T, Hastie G, Hatch L, Raustein O, Southall BL, Tasker M, Thomsen F. Overview of the impacts of anthropogenic underwater sound in the marine environment. *Biodiversity Series*; 2009. OSPAR Commission.

4.3 Discussion - Conclusions

L'expérience élaborée ici a permis de caractériser le sens de l'audition chez l'huître *Magallana gigas* qui était jusque-là totalement inconnu et ignoré.

Cette caractérisation s'est conclue par la détermination de la gamme de fréquence que perçoivent les huîtres et l'estimation des seuils de sensibilité définis par les puissances les plus faibles qui induisent un mouvement des valves à différentes fréquences. En utilisant une approche comportementale basée sur l'utilisation du mouvement des valves comme indicateur de réponse au stimulus sonore appliqué, l'étude présente a montré que l'huître *M. gigas* est sensible au son dans la gamme de fréquences entre 10 et < 1000 Hz avec une sensibilité maximum pour des fréquences plus basses entre 10 et 200 Hz. Le temps de réaction des animaux a été plus rapide pour des fréquences entre 10 et 80 Hz. Cela montre une possible importance de ces fréquences pour l'huître. En utilisant un modèle mathématique qui est basé sur la régression logistique, on a estimé les seuils de sensibilités, une sorte d'audiogramme, chez un groupe d'huîtres. Le seuil de sensibilité prenait en compte le pourcentage de réaction chez un groupe en fonction de la puissance générée par le son émis. On a pu déterminer que pour avoir un pourcentage de réaction de 30 % chez le groupe il fallait générer une pression de 122 dB_{rms} re $1 \mu\text{Pa}$ et une accélération de $0,02 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$ dans la gamme de fréquence entre 10 et 80 Hz.

Il est important de noter que la réaction de fermeture des valves utilisée comme un indicateur de réponse peut être une expression d'une situation douloureuse et/ou d'une réponse protectrice, ce qui signifie qu'on a sous-estimé la sensibilité au son des huîtres. Autrement dit on doit faire l'hypothèse qu'un son peut être entendu par une huître sans réaction de fermeture des valves et donc qu'elles devraient entendre à des puissances plus basses que celles que nous rapportons.

Le son est une vibration. Sur la base de nos résultats, l'huître entend des vibrations sonores émises à partir de la masse d'eau et il est clair qu'elle possède un sens et une sensibilité acoustique. Bien qu'un organe 'typique' d'audition pour lequel le son est le stimulus le plus effectif n'existe pas chez les bivalves et chez les invertébrés marins en général, l'huître est capable de détecter le son dans son environnement et la question de savoir si cette capacité devrait être appelée audition est un problème de définition.

La gamme de fréquence et la sensibilité de l'huître rapportée dans ce travail sont comparables à celle rapportée chez certains poissons et invertébrés marins (Figure 4.1). La comparaison des gammes de fréquences audibles et des sensibilités entre individus de la même espèce ou entre espèces différentes est fortement dépendante du procédé expérimental suivi (LADICH et FAY, 2013), de l'organe impliqué dans l'audition et de la composante du son que l'animal perçoit. De manière générale, la plupart des poissons détectent des sons à des fréquences entre 100 et 1000 Hz avec une meilleure sensibilité à des fréquences comprises entre 100 et 400 Hz (POPPER et HIGGS, 2009). Certains d'entre

eux comme la morue de l'Atlantique (*Gadus morhua*) et l'anguille d'Europe (*Anguilla Anguilla*) sont capables de détecter des fréquences plus basses (SAND et KARLSEN, 1986 ; SAND et al., 2000). Les poissons devraient globalement être plus sensibles au son que les huîtres et leur sensibilité au son dépend principalement de la présence ou l'absence d'une vessie natatoire (POPPER et HIGGS, 2009).

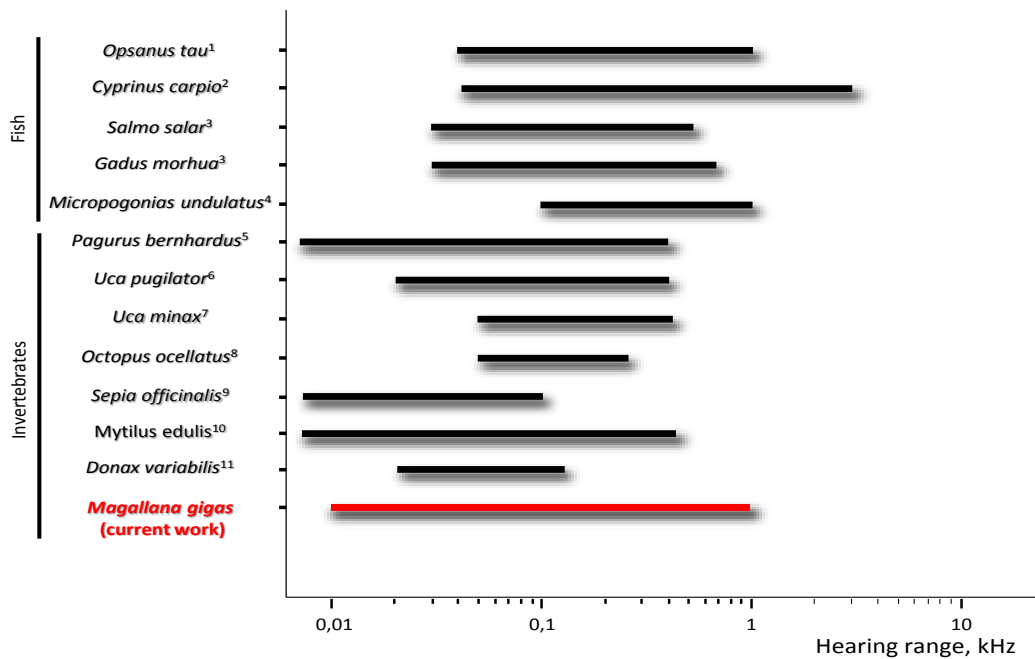


FIGURE 4.1 – Comparaison de la gamme d'audition de l'huître avec celle de quelques poissons et invertébrés marins. (¹(FISH et OFFUTT, 1972) ; ²(KÖHLER, 1973) ; ³(POPPER et HIGGS, 2009) ; ⁴(RAMCHARITAR et POPPER, 2004) ; ⁵(ROBERTS et al., 2016) ; ⁶(SALMON, 1971) ; ⁷(SALMON et HORCH, 1973) ; ⁸(KAIFU et al., 2008) ; ⁹(PACKARD et al., 1990) ; ¹⁰(ROBERTS et al., 2015) ; ¹¹(ELLERS, 1995).

Chez les crustacés comme chez les céphalopodes, à l'instar des huîtres, les études ont rapporté leur capacité à détecter les basses fréquences. Les seuils de sensibilités rapportés sont proches de ceux mesurés chez l'huître (ROBERTS et al., 2016 ; SALMON, 1971). Chez ces espèces et chez les invertébrés marins en général, il est généralement admis que le statocyste est l'organe qui joue un rôle dans la détection des sons. La sensibilité de cet organe au son a bien été démontrée chez les céphalopodes par électrophysiologie. Chez les huîtres cet organe, présent à l'état larvaire (ELLIS et KEMPF, 2011) est aussi présent chez l'adulte. COLE (1938) rapporte sa présence chez *O. edulis* (CARAZZI, 1897) et *O. chilensis* (DAHMEN, 1923). D'autres organes chez l'huître comme l'organe palléal (GALTSOFF, 1964) et le « nouvel organe palléal » de COLE (1938) peuvent aussi jouer un rôle de détection des sons (Section 2.4.3). Des mesures d'électrophysiologie devraient confirmer ces hypothèses.

La caractérisation du sens de l'audition chez l'huître *M. gigas* permet également d'identifier les sources sonores qui composent leur environnement sonore et de prédire les bruits

qui peuvent, à une puissance donnée, provoquer des changements comportementaux chez l'animal. Tel qu'indiqué dans la figure 4.2, différents sons de nature abiotique, biotique ou anthropique sont présents dans leur environnement. Certains de ces sons peuvent apporter des informations importantes à l'huître nécessaire pour l'accomplissement de certaines fonctions vitales. Par exemple, on sait que le courant émet un bruit à basses fréquences qui se situe dans la gamme audible par les huîtres (TONOLLA et al., 2009). Or sur le terrain, l'activité d'ouverture et de fermeture valvaire est largement dominée par une activité tidale (TRAN et al., 2011). Nous avons proposé que le bruit généré par le courant pourrait être un des signaux (zeitgeber) qui rythmerait l'activité circatidal chez l'huître. Effectivement, le rôle du son dans l'entraînement des rythmes biologiques a déjà fait l'objet d'études chez certains animaux vivant dans la zone intertidale. Chez *Clunio marinus* par exemple, le rythme semi-lunaire de reproduction est synchronisé par des facteurs tidaux (NEUMANN, 1978). Ces facteurs incluent le son, les vibrations transmises dans le substrat et les turbulences liés à la marée. La telline *Donax variabilis* présente une activité de migration avec la marée montante et descendante. Il a été montré au laboratoire que cette activité est entraînée par les vibrations sonores émises par les vagues puisque l'auteur a pu reproduire le phénomène avec des haut-parleurs (ELLERS, 1995). D'un autre côté, les capacités auditives de l'huître pourraient jouer un rôle dans le déclenchement et la synchronisation des événements de ponte dans certains cas (UBERTINI et al., 2017).

Ce travail a reçu un fort écho dans la société civile. Il a été repris dans de nombreux journaux anglo-saxons d'abord (New York Times, 25 octobre 2017 ; Newsweek, 25 octobre 2017 ; New Scientist, 25 octobre 2017 ; Scientific American, 25 octobre 2017 ; etc), hispaniques (El Diaro, 02 Novembre 2017, etc) puis dans de nombreux pays à travers le monde, de la Chine aux pays de l'Est, en Inde et en Europe puis en France (Sud Ouest ; France 2 ; Europe 1). De nombreux blogs également ont repris l'information. Ce qui est intéressant est que tous ces gens ont bien compris que nos observations ne touchaient pas que l'huître mais signifiait qu'une partie importante de la biodiversité marine, de façon totalement ignorée jusqu'à présent, pouvait être impactée par la pollution sonore liée à notre activité humaine.

Ce chapitre amène donc à se poser la question de l'impact du bruit d'origine anthropique dans l'environnement. Est-ce qu'il pourrait avoir un effet négatif sur la physiologie de l'huître ? Plusieurs sources de bruit (Figure 4.2) génèrent des sons dans les basses fréquences qui coïncident avec la gamme effective d'audition chez les huîtres. Parmi elles le bruit généré par le trafic maritime est le bruit anthropique le plus omniprésent dans le milieu marin (HILDEBRAND, 2009). Les niveaux d'énergie produits par ces diverses sources de pollution sonores dépassent souvent les 160 dB re 1 μ Pa@1m. Comme nous l'avons montré avec nos estimations faites des seuils de sensibilité chez l'huître, une puissance générée de 160 dB ou une accélération de 10 $m \cdot s^{-2}$ dans notre modèle expérimental induit une réponse comportementale chez plus de 90 % du groupe étudié. Nous avons

donc abordé ce problème directement et les résultats sont présentés dans les chapitres suivants.

Quelques études publiées pendant la réalisation de cette thèse ont fait l'état d'un changement de comportement et l'altération de l'activité chez certains bivalves exposés à une pollution sonore (PENG et al., 2016 ; SOLAN et al., 2016). Par ailleurs, le changement de comportement observé chez les huîtres amène à supposer un effet nocif potentiel pour des niveaux sonores élevés. Nous nous sommes demandés s'il était possible que des fermetures plus longues des valves ou une diminution de l'activité de filtration puissent avoir un effet sur le taux de consommation de nourriture, réduire la consommation d'oxygène et à un certain niveau affecter la croissance.

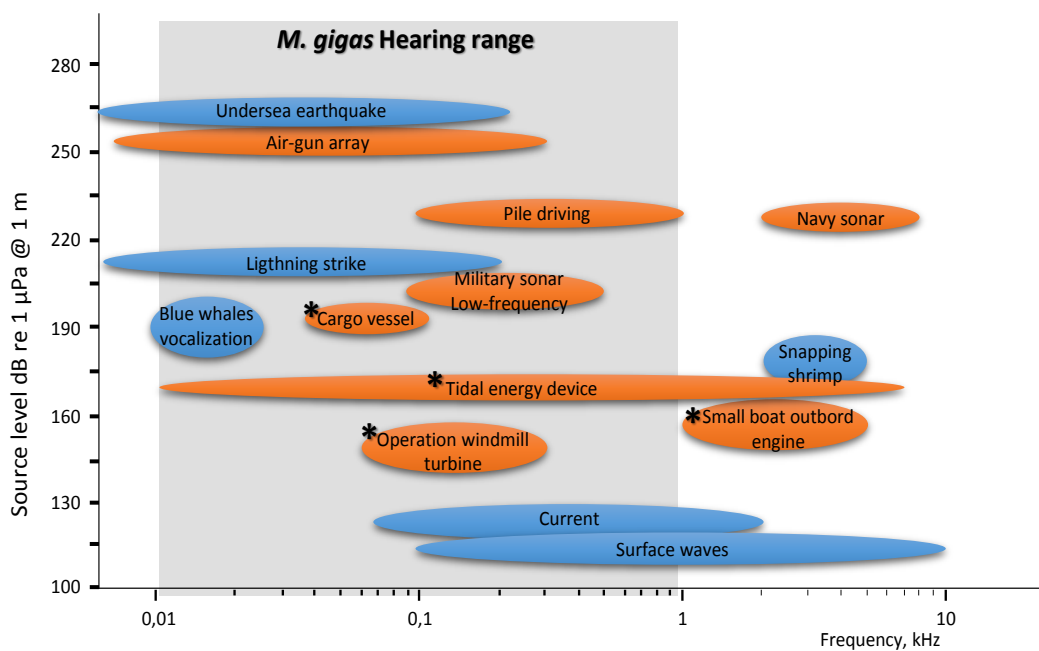


FIGURE 4.2 – Source de nature biotique et anthropique composant l'ambiance sonore de l'environnement acoustique de l'huître *M. gigas* ; * bruit à caractère continu. (COUNCIL, 2003 ; GÖTZ et al., 2009 ; HILDEBRAND, 2009).

Nous avons donc émis l'hypothèse qu'une exposition chronique à une pollution sonore pourrait induire une perturbation de l'activité valvaire chez l'huître, provoquer un changement du volume d'eau filtrée et *in fine* interférer avec divers processus dont la bioaccumulation de contaminants et la nutrition. Pour vérifier ces hypothèses, une expérience a pris lieu au laboratoire sur des huîtres *M. gigas*. L'expérience consistait à exposer les animaux à un bruit chronique dans un milieu contaminé au cadmium et non limité en plancton. Cette étude est présentée dans le chapitre suivant.

ÉTUDE DE L'EFFET DE LA POLLUTION SONORE SUR L'HUÎTRE AU LABORATOIRE

5.1 Introduction

Durant ces dernières années de nombreuses recherches se sont intéressées à l'étude de l'effet de la pollution sonore sur les animaux marins. La majorité de ces études s'est focalisée sur les poissons et les mammifères marins. Il a été révélé par exemple que le bruit peut avoir des effets sur le comportement en perturbant les interactions entre individus et masquant les informations sonores utiles pour accomplir des fonctions vitales. Un bruit excessif peut affecter la croissance, la reproduction et causer des malformations physiologiques à des stades très précoces de la vie (DE SOTO et al., 2013 ; LAGARDÈRE, 1982 ; SLABBEKOORN et al., 2010 ; SOTO, 2016). Chez les mollusques bivalves, une composante importante de la biodiversité marine, le nombre d'études qui porte une attention sur ces problèmes est par contre très faible et limité. Les quelques travaux disponibles ont néanmoins montré des effets sur l'activité locomotrice, des changements de paramètres biochimiques sanguins et des variations dans l'expression de gènes métaboliques (PENG et al., 2016 ; SOLAN et al., 2016 ; VAZZANA et al., 2016).

Dans le chapitre 4, nous avons caractérisé le sens de l'audition chez l'huître *Magallana gigas* et déterminé des seuils de sensibilité dans sa gamme audible. Comme présenté dans la figure 4.2 (Chapitre 4), de nombreuses sources de bruit générées par des activités humaines émettent dans la gamme de fréquences audibles de l'huître *M. gigas*. Les énergies acoustiques produites par ces sources sont extrêmes et la question de l'effet sur la physiologie de l'huître se pose. Par ailleurs, lors de l'expérience précédente un stimulus de 3 min entraînait une fermeture transitoire, partielle ou complète, des valves. Celle-ci dans certains cas persistait tout au long de ces 3 min. Sur la base de ces observations,

nous nous sommes demandé si une pollution sonore chronique pouvait induire un changement des volumes d'eau ventilés et donc de filtration. Dans ce cas une perturbation de l'activité ventilatoire pourrait-elle interférer avec les processus de bioaccumulation d'un contaminant ou avec la prise alimentaire ?

Afin de répondre à ces interrogations, on a exposé des huîtres à du cadmium en présence et en absence de bruit dans un milieu non limité en nourriture. L'expérience passée (CAMPBELL, 2003 ; PIERRON et al., 2007 ; TRAN et al., 2001 ; TRAN et al., 2002 ; TRAN et al., 2003) avait montré que le cadmium à faible concentration dans l'eau peut jouer un rôle de marqueur de l'activité ventilatoire (plus la ventilation est importante, plus sa bioaccumulation est grande) mais n'est pas un stimulant ventilatoire en soi. Le choix du nombre de passages de cargo, a été réalisé d'après les statistiques rapportées sur le site Marinetraffic (marinetraffic.com). Nous avons choisi, 92 passages par jour, est représentatif d'un port moyen.

5.2 Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas*

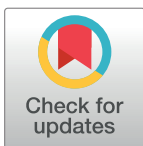
RESEARCH ARTICLE

Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas*

Mohcine Charifi^{1,2,3}, Alison Miserazzi^{1,2}, Mohamedou Sow^{1,2}, Mickael Perrigault^{1,2}, Patrice Gonzalez^{1,2}, Pierre Ciret^{1,2}, Soumaya Benomar³, Jean-Charles Massabuau^{1,2*}

1 University of Bordeaux, EPOC, Arcachon, France, 2 CNRS, EPOC, Talence, France, 3 Unit of Research on Biological Rhythms, Neuroscience and Environment, Faculty of Science, Mohammed V-Agdal University, Rabat, Morocco

* jean-charles.massabuau@u-bordeaux.fr



OPEN ACCESS

Citation: Charifi M, Miserazzi A, Sow M, Perrigault M, Gonzalez P, Ciret P, et al. (2018) Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas*. PLoS ONE 13(4): e0194174. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174>

Editor: José A. Fernández Robledo, Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, UNITED STATES

Received: November 27, 2017

Accepted: February 26, 2018

Published: April 4, 2018

Copyright: © 2018 Charifi et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This study was supported by grants from Campus France, ANR (ANR-15-CE04-0002-02 WAQMOS), NEUROMED, the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the GDRI de Neurosciences, n 198, Embassy of France, Institut Français in Morocco, the MolluSCAN Eye Project, and the Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique

Abstract

Shipping has increased dramatically in recent decades and oysters can hear them. We studied the interaction between noise pollution and trace metal contamination in the oyster *Magallana gigas*. Four oyster-groups were studied during a 14-day exposure period. Two were exposed to cadmium in the presence of cargo ship-noise ($[Cd^{++}]_w \approx 0.5 \mu g \cdot L^{-1}$; maximum sound pressure level 150 dBrms re 1 μPa), and 2 were exposed only to cadmium. The Cd concentration in the gills ($[Cd]_g$) and the digestive gland ($[Cd]_{dg}$), the valve closure duration, number of valve closures and circadian distribution of opening and closure, the daily shell growth-rate and the expression of 19 genes in the gills were studied. Oysters exposed to Cd in the presence of cargo ship-noise accumulated 2.5 times less Cd in their gills than did the controls without ship noise and their growth rate was 2.6 times slower. In the presence of ship noise, oysters were closed more during the daytime, and their daily valve activity was reduced. Changes in gene activity in the gills were observed in 7 genes when the Cd was associated with the ship noise. In the absence of ship noise, a change in expression was measured in 4 genes. We conclude that chronic exposure to cargo ship noise has a depressant effect on the activity in oysters, including on the volume of the water flowing over their gills (V_w). In turn, a decrease in the V_w and valve-opening duration limited metal exposure and uptake by the gills but also limited food uptake. This latter conclusion would explain the slowing observed in the fat metabolism and growth rate. Thus, we propose that cargo ship noise exposure could protect against metal bioaccumulation and affect the growth rate. This latter conclusion points towards a potential risk in terms of ecosystem productivity.

Introduction

Aquatic animals are subjected to numerous sensory inputs, including biological and physical effects of natural and anthropogenic origins. Unlike chemical and visual stimuli, sound is transmitted in water over several kilometers with less attenuation [1]. Sound is biologically

(CNRST) to M.C.. TOTAL R&D provided a grant (no. FRO0008208) to A.M.. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have read the journal's policy and have the following conflicts: A. M. received funding from TOTAL R&D. There are no patents, products in development, or marketed products to declare. This does not alter our adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

essential to marine animals [2–5], but noise pollution is a growing problem because it interferes with the normal sound landscape. Indeed, in recent decades, human activity in the ocean has increased considerably along with economic growth [6], causing an increase in the level of ocean ambient noise [7]. For example, the noise pollution caused by shipping results in an increase in the level of ambient noise at an average rate of approximately ½ dB per year since the 1950s [8,9]. Shipping is now largely recognized as a major source of pollution and has been introduced as one of the 11 descriptors of the Marine Strategy Framework Directive (MSFD) to achieve a Good Environmental Status (GES).

Several studies have reported on the adverse effects of noise pollution in marine animals. Noise pollution can have different effects (see Peng et al. [10] for a review), depending on the intensity and frequency of the transmitted noise and the distance of the animal from the source. However, a great gap in our understanding still exists on the effects of noise on marine animals, especially in fish and invertebrates [11].

The small amount of studies on the impact of noise pollution on invertebrates [12–14], especially on bivalve mollusks, does not in any way reflect the importance of invertebrates to the ecosystem. Mosher [15] was probably the first who published on sound detection in bivalve mollusks. He reported an induced burrowing behavior in the Baltic clam or Baltic tellin *Macoma balthica* when the wall of its experimental tank was stimulated with 2–50 Hz. Then, Ellers [16] studied the swash-riding clam and demonstrated its ability to detect vibrations produced by the waves on sandy beaches. More recently, while studying the blue mussel *Mytilus edulis*, Roberts et al. [17] examined the impact of substrate-borne vibrations and demonstrated the sensitivity of the mussel to a range of low frequencies. Solan et al. [18] reported that a noise mimicking offshore shipping and construction activity may alter the mediating contributions made by sediment-dwelling invertebrates in the process of nutrient cycling. They reported that additional noise causes behavioral disturbances and a reduction in surface relocation activity. In another study on the razor clam, Peng et al. [19] detected variation in the burrowing behavior and the expression of metabolic genes in response to a change in the noise intensity from 80 to ≈100 dB re 1 μPa. Such a change causes the clam to escape deep into the mud and enter a state of inactivity. Finally, Charifi et al. [20] described the capacity to hear in the Pacific oyster *Magallana gigas* (formerly *Crassostrea gigas*) and discussed the role this response could play in the lives of these oysters today. Based on the above dataset showing how anthropogenic noise can shape bivalve behavior, we hypothesized that this noise could also induce changes in the volume of the water flow during ventilation and thus interfere with the contaminant bioaccumulation process and/or other physiological mechanisms. The aim of the present report was to test this hypothesis in the widely distributed Pacific oyster *M. gigas*.

Magallana gigas (Thunberg, 1793) is a common oyster species that has been introduced extensively around the world for aquacultural purposes. It is a filter-feeding animal of major economic interest and often is used as a bioindicator of the state of the marine environment [21]. The present study investigated the effect of noise pollution and its interference with metal pollution. Behavioral, ecophysiological, and genic analyses were conducted because, when considered in combination, they may provide larger insights into the perturbation of the organism.

Animals were exposed to cadmium to obtain insights, on the one hand, of the cellular impact of the metal in the presence and absence of cargo ship noise and, on the other hand, as an indirect marker of ventilatory activity. Indeed, when a constant concentration of trace metal is maintained in the water, variation in ventilatory activity is a limiting step that acts on metal bioaccumulation in fish, mollusks, and crustaceans [22–28]. A high ventilatory flow in the gills strongly enhances the accumulation of Cd in the soft tissues and vice versa. In shrimps, changes in the ventilatory activity modulates the Cd bioaccumulation, but [Cd]_w

alone does not influence ventilatory and cardiac frequency [28]. Noise from cargo ship was chosen because it is one of the largest contributors to ocean noise pollution. The two other most significant sources are oil and gas exploration and military sonar. The cargo ship contribution is greatest in coastal areas which are hotspots of biodiversity.

Materials and methods

Animals and experimental design

Experiments were performed at Arcachon Marine Station, on the French Atlantic coast, from October to November 2016. A total of 120 18-month-old diploid Pacific oysters *M. gigas* (70–75 mm) were purchased from a local oyster farmer in Arcachon Bay and maintained in large tanks (200 L) filled with running unfiltered seawater pumped directly from the bay. Arcachon Bay experiences low-density marine traffic composed of recreational and small fishing ships (most of them < 10 m).

The experiment was conducted in an isolated room to limit external influences on the oyster behavior. Care was taken to reduce human activity and noise disturbance. Four identical polyvinylchloride tanks (78 x 39 x 19 cm) were used, with animals being acclimated to the experimental conditions for a week. The tanks were supplied with unfiltered sea water with a controlled renewal rate of 130 mL/min using a flowmeter (Cole-Parmer, USA). Water flow was piped underwater, thereby minimizing the noisy disruption of water-surface and background noise. Before and during the test exposures, oysters received 0.4 g of dehydrated algae (ReefMist Planktonic, Aquarium System) for feed once a day before the lights were extinguished to optimize food uptake by the oysters. Animals were subjected to a light cycle of L:D 13:11 in the absence of a tidal cycle, and the water was air-equilibrated by slow bubbling air stones set in airlifts to homogenize the water volume and limit unnecessary noise. Physical parameters were monitored during all experiments and maintained at 14–15°C; pH, 7.8–8.0; and salinity, 32–34/1000. Among the four tanks, two (replicates) were dedicated to the cadmium and cargo ship noise test; two (replicates), to the cadmium only test. Eight animals per tank were equipped with electrodes for behavioral measurements (8 x 2 replicates = 16 oysters per condition; see below).

Due to its acoustical mismatch, the air-water interface causes the reflection of a large part of the acoustical energy [29]. Therefore, the main conduct of unwanted sound transmission into the tanks was through the base. To limit ground vibrations, tanks were installed on an anti-vibration bench. The system is composed of 12 layers of different materials (Fig 1A and 1B) composed of a plastic box, sand, chipboard, inner tubes, concrete, tennis balls, polystyrene boards, and PVC) to absorb extraneous vibrations and to prevent parasite disturbance of the oysters' ventilatory activities [30]. Two suspended loudspeakers were installed face down in the two replicate tanks dedicated to the Cd and noise exposure. They were positioned at the center and 12 cm from the bottom (Fig 1A).

Exposure protocol. T_0 was taken as the first day of exposure to cadmium, and T_0 - T_{14} was the exposure period to cadmium with or without the cargo ship noise. After an acclimation period of 6 days to the experimental tanks (from T_{-11} to T_{-5}), oysters placed in the two tanks equipped with loudspeakers were exposed to cargo ship noise (from T_{-5} to T_{14} ; Fig 1D) while the two reference tanks (no noise) remained in a reference condition (T_{-5} to T_0). During the test, the loudspeakers were switched off every day from 09 h 00 to 11 h 00 during animal sampling (Fig 1C).

From T_0 to T_{14} , metal contamination was initiated in all four tanks with the addition of CdCl_2 from a stock solution (Titrisol®, Merck). The average concentrations in tanks 1 and 2 with cargo ship noise were respectively $13.91 \pm 0.72 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $13.78 \pm 0.71 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. It was

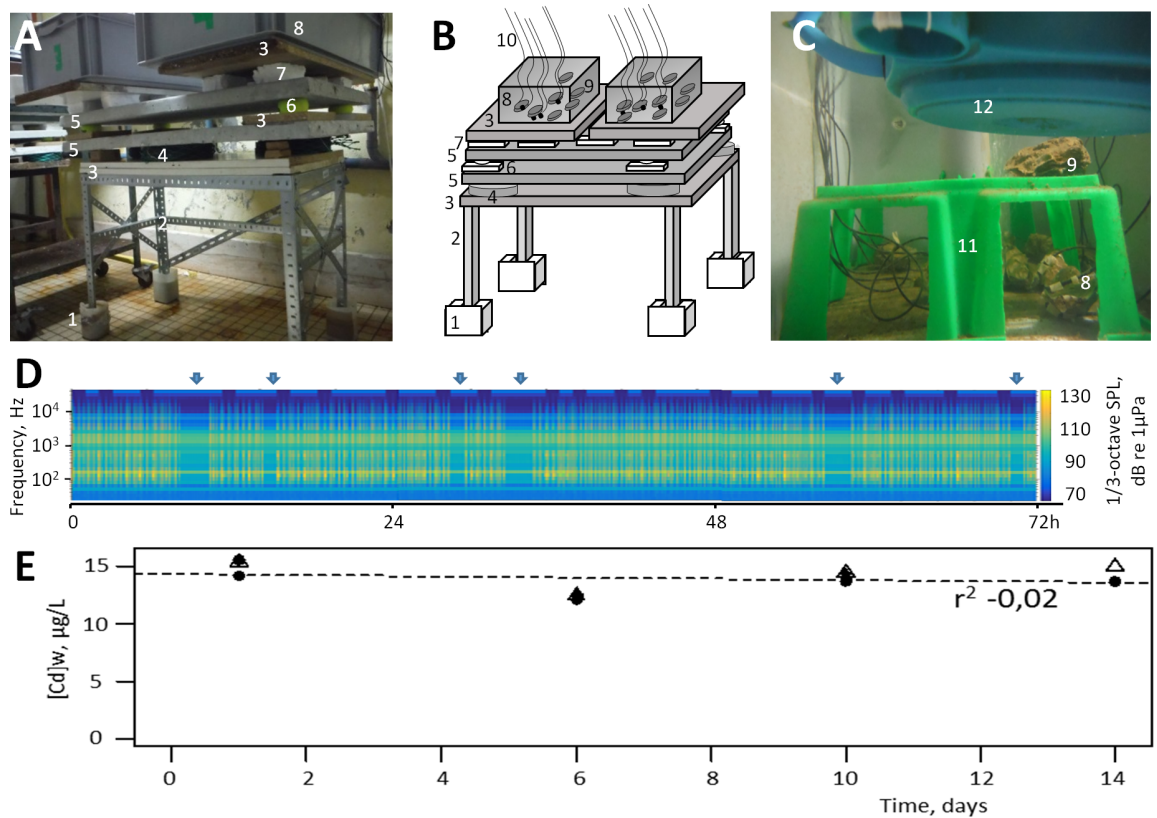


Fig 1. Experimental setup and exposure characteristics. A, antivibration bench with 2 replicate tanks on it; B, complete scheme of a unit; C, inside view of an experimental tank. 1, sand; 2, frame angle structure; 3, chipboard panel; 4, air chambers; 5, concrete slab; 6, tennis ball; 7, pieces of thermal insulation; 8, oysters equipped for behavioral recordings; 9, oysters for tissue sampling; 10, electrode cables; 11, hemstitched support; 12, loudspeaker. D, 72 h of sound recording. Each vertical bar is the noise from one passing cargo ship. Black bands represent periodic absence of cargo ship noise. E: the change of cadmium concentration in the 4 tanks as a function of time. There were 2 antivibration benches and 2 replicate tanks per bench.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174.g001>

respectively $14.32 \pm 0.64 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $13.59 \pm 0.39 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for tanks 3 and 4 without cargo ship noise (means ± 1 SE; Fig 1E). The expected maximum free Cd concentration was $< 3\text{--}4\%$ of the total Cd, only taking into account the inorganic complex (MINEQL+, V5) that is $\leq 0.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Five oysters without HFNI electrodes were randomly sampled at T_0 , T_3 , and T_7 , and seven were sampled at T_{14} in each tank to give $n = 10$ or 14 per experimental condition and exposure period. The gills and digestive gland were immediately sampled and divided into two parts: one for measuring the concentration of Cd in the tissues and one for cDNA synthesis and quantitative PCR. The samples were stored at -20°C for metal determination and fixed as explained below for genic analysis.

Sound production and recordings

Playback tracks were created from original recordings made at Santander Harbor (Spain). During these recordings, the hydrophone was positioned at a depth of 2 m, with cargo ships passing at a distance of approximately 500 m. Due to port regulations, the ships were estimated to be sailing at a speed ≤ 9 knots. Weather conditions were calm (wind force 3 on the Beaufort scale). A noise generated by one passing ship was randomly picked. The selected noise of

12-min duration was modified using a sound program interface (Cool Edit, version 2.0, Syntrillium Software Corporation, USA) to obtain two records with two different amplitudes and with frequencies from 20–20,000 Hz: one passing ship had a maximum amplitude of 150 dBrms re 1 μ Pa, and the other had a maximum amplitude of 138 dBrms re 1 μ Pa. The noise record is provided as supporting information (S1 File).

Three different playbacks of 1-hour duration each were created. The tracks contained, respectively, three, four, and five passing ships alternating large and small amplitudes with silent periods in between for a total of 92 noise exposure periods per day (Fig 1D). This is a value representative of active ports (<https://www.marinetraffic.com/>). The three playbacks were randomly dispersed over a period of 3 days, and the final track was looped for the experimental exposure. Sound was played back as a wave file through a loudspeaker (model: US-0130, Rondson Public Address, France) using an amplifier (AM60A, Rondson, France) and Cool Edit as an audio interface.

Acoustic conditions were recorded using a broadband hydrophone with an internal buffer amplifier (model: H2a-XLR, sensitivity -180 dB re 1 V/ μ Pa, useful range: 10 Hz to 100 kHz, Aquarian product) and an Edirol recorder (H4n Handy, Zoom Corporation, Japan) that was level-calibrated using a pure sine wave signal with a measured voltage recorded in line on an oscilloscope. Recordings were made (6 cm) above the tank floor and 12 cm from the loudspeaker.

As reported by Rogers et al. [31], measuring particle velocity in small tanks is a challenge. In this experiment, we measured acceleration directly on *in situ* oysters by attaching a Dytran accelerometer (3217A-10) to the shell of a test specimen [20]. Its certified sensitivity varied from 100.38 mV/g at 20 Hz to 96.96 mV/g at 1000 Hz, and we used it with a Dytran amplifier (M28 IEPE, gain x 1) and a 100x laboratory-made amplifier. The accelerations were measured at different positions in the tanks (Fig 1C) and ranged from 0.32–0.43 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ at 150 dBrms re 1 μ Pa and from 0.06–0.08 $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$ at 138 dBrms re 1 μ Pa.

Oyster behavior recording

As explained by Andrade et al. [21], the recording apparatus consisted of lightweight electromagnets (56 mg) glued to each valve and connected by flexible wires to a laboratory-made valvometer. The device measures current which varies according to the distance between the electrodes. For this experiment, the sampling frequency was 3.3 Hz, and according to that frequency, the opening status of each oyster was measured every 4.8 sec.

Data were transmitted via an acquisition card (Ni-USB-6009, National instrument, Austin, TX, USA) and recorded by a computer using a laboratory-made script in Labview (National instrument). Data were also processed automatically using routines and published online on the professional pages of the MolluSCAN eye website <https://molluscan-eye.epoc.u-bordeaux.fr/index.php?rubrique=accueil&lang=en&site=EYRAC>.

In bivalves, a change in the valve behavior could indicate a disturbance in the surrounding environment. The main interest of such a device was to collect online different parameters without interfering with the normal behavior of the bivalves: valve closure duration, valve partial closure and growth rate. The valve closure duration is based on the measurement of the time spent by the oyster closed, which can be calculated hourly or for the entire day. Measurements are based on the use of several thresholds. Thresholds are calculated while considering the minimum and maximum opening amplitude for each oyster over 24 hours. Different thresholds could be chosen (5%, 30%, 55%, and 80%) depending on the studied parameter. An actogram was used to represent the temporal distribution of the valve opening duration activity for the oyster group. Each line in the actogram represents the group's activity in 24 hours.

A daily mean activity was calculated for the group. For each time slot, the mean hourly activity of the group was compared with the calculated daily mean activity. When the activity was below the average, it is represented with a white bar code, whereas values above the average are represented with a black bar code. The actogram can be calculated at different thresholds. In this study, the 5% threshold was chosen because it allows differentiating between opened and closed.

The valve closure duration is the percentage of the ratio between the maximum and minimum opening amplitude of the oyster for the whole day. The hourly valve closure duration could also be expressed as a percentage at different thresholds. A duration of 100% corresponds to an oyster being continuously opened for 1 hour, and 0% corresponds to an oyster being closed for the entire hour. Intermediate values are possible.

Valve partial closure is calculated from the sum of the detected partial closures for a given time for each animal at different thresholds. In the present experiment, the 80% thresholds were used for partial-closure calculation, as this was appropriate.

Growth rate can be estimated using valvometry. As calcification in bivalves occurs in the mantle cavity, when daily growth layers are deposited, the minimum distance between the electrodes glued to the shells increases, thereby providing a good index of growth. By plotting these values of minimal daily valve opening as a function of time, one obtains growth curves [32]. For each condition, no significant difference was observed between the duplicates, and the data were pooled together.

Cadmium contamination and determination

Cadmium concentration in the water was maintained and monitored during all experiments. Cadmium was pumped at a rate of 0.24 mL/min and injected in the inflow pipe using a peristaltic pump (Gilson, France). Water aliquots, filtered at 0.45 μm , were collected daily in the experimental tanks to monitor water contamination. After acidification and dilution of the aliquots, the cadmium contamination was measured with ICP (Inductive Coupled Plasma. Model: 700 series ICP-OES, Agilent Technologies). Oyster samples (gills and digestive gland) were dried for 48 h at 45°C and then digested with nitric acid (Nitric Acid 65%, Carlo Erba Reagents, France) in a Teflon tube at 100°C for 3 h. The resulting solutions were diluted with ultrapure water (Purite Select Purification System), and cadmium concentrations were determined by atomic absorption spectrometry with Zeeman correction (Model: 240Z AA, Agilent Technologies). To avoid interference, samples were mixed before atomization with a 1-mL mixture of 50% Pd + 50% Mg (NO₃)₂. The method was simultaneously checked for each sample series against certified biological reference materials (Dolt-5, National Research Council Canada). Values were consistently within certified ranges. Metal concentrations were expressed as ($\mu\text{g/g}$) dry weight tissue. No significant difference was observed between the oysters in replicate tanks under the same experimental conditions. Thus, data were pooled together.

cDNA synthesis and quantitative PCR

Gill samples of oysters were individually processed for RNA extraction using TRI Reagent® (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. Total RNA quality and quantity were estimated by spectrophotometer (Epoch, Biotek®), and reverse transcription was realized with 4 μg total RNA, oligo dT17, and Moloney Murine Leukemia Virus (M-MLV) reverse transcriptase (Promega, Madison, WI, USA).

Nineteen genes were chosen to encode the proteins involved in the various metabolic pathways. For each candidate, specific primers were designed from the sequence of *M. gigas*

available in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database or selected from the literature (Table 1). The PCR efficiency of each primer pair was realized by determining the slope of the standard curve obtained from the serial dilution analysis of cDNA. Real-Time quantitative Polymerase Chain Reactions (RT-qPCR) were performed in an Mx3000P (Stratagene®) with GoTaq qPCR Master Mix (Promega®, Madison, WI, USA) and a concentration of 100 nM for each primer according to the manufacturer's instructions. The amplification program starts with 3 min at 95°C to activate the DNA polymerase, followed by 50 cycles of 10 sec at 95°C and 30 sec at 60°C. Reaction specificities were confirmed by a melting curve (from 65°C to 95°C). Five potential housekeeping gene (*12s*, *ef1α*, *rpl7*, *gapdh*, *actb*) was tested using BestKeeper, geNorm and Normfinder and *12s* gene was sectioned. The expression of transcripts levels in each oyster was quantified by the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method described by Livak and Schmittgen [33].

Statistics

Comparisons between variables were investigated using analysis of variance (ANOVA) after checking for assumptions of normality and homoscedasticity of error term. For significant differences, the Tukey's Honest Significant Difference (Tukey's HSD) was used for all pairwise comparisons. When assumptions were not met, the Kruskal-Wallis test was applied, and the Dunn test was considered for all pairwise comparisons. Differences between distributions were assessed using a two-sample Kilmogorov-Smirnov test, and differences between variances were assessed using a Levene test. For all statistical results, a probability of $p < 0.05$ was considered significant. Data were computed and analyzed using R software [40]. All data are provided as supporting information (S1 Database).

Results

Cadmium accumulation

Cadmium concentrations in the gills ([Cd]g) and the digestive glands ([Cd]dg) of the oysters exposed to Cd with or without cargo ship noise are reported in Fig 2. After 14 days of Cd exposure, the gills of oysters exposed to cargo ship noise accumulated 2.5 times less than the oysters without ship noise ([Cd]g = $132.6 \pm 14.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry w in noise-exposed oysters versus $323.2 \pm 61.4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ dry w in non-exposed oysters; $p = 0.009$). From T_3 to T_{14} , the [Cd]g increased by 480% in the absence of ship noise and only 48% in the presence of cargo ship noise. By contrast, in the digestive gland, which accumulated 4–8 times less Cd than the gills, no significant difference was observed between the noise conditions regardless of the exposure duration ($p = 0.137$ at T_{14}).

The distributions of cadmium accumulation in the two oyster groups all along the exposure period are presented in Fig 2A1 and 2B1. Fig 2A1 shows that the difference between the oysters exposed and not exposed to cargo noise was mainly explained by the absence of the most contaminated gill samples in the cargo-noise-exposed condition. After 14 days, the distributions in the two conditions became significantly different ($p = 0.0049$), but at T_3 and T_7 , the higher contaminations levels were already associated with the absence of cargo ship noise. In the digestive glands, the cadmium level distribution in the absence of ship noise was not different regardless of the length of exposure ($p = 0.994$ at T_3 , 0.4175 at T_7 , and 0.635 at T_{14} ; Fig 2B1). To gain more insight into the mechanism leading to this difference in bioaccumulation, we then turned to a comparative analysis of the oyster behavior in the presence and absence of cargo ship noise.

Table 1. Primers used for the RT-qPCR assay.

Genes	Functions	Primer sequences	Accession numbers	References
<i>clec1</i>	C-type lectin-1	F- GTGAGACCCGGAAGCTGGATTAG R- CGTTGAAGACCTGGAGCAT	AB308130.1	This study
<i>drd2</i>	Dopamine receptor D2	F- GTGAGCGTGATTCTCTGGTAG R- CGAGCGACCTTAGTCAGTTF	JH817851.1	This study
<i>dld</i>	Dihydropolyl dehydrogenase	F- GGAGCTTCCTGTGAAGACATAG R- CTGCATAGGCTGCCAAGTTA	XM_020071857.1	This study
<i>cs</i>	Citrate synthase	F- ACAGTCTCTGTTCCGGAGTTTC R- ACGACTTGGGACGTTCAAT	JH816386.1	This study
<i>mdh</i>	Malate dehydrogenase	F- GCTGGAAGTGGAGTTGTAGAG R- GCACCAATCAAGGCATCAAG	XM_011435972.2	This study
<i>idh2</i>	Isocitrate dehydrogenase [NADP] mitochondrial	F- CCGACGAAAGACTGTGCG R- CTGGCTACCGGGTTGTG	AY551096.1	[34]
<i>idh3a</i>	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit α	F- GTCATGATGCTCCGCTACAT R- CAGTTAGCACCCCTTCCTTCTC	JH816185.1	This study
<i>tnt</i>	Titin	F- TTTGGTACTGCGGAGTTCTG R- CTCCGGCAAATGGTGTAGTAT	JH817834.1	This study
<i>twt</i>	Twitchin	F- CCGAAACTCCTCCAACCTCAA R- TCCTCAGCAGCTATCCTATCA	XM_020069067.1	This study
<i>cox1</i>	Cytochrome c oxidase subunit I	F- GTGCCAACTGGTATTAGGTGT R- ACACCGCACCCATTGAT	AB033687	[35]
<i>sod2</i>	Manganese superoxide dismutase	F- ACAAGTCAATCAGTGCCCT R- CCATTGCTCTGCCAGT	EU420128	[35]
<i>sod1</i>	Copper/Zinc superoxide dismutase	F- CCAGAGGATCACGAGAGGC R- GCGTTTCCGGTCGTCTT	AJ496219	[36]
<i>cat</i>	Catalase	F- GTCGTGCCCTTTACAAACC R- CGCCCGTCCGAAGTTT	EF687775.1	[35]
<i>gpx</i>	Selenium-dependent glutathione peroxidase	F- ATCGAAGCTGCACCA R- AGCTCCGTTCGATTGT	EF692639	[35]
<i>mt2</i>	Metallothionein isoform 2	F- TCCGGATGTGGCTGCAAAGTCAAG R- GGTCTTTGTACACGCACTCATT	AJ297818	[37]
<i>acac</i>	Acetyl-coA carboxylase	F- GGGCACCGTTAATGCCTAC R- TGACTCGGGGTCATGTGTT	XM_020073360	[38]
<i>tgl</i>	Triacylglycerol lipase	F- ACACCCACCGTGCTTT R- GTTGTCTTGAGATCCTTGATTATCAG	EE677866	[38]
<i>p53</i>	p53 gene	F- CCCTCAAAGCAGTCCCA R- TGTAGCGATCCACCTGATT	AM236465.2	[35]
<i>bax</i>	BCL2 associated X	F- CCCTCAGGTGTGACCCG R- TGCAACGTAAGCTCTGCC	XM_011426179	[38]
<i>12s</i>	12S ribosomal RNA	F- CTCAGTCTTGGGGAGG R- GGTATGCGGAACCGCC	EF484875	[35]
<i>ef1α</i>	Elongation factor 1 α	F- AGAATGGATATGCGCCTGT R- GCCACGGTCTGCCTCA	AB122066.1	[38]
<i>rpl7</i>	Ribosomal protein L7	F- ACACCTCGGACGCTTT R- GCTGTCTTCACGCAGGC	AJ557884.1	[38]
<i>gadh</i>	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	F- CGTACCAGTTCAGATGTTTCC R- GCCTTGATGGCTGCCAATA	CAD67717	[39]
<i>actb</i>	β -actin	F- AGTACCCCATTAACACCGG R- TGGCGGGAGCGTTGAA	AF026063	[35]

F and R designate forward and reverse primers respectively.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174.t001>

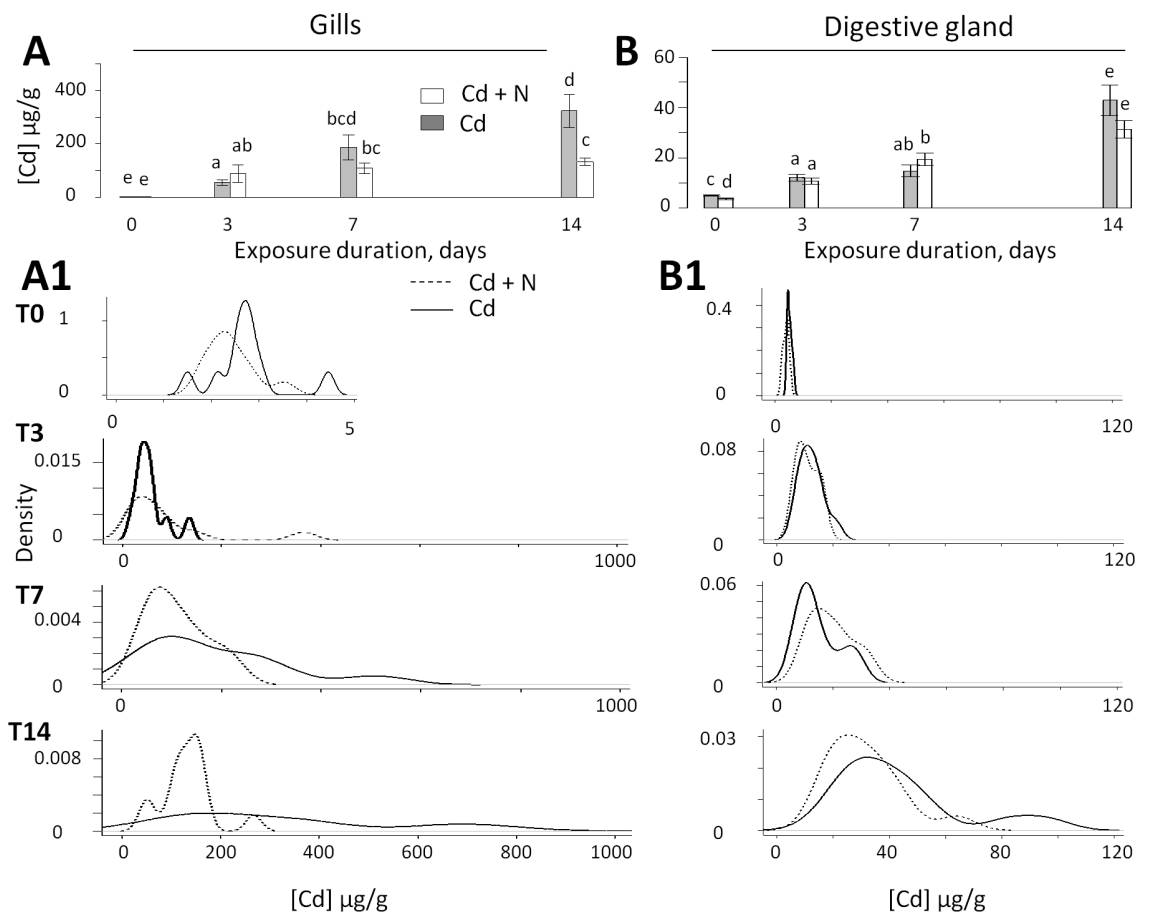


Fig 2. The change of cadmium concentration in the gills (A, A1) and digestive glands (B, B1) in oysters *M. gigas*. A: mean values \pm 1 SE as a function of time in the gills; B, in the digestive glands. A1 and B1, Distribution of probability densities at day 0 (T0), day 3 (T3), day 7 (T7) and day 14 (T14). In the presence of cargo ship noise, the distributions were skewed to the lower values at T3, T7, and T14 in the gills and T14 in the digestive glands.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174.g002>

Animal behavior

During the first hours of noise exposures at T_{0.6} and T_{0.5}, a transient valve closure, as reported in Charifi et al. [20], was observable in 100% of the animals. The response was present in 60% of the individuals after 2 days and vanished after 4 days. Fig 3A presents the distribution of the mean daily valve closure durations for oysters under the two conditions for the entire 14-day exposure period to Cd. In the presence of cargo ship noise, a shift occurred toward higher values in the most frequently observed mean hourly valve closure durations. No significant difference was observed between the mean values ($p = 0.09764$) due to a single outlier ($p = 0.0001$) in the group exposed to ship noise. In the absence of this outlier, the difference became significant ($p = 0.02982$), which illustrates the small difference between conditions. We then compared the diurnal and nocturnal periods (Fig 3B1 and 3B2). During the diurnal period (7–18 h, active period), an increase was observed in the valve closure duration in the oysters exposed to ship noise (Fig 3B1; $p = 0.029$) but not during the nocturnal period from 18–7 h (Fig 3B2; $p = 0.857$). This result is also illustrated in Fig 3C, which presents the hourly circadian activity under both conditions: compare the two shaded areas comprised between T₀ and T₁₄ during the diurnal period. Finally, the depressant action of noise was also characterized by a drastic

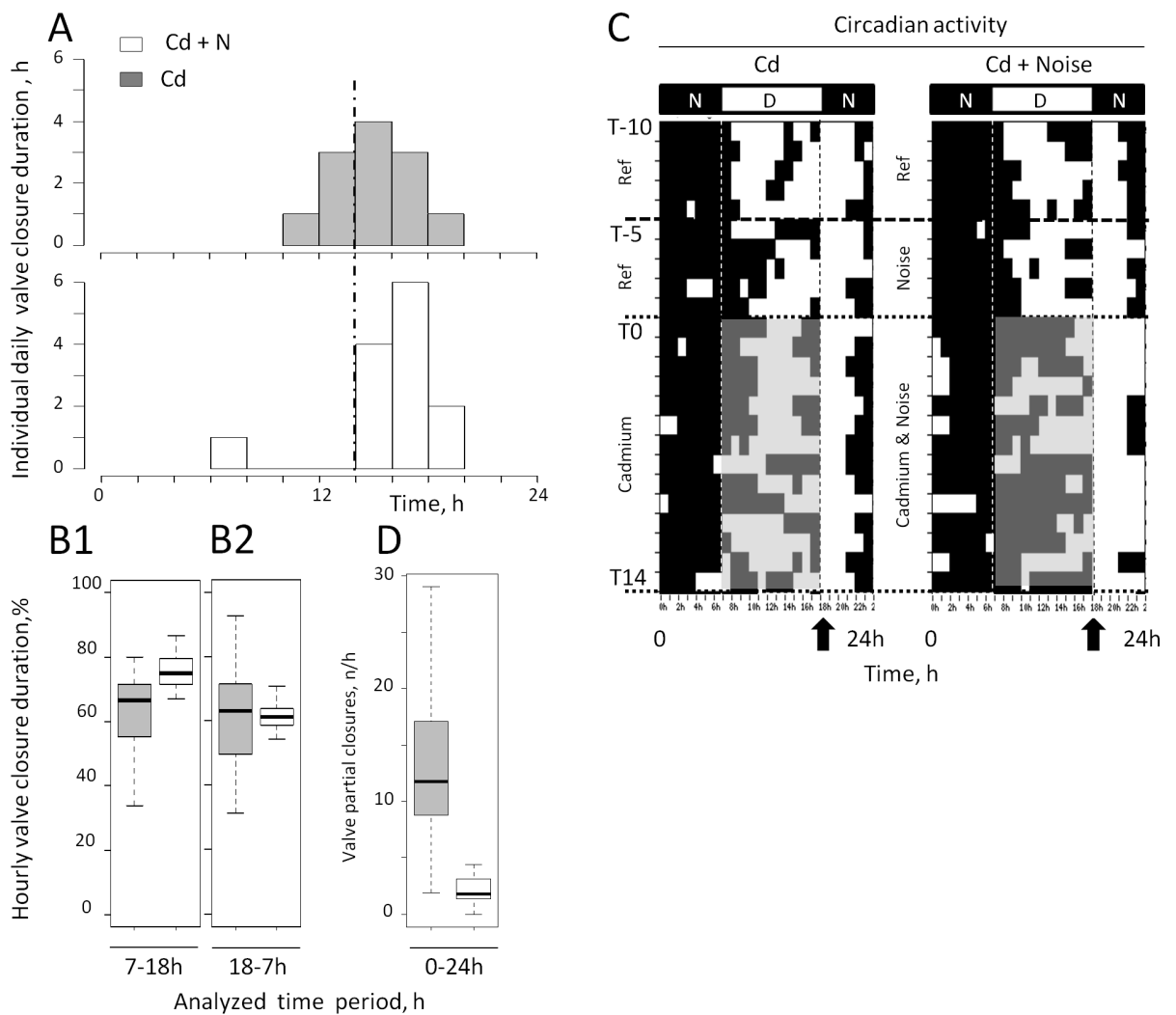


Fig 3. Behavioral changes in the presence of cargo ship noise in oysters *M. gigas* exposed to Cd. A, Distribution of individual valve closure durations. B1, Description by quartiles of the hourly valve closure durations during the light (7-18h) and B2, dark (18-7h) periods in oysters exposed to Cd plus cargo ship noise (white) or Cd alone (gray). D, number of partial valve closures per hour. A, B1, B2, and D were calculated for the whole 14-day-exposure period; bold lines, medians. With one exception at the bottom of Fig 1A, the variability was systematically lower in the presence of cargo ship noise. C, Valve opening—closing actograms, each line represents 1 day. The white and black sections of each line represent hourly behavioral values above and below the mean behavior of the day, respectively. In the presence of cargo ship noise, the oysters are closed more during the day (light) period, gray area. The black arrows show the daily timing of the food supply, just prior the opening behavior associated with the automatic light shut-off. N = 13 oysters exposed to Cd and cargo ship noise and 12 oysters exposed to Cd alone.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174.g003>

decrease in the valve activity measured, as shown by a decrease in the number of valve movements crossing the 80% line of maximum opening value under the Cd plus ship noise condition (Fig 3D). In the absence of ship noise, the average number of valve partial-closures per hour was approximately six times higher, and the variability was more important than in the oysters exposed to the Cd plus ship noise (min = $0.00 \cdot h^{-1}$; median = $1.80 \cdot h^{-1}$; max = $4.47 \cdot h^{-1}$ under cargo-ship noise and min = $1.94 \cdot h^{-1}$; median = $11.78 \cdot h^{-1}$; max = $29.00 \cdot h^{-1}$ without cargo-ship noise, $p = 0.0003$).

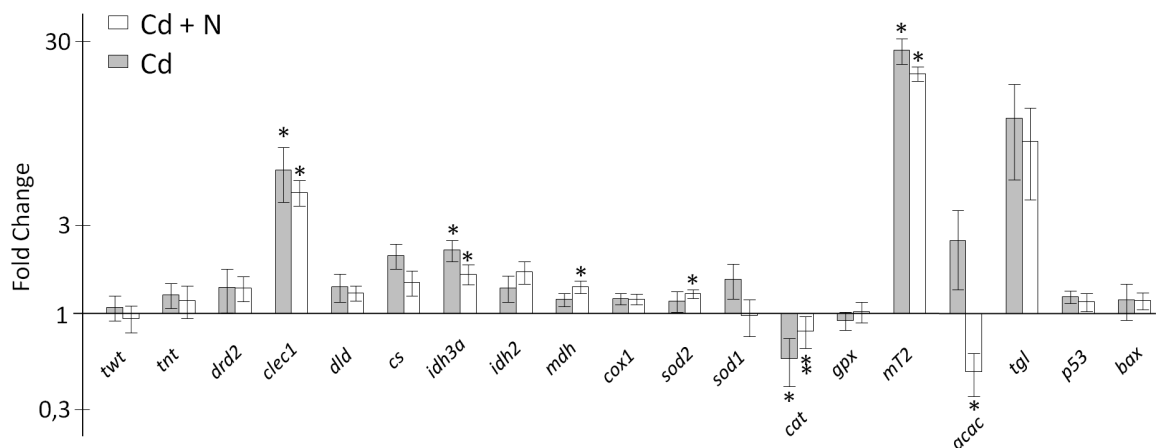


Fig 4. Transcriptional variations of selected genes in the gills of oysters *M. gigas* exposed to Cd plus cargo ship noise or Cd alone for 14 days. * and ** denote significant differences between the condition and the control and between experimental conditions, respectively.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174.g004>

We then studied some consequences of the phenomenon at the genic level in the gills, as the gills exhibited a significant change in contamination, before switching to an analysis at a more global and integrative level for the comparison of growth rates.

Gene expression in the gills

In the absence of cargo ship noise and after 14 days of exposure to Cd alone, 4 of the 19 genes were over- or under-expressed compared to the reference at T_0 (*clec1*, *idh3a*, *mt2* and *cat*; Fig 4). In the presence of cargo ship noise and Cd, the expression of 7 of the 19 genes was modified (*clec1*, *idh3a*, *mdh*, *sod2*, *cat*, *mt2*, *acac*). Only one gene was differentially expressed between both conditions: *cat* ($p = 0.045$). As expected, the *mt2* gene, which is a hallmark of cadmium contamination, exhibited large induction factors of 20x (with ship noise) and 27x (without ship noise). The *clec1* gene was also largely overexpressed (4.6-6x). In addition to differences between mean or median values, the variability in the gene responses was also studied to learn if the presence of cargo ship noise influenced it in a manner consistent with that observed at bioaccumulation and behavioral levels (Fig 2A1; Fig 3B1 and 3B2 and 3D). For each gene, we researched if the expression increased when [Cd]g was larger. Based on the Pearson correlation, the results in Table 2 show that it is only in the absence of ship noise for *dld*, *cs*, *idh3a*, *sod1*, *gpx* and *bax* that significant correlations are observed. The distributions of expression with and without cargo ship noise were either unchanged or skewed to the lowest values in the presence of the cargo ship noise. Levene's test demonstrated that the homogeneity of variance was different between the ship noise conditions for *mt2* ($p = 0.0322$), *acac* ($p = 0.0036$), and *clec1* ($p = 0.0221$). The distributions of expression were smaller under the condition cadmium plus cargo ship noise (Fig 5).

Growth rate

HFNI valvometry allows information to be recorded on the daily growth rates under various experimental and environmental conditions without the animals being handled. We therefore compared the oysters shell growth rates in the presence and absence of cargo ship noise. Fig 6A and 6B shows that the growth rate was lower in oysters exposed to frequent ship noise compared with the control group without ship noise ($p = 0.00001$). At T_{14} , the mean size gain at the HFNI electrode level (growth index) reached only $37.9 \pm 4.2 \mu\text{m}$ in the presence of cargo

Table 2. Pearson correlation of [Cd]g and gene expression in Cd and Cd+N conditions.

Cd	<i>twt</i>	<i>tnt</i>	<i>drd2</i>	<i>clec1</i>	<i>dld</i>	<i>cs</i>	<i>idh3a</i>	<i>idh2</i>	<i>mdh</i>	<i>cox1</i>
	0.02	-0.21	-0.34	-0.36	0.82	0.58	0.74	0.44	0.29	0.39
NS	NS	NS	NS	***	*	**	NS	NS	NS	
Cd+N	<i>sod2</i>	<i>sod1</i>	<i>cat</i>	<i>gpx</i>	<i>mt2</i>	<i>acac</i>	<i>tgl</i>	<i>p53</i>	<i>bax</i>	
	0.45	0.6	0.47	0.62	0.14	0.31	0.42	-0.07	0.71	
NS	*	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	**	
Cd+N	<i>twt</i>	<i>tnt</i>	<i>drd2</i>	<i>clec1</i>	<i>dld</i>	<i>cs</i>	<i>idh3a</i>	<i>idh2</i>	<i>mdh</i>	<i>cox1</i>
	-0.18	0.07	0.42	0.2	0.4	-0.08	0.12	0.22	-0.04	0.09
NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Cd+N	<i>sod2</i>	<i>sod1</i>	<i>cat</i>	<i>gpx</i>	<i>mt2</i>	<i>acac</i>	<i>tgl</i>	<i>p53</i>	<i>bax</i>	
	0.29	-0.33	0.16	-0.1	0.35	0.26	-0.47	0.2	0.08	
NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	

NS, Not statistically significant

(*), p<0.05

(**), p<0.01

(***), p<0.001.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174.t002>

ship noise when it was $99.6 \pm 8.8 \mu\text{m}$ in the absence of ship noise ($p = 0.000004$; Fig 6B). Moreover, starting at T₆ a growth arrest was observed in the presence of cargo ship noise, as the growth indexes did not vary from T₆ to T₁₀ ($p = 0.542$; Fig 6A). No similar trend was observed in the non-noise group.

Discussion

The influence of chronic exposure to cargo ship noise (92 ship passages/day) on metal contamination was studied in oysters during a 14-day exposure period. We compared two situations with similar concentrations of [Cd]_w and food supply in the presence or absence of ship noise. We analyzed the accumulation of Cd in the gills and digestive glands, the transcriptional response of selected genes in gills, the valve behaviors, and the growth rates. Based on previous works, cadmium was taken as both a toxicant and an indirect marker of ventilatory activity. The whole data set illustrated the power of noise as a physiological drive and suggested a depressant effect characterized by a decrease of valve opening duration, valve activity, ventilatory activity and growth rate. The associated ecotoxicological impact was a decreased Cd bioaccumulation in the gills and a modulation of transcriptional expression of some genes. Indeed, *mt2*, *clec1*, and *acac* exhibited the largest changes. Finally, an analysis of variance for the whole data set (Cd concentrations in gills and digestive gland, valve closure durations, number of partial valve closure, gene, and growth rate) showed that variance frequently decreased in the presence of cargo ship noise with most individual data skewed to the lower range.

Impact of noise on ventilatory activity

Few studies have reported the effect of anthropogenic noise on the ventilatory activity in marine animals. Brintjes et al. [41] recorded transient hyperventilation in juvenile European eels (*Anguilla anguilla*) and the juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*) when exposed to a short noise stimulus (eel: ship noise for 2 min at 139.3–141.2 dB_{Brms} re 1 μPa ; seabass, pile driving for 2 min, 165–167 dB re 1 μPa at peak level). The hyperventilation rapidly dissipated (within 2 min) after exposure in the seabass, and the recovery was partial in the

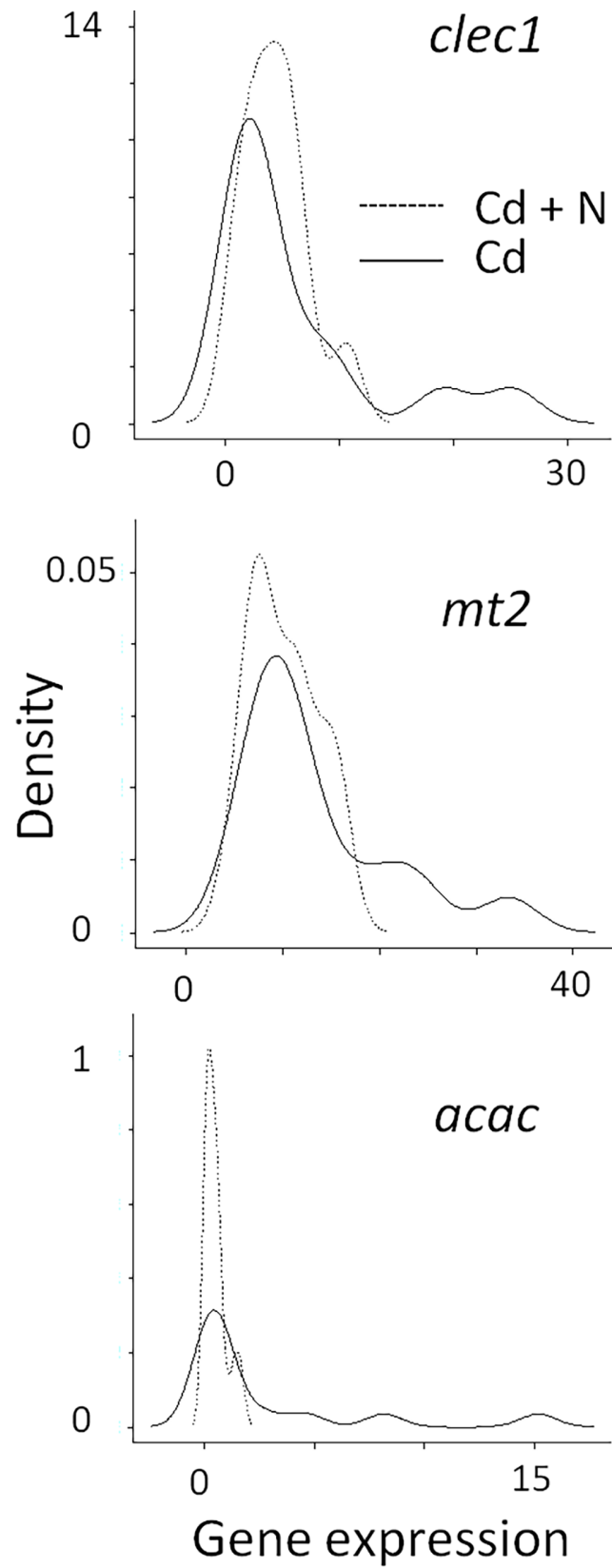


Fig 5. Distribution of the probability densities of gene expression in three genes exhibiting a different variance at day 14. In the presence of cargo ship noise (Cd + N), the distributions were skewed to the lower values in comparison to the distribution in the absence of the ship noise (Cd).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174.g005>

European eels. In crustaceans, Wale et al. [42] reported that crabs *Carcinus maenas* exposed to a single, ship-noise playback every 2 days over 15 days (148–150 dBrms re 1 μ Pa, duration 7.5 min) exhibited a reproducible increase in oxygen consumption without acclimation with time. Radford et al. [43] conducted an experiment over 12 weeks. They showed that naive fish hyperventilated when exposed to a single impulsive noise but not when exposed to repetitive stimulation. It fits well with the present study as oysters exhibited a transient decrease in their valve opening amplitudes—similar to that described by Charifi et al. [20]—only at the beginning of the test period. It faded over time to vanish after 4 days. The ventilation, defined as the volume of water ventilated per unit of time, was not directly measured in this report because it required handling, and we did not want to interfere with the animal’s resting behavior. Instead, we used the Cd bioaccumulation as a proxy because in water breathers that were maintained at a constant [Cd]_w, an increase in ventilatory activity has been demonstrated to increase the Cd accumulation and vice versa (see Introduction). In the present experiment, possibly the oysters exhibited a transient hyperventilation at the onset of the cargo ship noise exposure but the bulk of evidence shows that they ventilated less during most of the 14-day exposure period (see Fig 3).

Oysters unexposed to ship noise presented a larger interindividual distribution of [Cd]_g, with more contaminated animals. As reported by Pan et al. [44] in the scallop *Chlamys nobilis*, such an intraspecific variability is routinely observed in metal bioaccumulation for individuals of the same size and collected at the same location and period. This is also similar to the PSP toxin accumulation observed in oysters *M. gigas* exposed to the toxic algae *Alexandrium minutum*: contamination in numerous animals remains in the low range of the global distribution data, whereas a minority accumulated the largest amounts [45,46]. Fernandez et al. [47] proposed that this interindividual difference could be due to physiological differences in the feeding performances, digestion rate, and excretion costs. Haberkorn et al. [45] demonstrated that

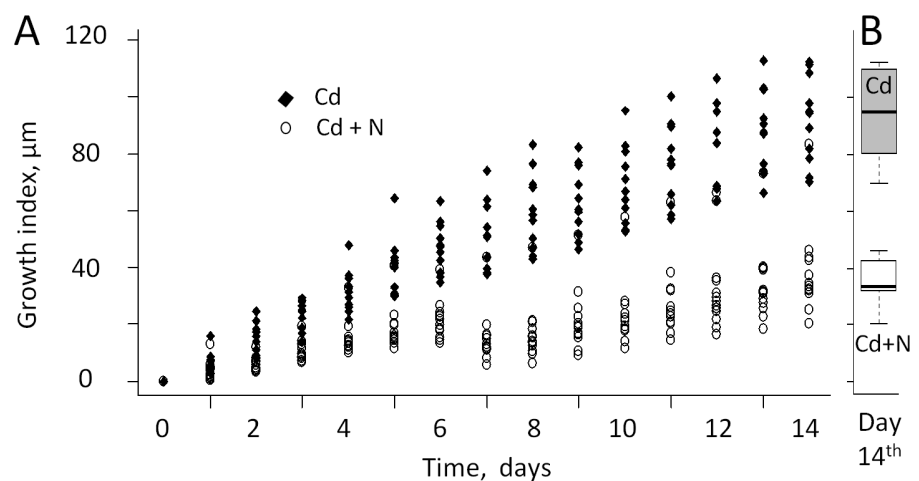


Fig 6. Growth rate index in oysters *M. gigas* in the presence of cadmium with (Cd + N) or without (Cd) cargo ship noise. A, daily change of growth rate index. B, description by quartiles of the difference between growth index at day 14. The growth rate is smaller in presence of cargo ship noise. N = 13 oysters exposed to Cd and cargo ship noise and 12 oysters exposed to Cd alone.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174.g006>

the interindividual variability of PSP bioaccumulation in *M. gigas* was positively correlated to the opening duration during the exposure period.

In the present work, significant behavioral changes were observed between the two conditions during the 14 days of exposure. Oysters exposed to cargo ship noise spent more time closed compared to the animals not exposed to ship noise. The difference was concentrated during their active period, which was the day time. In addition, oysters not exposed to ship noise exhibited a higher number of partial-closures than those exposed to ship noise. Partial-closures are partial valve openings and closings that are associated with the back and forth movements of bulk water, which replenishes the water in the pallial cavity. The physiological role of the valve must be taken into consideration. Indeed, the strategy developed by water breathers to ensure their ventilatory activity has been summarized by Massabuau and Abele [48]. The basic idea is that ventilation is a limiting step. The branchial cavity, herein referred to as the pallial cavity, must be viewed as an antechamber in which the water renewal is controlled and slowed when compared to the bulk water. The consequence is that the gills, and the blood inside, face a relatively confined milieu that receives low oxygenation and is hypercapnic. In bivalve mollusks, a decreased quantity and/or amplitude of these partial closures would maintain lower Cd concentrations in the pallial cavity, and under such conditions, a metal concentration gradient will develop in the boundary layer between the gill surface and the bulk-inspired water. Consequently, a decreased diffusion rate from the bulk water to the hemolymph should exist in the gills, limiting the contamination process. Therefore, we propose that, in presence of cargo ship noise, as the valve-opening duration decreased during the daytime and the number of partial-closures also decreased, the gills should be less irrigated by bulk water and thus less exposed to metal uptake. In addition, the excreted metabolic CO₂ should build up in the branchial cavity, leading to an acidification of water pH in the boundary layers [49,50]. The Free-Ion Activity Model and the Biotic Ligand Model [51,52], which were proposed to predict how free metals interact with external biological membranes, suggest less cadmium uptake and toxicity. However, a prediction is rather difficult, as the problem the oysters face is a balance between more free ions and competition in the gills between the Cd⁺⁺ and H⁺ for binding sites [53]. These ideas were discussed by Campbell [26] to explain how hypoxia and the associated hyperventilation might increase metal contamination in water breathers. We propose to apply them to the present situation and to the analysis of physiological mechanisms explaining the impact of ship noise at larger scale.

Gene expression

Few studies have reported an induction of oxidative stress under noise exposure. In mice, Cheng et al. [54] observed an increase in the oxidative stress in the encephalic region associated with the lemniscal ascending pathway after they exposed animals to 80 dB re 20 μPa sound for 2 h/day for 6 weeks. Samson et al. [55] also reported a significant effect of noise exposure on free radical scavenging enzymes in the brain of white strain male albino rats. Exposed to acute or chronic white noise at 100 dB re 20 μPa sound for a period of 4 h per day, the animals showed a significant increase in their levels of antioxidant enzymes. The present work also suggests the existence of an oxidative stress under the condition cadmium plus ship noise as an upregulation of *sod2* and *mdh* are reported. Shi and Gibson [56] already shown that oxidative stress can induce an increase in *mdh* gene expression. Without ship noise, and in the presence of Cd alone, the expression of *sod2*, *sod1*, *gpx*, and *mdh* did not change. Cadmium does not directly induce ROS production [57], but it can induce oxidative stress indirectly through different pathways [58]. The absence of enhancement of the oxidative stress defense mechanism at T₁₄ in presence of Cd alone suggests either weak oxidative stress or an

already fixed problem. In this view, the data show that the *cat* gene coding for the catalase, an enzyme responsible for converting H_2O_2 to H_2O and O_2 , was downregulated more with Cd alone than with Cd plus the cargo ship noise. This larger downregulation agrees with the above dataset, which fits well with a low or absent oxidative stress and higher MT proteins levels in the cells. However, an alternative explanation is that *cat* could also be downregulated through a direct action of Cd [59,60]. Pierron et al. [28] reported a repression of the *cat* gene in the gills of the glass eel (*Anguilla anguilla*) exposed to $[Cd]_w$ $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ during 14 days in brackish water (salinity 0.2 ‰).

Metallothioneins (MT), proteins with a high affinity to metal ions, are considered to play an important role intracellularly in controlling the bioavailability of essential metals and in the protection against the toxicity of nonessential metals, participating in their detoxification. Cadmium is one of the strongest inducers of *mt* gene expression [61]. The accumulation of cadmium in the gills of oysters under both conditions induced a significant overexpression of the *mt2* gene, with significant induction factors (20–27). However, no correlation was observed when a paired analysis of the cadmium concentrations and *mt2* gene expression levels were studied under both conditions. The latter is in accordance with the result obtained by Gonzalez et al. [62] for the zebrafish *Danio rerio* exposed to $[Cd]_w = 1.9$ and $9.6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

The comparison we report between the expression of *mt2* in the presence or absence of cargo ship noise showed that the median distributions of *mt2* expression were not significantly different (Kruskall-Wallis test) but that the variances were different (Levene test). The latter was due to an absence of the higher expression values in the presence of cargo ship noise. The expression of acetyl-coA carboxylase, used to synthesize fatty acids, showed the same pattern of distribution, with all values skewed to the left (Fig 5). Otherwise, Fig 4 shows an under-expression of acetyl-coA carboxylase in the presence of ship noise, indicating a decrease in fatty acid synthesis and lipogenesis. Triglyceride lipase did not change, indicating an absence of enhanced lipolysis. We argue in this work that cargo ship noise exposure would have a depressant impact on the physiology and activity of oysters. The need for energy production is expected to decrease in such a situation, which is in accordance with a decreased expression of acetyl-CoA carboxylase. Food particle sorting in suspension-feeding bivalves is partly based on a recognition mechanism mediated by the lectins contained in the gill mucus [63]. Homolog of these lectins was identified in *M. gigas* (*lec1*) and their highest expressions were not observed in the presence of cargo ship noise but only with cadmium and without ship noise (Fig 5). A lower need for that protein in oysters exposed ship noise correlated to a lower feeding activity is suggested. To summarize this paragraph, the presence of ship noise in addition to cadmium brings some oxidative stress, a lower feeding activity, a decrease of fatty acid synthesis, lipogenesis and lectin synthesis, in comparison to the condition without cargo ship noise. Taken together, these findings fit well with the depressant effect shown by the behavioral analysis and the decrease in growth rate.

Growth rate

One of the prominent effects of anthropogenic noise exposure is the impact on the growth rate. Oysters exposed to noise showed a low rate of growth compared to oysters without cargo ship noise. Under ambient noise, oysters presented an averaged index of shell growth by approximately 60% in comparison to their congeners. Importantly, this difference cannot be directly attributed to Cd because the oysters that are growing more quickly are also those that are more contaminated. Lagardère [64] observed the same effect of noise on the brown shrimp *Crangon crangon*. Shrimp reared in tanks with a noise level of 30 dB higher than the controls and in a frequency range of 80 to 400 Hz, exhibited a significant reduction in growth. In the

present experiment, the growth slow down measured in oysters exposed to cargo ship noise may be partly explained by a reduction in food intake, as their valves were open less often, and the bulk of evidence suggest that the oysters hypoventilated.

Conclusion

Present data show a depressant action of cargo ship noise on oyster *M. gigas* valve opening duration, valve activity, and ventilation, as well as disturbances in fat metabolism. It will be of greatest interest to complete it with more results obtained at diverse sound pressure intensities, during longer times of exposure and by means of field research. But as they stand the data confirm previous reports on a decrease in invertebrate activity and show an unexpected result in terms of metal bioaccumulation processes and growth rates. Cargo ship noise exposure limits Cd contamination and is associated with a slowdown in growth, unraveling a potentially massive risk in terms of ecosystem productivity.

Supporting information

S1 File. Cargo noise sample from Santander port (WAV).
(WAV)

S1 Database. All data base.
(XLSX)

Acknowledgments

The authors wish to thank Prof. Peter Campbell for helpful discussions, Régine Maury-Brachet, Pierre-Yves Gourves, Adeline Arini for the cadmium analysis and Bruno Etcheverria for the animal care.

Author Contributions

Conceptualization: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Jean-Charles Massabuau.

Data curation: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Mohamedou Sow, Mickael Perrigault, Patrice Gonzalez, Jean-Charles Massabuau.

Formal analysis: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Mohamedou Sow, Mickael Perrigault, Patrice Gonzalez, Jean-Charles Massabuau.

Funding acquisition: Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

Investigation: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Jean-Charles Massabuau.

Methodology: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Mickael Perrigault, Pierre Ciret, Jean-Charles Massabuau.

Project administration: Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

Resources: Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

Software: Mohamedou Sow.

Supervision: Mohamedou Sow, Mickael Perrigault, Patrice Gonzalez, Pierre Ciret, Soumaya Benomar, Jean-Charles Massabuau.

Validation: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Mohamedou Sow, Mickael Perrigault, Patrice Gonzalez, Pierre Ciret, Jean-Charles Massabuau.

Visualization: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Mohamedou Sow, Jean-Charles Massabuau.

Writing – original draft: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Mohamedou Sow, Mickael Per-rigault, Patrice Gonzalez, Jean-Charles Massabuau.

Writing – review & editing: Mohcine Charifi, Alison Miserazzi, Jean-Charles Massabuau.

References

1. Rogers PH, Cox M. Underwater sound as a biological stimulus. In: Atema J, Fay RR, Popper AN, Tavolga WN, editors. *Sensory Biology of Aquatic Animals*. New York, NY: Springer New York; 1988. pp. 131–149. Available: https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3714-3_5
2. Myrberg AA, Mohler M, Catala JD. Sound production by males of a coral reef fish (*Pomacentrus partitus*): its significance to females. *Anim Behav*. 1986; 34: 913–923. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(86\)80077-X](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(86)80077-X)
3. Gannon DP, Barros NB, Nowacek DP, Read AJ, Waples DM, Wells RS. Prey detection by bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*: an experimental test of the passive listening hypothesis. *Anim Behav*. 2005; 69: 709–720. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2004.06.020>
4. Amorim MCP, Neves ASM. Male painted gobies (*Pomatoschistus pictus*) vocalise to defend territories. *Behaviour*. 2008; 145: 1065–1083.
5. Lillis A, Eggleston DB, Bohnenstiehl DR. Oyster larvae settle in response to habitat-associated underwater sounds. *PLoS One*. 2013; 8: e79337. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079337> PMID: [24205381](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24205381/)
6. Frisk GV. Noiseconomics: The relationship between ambient noise levels in the sea and global economic trends. *Sci Rep*. 2012; 2: 437. <https://doi.org/10.1038/srep00437> PMID: [22666540](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22666540/)
7. McDonald MA, Hildebrand JA, Wiggins SM. Increases in deep ocean ambient noise in the Northeast Pacific west of San Nicolas Island, California. *J Acoust Soc Am*. 2006; 120: 711–718. PMID: [16938959](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16938959/)
8. Ross D. On Ocean Underwater Ambient Noise. *Inst Acoust Bull*. 1993; 18: 5–8.
9. Ross D. Ship sources of ambient noise. *IEEE J Ocean Eng*. 2005; 30: 257–261. <https://doi.org/10.1109/JOE.2005.850879>
10. Peng C, Zhao X, Liu G. Noise in the sea and its impacts on marine organisms. *Int J Environ Res Public Health*. 2015; 12: 12304–12323. <https://doi.org/10.3390/ijerph121012304> PMID: [26437424](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26437424/)
11. Hawkins AD, Pembroke AE, Popper AN. Information gaps in understanding the effects of noise on fishes and invertebrates. *Rev Fish Biol Fish*. 2015; 25: 39–64. <https://doi.org/10.1007/s11160-014-9369-3>
12. Fewtrell JL, McCauley RD. Impact of air gun noise on the behaviour of marine fish and squid. *Mar Pollut Bull*. 2012; 64: 984–993. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.02.009> PMID: [22385754](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22385754/)
13. André M, Solé M, Lenoir M, Durfort M, Quero C, Mas A, et al. Low-frequency sounds induce acoustic trauma in cephalopods. *Front Ecol Environ*. 2011; 9: 489–493. <https://doi.org/10.1890/100124>
14. Guerra Á, González ÁF, Pascual S, Dawe EG. The giant squid *Architeuthis*: An emblematic invertebrate that can represent concern for the conservation of marine biodiversity. *Biol Conserv*. 2011; 144: 1989–1997. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.04.021>
15. Mosher JI. The responses of *Macoma balthica* (Bivalvia) to vibrations. *J Molluscan Stud*. 1972; 40: 125–131. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.mollus.a065209>
16. Ellers O. Discrimination among wave-generated sounds by a swash-riding clam. *Biol Bull*. 1995; 189: 128–137. <https://doi.org/10.2307/1542463> PMID: [27768488](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27768488/)
17. Roberts L, Cheesman S, Breithaupt T, Elliott M. Sensitivity of the mussel *Mytilus edulis* to substrate-borne vibration in relation to anthropogenically generated noise. *Mar Ecol Prog Ser*. 2015; 538: 185–195.
18. Solan M, Hauton C, Godbold JA, Wood CL, Leighton TG, White P. Anthropogenic sources of underwater sound can modify how sediment-dwelling invertebrates mediate ecosystem properties. *Sci Rep*. 2016; 6: 20540. <https://doi.org/10.1038/srep20540> PMID: [26847483](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26847483/)
19. Peng C, Zhao X, Liu S, Shi W, Han Y, Guo C, et al. Effects of anthropogenic sound on digging behavior, metabolism, Ca(2+)/Mg(2+) ATPase activity, and metabolism-related gene expression of the bivalve *Sinonovacula constricta*. *Sci Rep*. 2016; 6: 24266. <https://doi.org/10.1038/srep24266> PMID: [27063002](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27063002/)

20. Charifi M, Sow M, Ciret P, Benomar S, Massabuau J-C. The sense of hearing in the Pacific oyster, *Magallana gigas*. PLoS One. 2017; 12: e0185353. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353> PMID: 29069092
21. Andrade H, Massabuau J-C, Cochrane S, Ciret P, Tran D, Sow M, et al. High frequency non-invasive (HFNI) bio-sensors as a potential tool for marine monitoring and assessments. Front Mar Sci. 2016; 3: 187. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00187>
22. Lloyd R. Effect of dissolved oxygen concentrations on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo Gairdnerii Richardson*). J Exp Biol. 1961; 38: 447.
23. Lloyd R, Herbert DWM. The effect of the environment on the toxicity of poisons to fish. Inst Public Health Eng J. 1962; 61: 132–145.
24. Tran D, Boudou A, Massabuau J-C. How water oxygenation level influences cadmium accumulation pattern in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*: a laboratory and field study. Environ Toxicol Chem. 2001; 20: 2073–2080. PMID: 11521837
25. Tran D, Boudou A, Massabuau J-C. Relationship between feeding-induced ventilatory activity and bioaccumulation of dissolved and algal-bound cadmium in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*. Environ Toxicol Chem. 2002; 21: 327–333. <https://doi.org/10.1002/etc.5620210214> PMID: 11833801
26. Campbell P. How might hypoxia affect metal speciation, accumulation and toxicity—some speculation. Proceedings Seventh International Symposium on Fish Physiology, Toxicology, and Water Quality. Tallinn, Estonia; 2003. pp. 125–147.
27. Fournier E, Adam C, Massabuau J-C, Garnier-Laplace J. Selenium bioaccumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* and subsequent transfer to *Corbicula fluminea*: role of selenium speciation and bivalve ventilation. Environ Toxicol Chem. 2006; 25: 2692–2699. PMID: 17022410
28. Pierron F, Baudrimont M, Boudou A, Massabuau J-C. Effects of salinity and hypoxia on cadmium bioaccumulation in the shrimp *Palaemon longirostris*. Environ Toxicol Chem. 2007; 26: 1010–1017. PMID: 17523247
29. Akamatsu T, Okumura T, Novarini N, Yan HY. Empirical refinements applicable to the recording of fish sounds in small tanks. J Acoust Soc Am. 2002; 112: 3073–3082. PMID: 12509030
30. Massabuau J-C. From low arterial- to low tissue-oxygenation strategy. An evolutionary theory. Respir Physiol. 2001; 128: 249–261. PMID: 11718757
31. Rogers PH, Hawkins AD, Popper AN, Fay RR, Gray MD. Parvulescu revisited: Small tank acoustics for bioacousticians. Adv Exp Med Biol. 2016; 875: 933–941. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8_115 PMID: 26611052
32. Schwartzmann C, Durrieu G, Sow M, Ciret P, Lazareth CE, Massabuau J-C. *In situ* giant clam growth rate behavior in relation to temperature: A one-year coupled study of high-frequency noninvasive valvometry and sclerochronology. Limnol Oceanogr. 2011; 56: 1940–1951. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.5.1940>
33. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. Methods San Diego Calif. 2001; 25: 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262> PMID: 11846609
34. Huvet A, Herpin A, Dégremont L, Labreuche Y, Samain J-F, Cunningham C. The identification of genes from the oyster *Crassostrea gigas* that are differentially expressed in progeny exhibiting opposed susceptibility to summer mortality. Gene. 2004; 343: 211–220. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.09.008> PMID: 15563847
35. Mai H, Gonzalez P, Pardon P, Tapie N, Budzinski H, Cachot J, et al. Comparative responses of sperm cells and embryos of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to exposure to metolachlor and its degradation products. Aquat Toxicol Amst Neth. 2014; 147: 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.11.024> PMID: 24378469
36. Bijoux H. Study of the Arcachon Bay's chemical contaminants' toxic impact on the cupped oyster *Crassostrea gigas*: in situ and experimental approach. PhD thesis, Université de Bordeaux. 2014.
37. Marie V, Gonzalez P, Baudrimont M, Boutet I, Moraga D, Bourdineaud J-P, et al. Metallothionein gene expression and protein levels in triploid and diploid oysters *Crassostrea gigas* after exposure to cadmium and zinc. Environ Toxicol Chem. 2006; 25: 412–418. PMID: 16519301
38. Gamain P. Impact of pollutants and climate change stressors on reproduction capacity and embryo-larval development of the oyster *Crassostrea gigas* in the Arcachon bay. PhD thesis, Université de Bordeaux. 2016.
39. Payton L, Perrigault M, Bourdineaud J-P, Marcel A, Massabuau J-C, Tran D. Trojan horse strategy for non-invasive interference of clock gene in the oyster *Crassostrea gigas*. Mar Biotechnol N Y N. 2017; 19: 361–371. <https://doi.org/10.1007/s10126-017-9761-9> PMID: 28674930

40. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing [Internet]. Vienna, Austria; 2017. Available: <https://www.R-project.org/>
41. Bruinjes R, Purser J, Everley KA, Mangan S, Simpson SD, Radford AN. Rapid recovery following short-term acoustic disturbance in two fish species. *R Soc Open Sci.* 2016; 3. <https://doi.org/10.1098/rsos.150686> PMID: 26909193
42. Wale MA, Simpson SD, Radford AN. Size-dependent physiological responses of shore crabs to single and repeated playback of ship noise. *Biol Lett.* 2013; 9: 20121194. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.1194> PMID: 23445945
43. Radford AN, Lèbre L, Lecaillon G, Nedelec SL, Simpson SD. Repeated exposure reduces the response to impulsive noise in European seabass. *Glob Change Biol.* 2016; 22: 3349–3360. <https://doi.org/10.1111/gcb.13352> PMID: 27282635
44. Pan K, Wang W-X. The subcellular fate of cadmium and zinc in the scallop *Chlamys nobilis* during waterborne and dietary metal exposure. *Aquat Toxicol Amst Neth.* 2008; 90: 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.09.010> PMID: 18992948
45. Haberkorn H, Tran D, Massabuau J-C, Ciret P, Savar V, Soudant P. Relationship between valve activity, microalgae concentration in the water and toxin accumulation in the digestive gland of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to *Alexandrium minutum*. *Mar Pollut Bull.* 2011; 62: 1191–1197. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.03.034> PMID: 21511307
46. Lassus P, Amzil Z, Baron R, Sechet V, Barille L, Abadie E, et al. Modelling the accumulation of PSP toxins in Thau Lagoon oysters (*Crassostrea gigas*) from trials using mixed cultures of *Alexandrium catenella* and *Thalassiosira weissflogii*. *Aquat Living Resour.* 2007; 20: 59–67. <https://doi.org/10.1051/alr:2007016>
47. Fernández-Reiriz MJ, Irisarri J, Labarta U. Flexibility of physiological traits underlying inter-individual growth differences in intertidal and subtidal mussels *Mytilus galloprovincialis*. *PLoS One.* 2016; 11: e0148245. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148245> PMID: 26849372
48. Massabuau JC, Abele D. Principles of oxygen uptake and tissue oxygenation in water-breathing animals. *Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems.* John Wiley & Sons, Ltd; 2011. pp. 139–156.
49. Burtin B. Etude du rôle de la composition ionique de l'eau dans la régulation de l'état acide-base extracellulaire chez l'écrevisse. PhD thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg. 1986.
50. Randall D, Lin H, Wright PA. Gill water flow and the chemistry of the boundary layer. *Physiol Zool.* 1991; 64: 26–38.
51. Di Toro DM, Allen HE, Bergman HL, Meyer JS, Paquin PR, Santore RC. Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. *Environ Toxicol Chem.* 2001; 20: 2383–2396. PMID: 11596774
52. Gorsuch JW, Janssen CR, Lee CM, Reiley MC. Special issue: The biotic ligand model for metals—current research, future directions, regulatory implications. *Comp Biochem Physiol Part C Toxicol Pharmacol.* 2002; 133: 1–343.
53. Campbell PGC, Stokes PM. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. *Can J Fish Aquat Sci.* 1985; 42: 2034–2049. <https://doi.org/10.1139/f85-251>
54. Cheng L, Wang S-H, Chen Q-C, Liao X-M. Moderate noise induced cognition impairment of mice and its underlying mechanisms. *Physiol Behav.* 2011; 104: 981–988. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.06.018> PMID: 21726571
55. Samson J, Sheela Devi R, Ravindran R, Senthilvelan M. Effect of noise stress on free radical scavenging enzymes in brain. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2005; 20: 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.059> PMID: 21783581
56. Shi Q, Gibson GE. Up-regulation of the mitochondrial malate dehydrogenase by oxidative stress is mediated by miR-743a. *J Neurochem.* 2011; 118: 440–448. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07333.x> PMID: 21623795
57. Cuypers A, Plusquin M, Remans T, Jozefczak M, Keunen E, Gielen H, et al. Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometals Int J Role Met Ions Biol Biochem Med.* 2010; 23: 927–940. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9329-x> PMID: 20361350
58. Thevenod F. Cadmium and cellular signaling cascades: to be or not to be? *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009; 238: 221–239. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.01.013> PMID: 19371614
59. Palace VP, Majewski HS, Klaverkamp JF. Interactions among antioxidant defenses in liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to cadmium. *Can J Fish Aquat Sci.* 1993; 50: 156–162. <https://doi.org/10.1139/f93-018>
60. Roméo Bennani, Gnassia-Barelli, Lafaurie Girard. Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquat Toxicol Amst Neth.* 2000; 48: 185–194.

61. Klaassen CD, Liu J, Choudhuri S. Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1999; 39: 267–294. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.39.1.267> PMID: 10331085
62. Gonzalez P, Baudrimont M, Boudou A, Bourdineaud J-P. Comparative effects of direct cadmium contamination on gene expression in gills, liver, skeletal muscles and brain of the zebrafish (*Danio rerio*). *Biometals Int J Role Met Ions Biol Biochem Med.* 2006; 19: 225–235. <https://doi.org/10.1007/s10534-005-5670-x> PMID: 16799861
63. Pales Espinosa E, Koller A, Allam B. Proteomic characterization of mucosal secretions in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *J Proteomics.* 2016; 132: 63–76. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.11.018> PMID: 26612663
64. Lagardère JP. Effects of noise on growth and reproduction of *Crangon crangon* in rearing tanks. *Mar Biol.* 1982; 71: 177–185. <https://doi.org/10.1007/BF00394627>

5.3 Discussion - Conclusions

Lors de cette expérimentation les huîtres ont été exposées à des passages de bateau dans un milieu contaminé par du cadmium et non limité en nourriture pendant une durée de 14 jours. Le nombre de passage de bateaux par jour était égal à 92 voulant ainsi mimer l'ambiance sonore dans une zone à forte activité maritime. Tel qu'il a été démontré dans le chapitre 3, la gamme d'audition chez les huîtres coïncide avec les fréquences émises par les gros cargos. En comparant le comportement entre les huîtres exposées au bruit et celles non exposées au bruit, tous les éléments montrent que les huîtres sous l'effet du bruit ont moins ventilé. Nous n'avons pas tenté de mesurer directement le débit ventilé par les animaux car cette analyse, qui demande des conditions expérimentales particulières (taille des enceintes, manipulations diverses), était incompatible avec le but du présent travail. On a utilisé le niveau d'accumulation du cadmium comme indicateur relatif du niveau de ventilation. Effectivement, il a été démontré dans plusieurs études qu'à concentration de cadmium constante, une augmentation de l'accumulation de ce métal dans les tissus était intimement liée à une augmentation du niveau de ventilation (CAMPBELL, 2003 ; FOURNIER et al., 2006 ; LLOYD et HERBERT, 1962 ; PIERRON et al., 2007 ; TRAN et al., 2001 ; TRAN et al., 2002). En utilisant cette approche cela permet de minimiser les manipulations sur les animaux (qui auraient été impossible au vu des autres contraintes expérimentales) et d'enlever des sources de stress additionnel.

Nos résultats indiquent un plus faible niveau de ventilation chez les animaux exposés au bruit. L'observation peut apparaître surprenante car on aurait pu s'attendre à un effet inverse, un stress provoquant souvent une réaction d'hyperventilation. Et en effet, plusieurs études ont rapporté une réaction d'hyperventilation lors d'exposition à des bruits à caractères impulsif ou continu que ce soit chez les poissons ou chez les crustacées (BRUINTJES et al., 2016 ; RADFORD et al., 2016 ; WALE et al., 2013b). Ces études, contrairement à notre procédure expérimentale, ont utilisé des expositions sonores de courtes durées (quelque minutes) ou espacées par des périodes de récupération (de l'ordre de quelques jours) alors que dans l'étude présente on a exposé les animaux en continu à des bruits répétés de passage de bateau espacés d'une quinzaine de minutes sur une période de 14 jours. Les protocoles sont différents et il est possible que la réaction d'hyperventilation rapportée par ces auteurs ne soit qu'initiale.

Dans le chapitre 4 nous avons rapporté que, les huîtres réagissent à des sons purs (tests de 3 min) par une fermeture partielle des valves sans adaptation pendant plus de 10 jours. Dans ce chapitre, nous avons réalisé des expositions plus longues et la réaction de fermeture des valves, bien présente au début a complètement disparu après 4 jours d'exposition. L'observation illustre les capacités d'adaptation et d'habituation des huîtres *M. gigas*.

Un effet important du bruit observé au cours de cette expérience a touché la croissance

des animaux. Les huîtres exposées au bruit ont montré une plus faible croissance, approximativement 60 % inférieure à celle des huîtres non exposées au bruit. Ce faible taux de croissance peut être expliqué par la faible activité valvaire et le faible taux de ventilation qui est intimement lié à la prise de nourriture chez des filtreurs. L'observation va de pair avec une absence d'expression plus élevées du gène *clcc1* qui code pour la lectine, une protéine qui joue un rôle dans le tri des particules alimentaire (ESPINOSA et al., 2016) chez les animaux exposés au bruit. L'observation est également cohérente avec la faible expression de gènes codant pour la synthèse des acides gras et des lipides. Les animaux mangent moins, il y a moins d'aliments à traiter et à stocker sous forme de réserve.

À la lumière de ces résultats qui montrent un impact au niveau physiologique et comportemental, nous avons proposé que le bruit a un effet déresseur ou réresseur généralisé sur l'huître. Cet effet pourrait peut-être se conjuguer à l'échelle de l'écosystème. Une étude récente a proposé cette hypothèse et discuté d'un effet du bruit sur l'interaction d'invertébrés marins avec leur environnement. Chez la palourde, *Ruditapes philippinarum* il a été démontré qu'une exposition au bruit pendant 7 jours induit un changement du comportement caractérisé par une diminution de l'activité de fouissage. Les auteurs en ont conclu que cela pouvait modifier la contribution de ce type de bivalve au transport des particules entre l'eau et le sédiment qui est un processus clé dans le renouvellement des nutriments (SOLAN et al., 2016).

Ces résultats obtenus au laboratoire apportent de nouvelles informations sur l'effet d'une pollution sonore sur un animal marin. Cependant, les conclusions doivent être prudentes car comme pour la plupart des études au laboratoire les conditions expérimentales présentent un environnement simplifié qui diffère du milieu naturel. L'ambiance acoustique dans laquelle l'animal est soumis dans le laboratoire est très différente de celle présente dans son milieu naturel. Une durée d'exposition de 14 jours est aussi une durée faible par rapport à une vie dans un milieu exposé.

Pour ces raisons, il nous paraissait important d'étudier le comportement des huîtres *in situ* dans un milieu avec une forte activité maritime. Les données obtenues sur le terrain peuvent apporter des informations fondamentales qui peuvent venir confirmer ou infirmer les résultats obtenus au laboratoire. À ce titre, nous avons étudié le comportement d'huîtres dans le port de Santander (Espagne) qui présente une activité maritime de niveau moyen. Leur comportement a été comparé à celui des huîtres se trouvant à Arcachon, une baie avec une faible activité maritime. Pour aller plus loin dans l'analyse, on a choisi lors de la deuxième année d'étude d'introduire des huîtres 'naïves' venant d'un milieu relativement calme dans le port de Santander afin de suivre l'évolution de leur comportement dans un milieu nouveau pour elles. Cette étude est présentée dans le chapitre suivant.

ÉTUDE DU COMPORTEMENT DE L'HUÎTRE DANS UN PORT COMMERCIAL

6.1 Introduction

Les travaux présentés dans les précédents chapitres ont permis de caractériser le sens de l'audition chez l'huître *Magallana gigas* (Chapitre 4) et d'étudier au laboratoire l'effet d'une exposition au bruit de durée moyenne, 14 j, sur ce bivalve (Chapitre 5). Dans ce chapitre, nous avons étendu notre étude à une analyse comparative du comportement de l'huître dans des conditions de terrain bruyantes et sur une période de plusieurs mois.

Au laboratoire, nous avons caractérisé quelques grands traits en présence de bruit. Les huîtres exposées de façon chronique pendant 14 j (Chapitre 5) ont présenté une plus faible activité valvaire marquée par une plus faible durée d'ouverture valvaire journalière, une plus faible amplitude d'ouverture et un plus faible nombre de microfermetures (fermetures partielles). En outre, le taux de croissance chez ces animaux était significativement plus faible sous l'effet du bruit et la variabilité interindividuelle a été marquée par une absence d'huître à fort taux de croissance. En présence de bruit également, les analyses génétiques ont montré l'existence d'un stress oxydant chez les huîtres et une baisse de la synthèse des acides gras et des lipides. Tous ces résultats pointent vers un effet répressif du bruit sur l'animal.

Cependant, les résultats obtenus dans ce travail doivent être placés dans un contexte bien spécifique qui est celui d'expériences menées au laboratoire. En effet, les expériences conduites au laboratoire permettent un bon contrôle de différents facteurs physiques mais imposent un environnement simplifié et artificiel. Le champ acoustique généré dans les bacs expérimentaux est affecté par différentes réflexions avec les parois, la surface et le fond et présente une particularité acoustique différente de celle observée dans le milieu

naturel (ROGERS et al., 2016).

Afin d'aller plus loin dans notre analyse de l'effet de la pollution sonore sur les huîtres et tenter de confirmer ou infirmer les résultats obtenus au laboratoire, le comportement de 2 groupes d'huîtres *M. gigas* (un né dans le port de Santander ; un transplanté d'un estuaire non industrialisé, San Vicente de la Barquera) immergées pendant 2 années consécutives dans un port de commerce (Santander, Espagne) a été comparé au comportement d'un 3^{ème} groupe immergé dans une région soumise à un faible trafic maritime (Arcachon, France). L'étude du comportement des huîtres dans un port est particulièrement intéressante mais complexe. Le port est un milieu divers où de multiples stress sont présents. Il présente un environnement où divers types de bateaux génèrent des niveaux sonores variables. Le niveau sonore du bruit ambiant y est largement supérieur à celui observé dans des zones éloignées du trafic maritime (MERCHANT et al., 2014 ; PETROVIC et al., 2008). Dernier point, l'expérimentateur ne contrôle rien mais subit tout. Nous verrons cependant qu'un certain nombre d'informations qui pourront déboucher sur une publication (rédigée en français pour l'instant) peut être tiré de ce travail.

6.2 Étude comparée de différents traits de vie de l'huître *Magallana gigas* dans le port de Santander

par

Mohcine Charifi^{1,2,3}, Mohamedou Sow^{1,2}, Beatriz Echavarri⁴, Pierre Ciret^{1,2}, José A
Juanes De la Peña⁴, Jean-Charles Massabuau^{1,2}

¹University of Bordeaux, EPOC, UMR 5805, F-33120 Arcachon, France

²CNRS, EPOC, UMR 5805, F-33400 Talence, France

³Mohammed V-Agdal University, Biology, Morocco

⁴Environmental Hydraulics Institute 'IH Cantabria', Universidad de Cantabria,
Santander, Spain

Mots-clés : *Crassostrea gigas*, pollution sonore, port, croissance, bivalve.

6.2.1 Introduction

Les activités humaines font peser sur l'écosystème marin de multiples pressions délétères. Pollution chimique, changement climatique, acidification, débris de plastique et déchets radioactifs ont des impacts sans précédent (ISLAM et TANAKA, 2004). Leurs effets sur la population marine sont multiples et dans de nombreux cas, comme dans les situations de stress multiples et de faibles concentrations, ils sont peu ou mal compris. Une forme de pollution de plus en plus reconnue comme un polluant majeur est la pollution sonore (COUNCIL, 2005 ; RICHARDSON et al., 2013). Cette forme de pollution provient à 90 % des activités telles que le trafic maritime (COUNCIL, 1994), mais aussi la construction et l'exploitation de plateformes offshore, la prospection sismique et le bruit généré par les dispositifs de production d'énergie renouvelable en mer. Le bruit émis par ces différentes sources a été multiplié par 10 depuis les années 60 et a doublé en intensité chaque décennie depuis 40 ans (ANDREW et al., 2002 ; McDONALD et al., 2006). Le résultat est une augmentation du bruit ambiant dans la majorité des régions de l'océan qui modifie fondamentalement les caractéristiques acoustiques des écosystèmes marins (HILDEBRAND, 2009 ; ROSS, 2005).

La majorité des recherches d'impact de la pollution sonore s'est focalisée sur les mammifères marins et les poissons (AU et al., 1974 ; BUSCAINO et al., 2010 ; CODARIN et al., 2009 ; MYRBERG JR, 1990 ; POPPER et al., 2005 ; ROMANO et al., 2004 ; SCHOLIK et YAN, 2001 ; SUN et al., 2001 ; THOMAS et al., 1990). Par comparaison, très peu d'études ont évalué l'effet chronique de la pollution sonore sur les invertébrés marins et en particulier les mollusques bivalves malgré leur importance dans la biodiversité (CHARIFI et al., 2018 ; PENG et al., 2016 ; SOLAN et al., 2016). Les invertébrés sont pourtant majoritaires en masse et en nombre d'espèces et la plus grande partie d'entre eux, à l'inverse des vertébrés, est sédentaire et incapable de s'éloigner des zones affectées par le bruit.

La pollution sonore, liée au trafic maritime et la mondialisation des échanges commerciaux, est de caractère relativement continu. Elle affecte de vastes zones en constituant un problème pour tout l'écosystème (SLABBEKOORN et al., 2010 ; WEILGART, 2007). Le bruit généré par les bateaux provient principalement des vibrations mécaniques produites par les moteurs diesels, les générateurs, l'interaction de la coque avec l'eau et le son émis par les pales d'hélice en rotation. L'énergie acoustique émise est largement concentrée dans les basses fréquences et les intensités les plus élevées se situent généralement entre 100 Hz et 1 kHz (McDONALD et al., 2014). Les poissons et les mammifères les entendent parfaitement bien (POPPER et al., 2003). La capacité de la pollution sonore à affecter le comportement et les paramètres biochimiques a été largement démontrée chez les poissons (CODARIN et al., 2009 ; PICCIULIN et al., 2010 ; SARÀ et al., 2007 ; SCHOLIK et YAN, 2001 ; WYSOCKI et al., 2006) et les crustacés marins. Le bruit perturbe leur communication acoustique (émission et perception) et peut provoquer de nombreux dommages physiologiques (KIGHT et SWADDLE, 2011), affecter la reproduction, modifier la

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE *MAGALLANA GIGAS* DANS LE PORT DE SANTANDER

dynamique des populations (SLABBEKOORN et al., 2010) ou dans des cas extrêmes causer la mortalité d'individus (DE SOTO et al., 2013 ; NEDELEC et al., 2014). Chez les crustacés on sait qu'une exposition au bruit de bateau induit par exemple des changements de comportement, provoque une hyperventilation transitoire et peut engendrer un stress immunitaire (CELI et al., 2015 ; WALE et al., 2013a ; WALE et al., 2013b).

CHARIFI et al. (2017) ont été les premiers à décrire les capacités d'audition chez un invertébré marin (*M. gigas*). On sait maintenant que les huîtres sont sensibles aux basses fréquences entre 10 Hz et 1000 Hz avec un optimum de sensibilité entre 10 et 200 Hz. CHARIFI et al. (2018) ont montré qu'un bruit répété de cargo pendant 14 jours a un effet répressant en laboratoire sur la physiologie de l'huître, entraînant une diminution de l'activité ventilatoire et valvaire, ainsi qu'une augmentation des périodes de fermeture pendant la période active. Une conséquence surprenante de l'expérimentation en laboratoire a été que face à une contamination métallique, la contamination en présence de bruits de cargo s'est avérée plus faible à cause très probablement d'une plus faible exposition branchiale. Une autre conséquence a été une diminution de la croissance attribuée à la diminution de l'activité de filtration du phytoplancton et aussi de la lipogenèse. Chez la palourde, SOLAN et al. (2016) avaient montré que ce bruit peut donner lieu à des réactions comportementales qui pourraient modifier les activités de bioturbation et de bioirrigation. Mais à l'heure actuelle il y a un manque d'information sur l'effet *in situ* et à long terme d'un bruit chronique généré par les bateaux sur des espèces d'invertébrés sédentaires.

Le but de ce travail a été d'étudier par valvométrie HFNI (Haute Fréquence, Non Invasive) pendant plusieurs mois, le comportement *in situ* d'huîtres *Magallana gigas* dans le port de Santander qui est exposé à la pollution sonore et où la qualité globale de l'eau est classée comme bonne à moyenne suivant les critères (COZ et al., 2008 ; HIGUERA-RUIZ et ELORZA, 2009 ; ONDIVIELA et al., 2013 ; RIAL et al., 2017 ; RUIZ et al., 2018). Une contamination au TBT (HIGUERA-RUIZ et ELORZA, 2009 ; HIGUERA-RUIZ et ELORZA, 2011) et aux HAP (RIAL et al., 2017) y a été rapportée ces dernières années pour certaines zones du port. Nous avons comparé le comportement d'huîtres natives de cette baie à celui d'huîtres d'une autre baie du Golfe de Gascogne, le bassin d'Arcachon, où la qualité de l'eau vient aussi d'être classée en 2018 comme moyenne sur la base de l'indicateur DCE «Angiospermes» (AUBY et al., 2018) mais où la pollution sonore est d'une intensité totalement différente. Nous avons également fait une expérience de transfert d'huîtres non natives de Santander, mais transplantées à Santander, en provenance d'une ria sans pollution sonore ni pollution chimique rapportée (San Vicente de la Barquera, HIGUERA-RUIZ et ELORZA, 2011). La baie de Santander abrite un port de commerce dont le trafic total annuel est considéré comme moyen avec $53 \cdot 10^6$ tonnes/an dont 67 % de cargos et 11% de navires de pêche (année 2014, Ministerio de Fomento, 2016 ; www.fleetmon.com/). Le Bassin d'Arcachon abrite, en dehors d'une forte activité de plaisance, uniquement un port de pêche où l'activité annuelle a été de 2 000 t en 2017. Pour comparaison le port de

Shanghai reçoit ≈ 1400 navires par jour pour un tonnage de $776 \cdot 10^6$ tonnes/an en 2013 (www.marinetraffic.com).

Nos résultats montrent que le comportement des huîtres originaires du port de Santander présente des points communs avec celui d'huîtres exposées au bruit en laboratoire et en accord avec des observations et/ou prédictions proposées par CHARIFI et al. (2017). Elles ont un rythme d'activité d'abord circadien puis secondairement circatidal contrairement aux animaux d'Arcachon. Elles étaient moins ouvertes et moins actives et ont présenté un taux de croissance faible à très faible, toujours en comparaison aux huîtres du bassin d'Arcachon. Deux faits marquants concernent la ponte. En 2011, le groupe d'huîtres de Santander étudié n'a présenté aucun comportement de ponte (0 %) alors qu'à Arcachon et Marennes-Oléron elles avaient été observées chaque année d'étude avec un sexe ratio proche de 50 % (BERNARD et al., 2016). Par contre, en 2012 le groupe étudié dans le port de Santander était mixte, 50 % San Vicente, 50 % Santander : 100 % des huîtres transplantées de San Vicente à Santander a présenté le comportement de ponte recherché (100 % au lieu des 50 % attendus) et plusieurs huîtres de Santander ont fait de petites pontes. Les résultats sont discutés en termes physiologiques et environnementaux dans un contexte multistress incluant une pollution sonore.

6.2.2 Matériels et méthodes

Collecte des animaux et mise à l'eau du valvomètre dans le port de Santander

Le port de Santander (Fig. 6.1 A ; Lat. $43^{\circ}45'N$, Long. $3^{\circ}8'O$) situé dans le golfe de Gascogne a l'apparence d'une large baie à marée haute. L'entrée du port à une profondeur de 18 m et une largeur de 1700 m. Localisé au nord de l'Espagne, il assure une liaison commerciale et touristique avec différents ports en Angleterre, France, Allemagne et Pays Bas. Le trafic à l'intérieur du port est majoritairement composé de gros cargos transportant des produits pétroliers ou d'agriculture, des voitures et autres marchandises manufacturées et de navires de pêches (www.fleetmon.com). Situé à 50 km à l'ouest, San Vicente de la Barquera (Fig 6.1A ; Lat. $43^{\circ}38'N$, Long. $4^{\circ}38'O$) est une petite ville touristique où seul l'avant-port est fréquenté par des chalutiers alors que l'arrière-port et le fond de sa lagune abritent une petite flottille de plaisance et une ferme ostréicole isolée plus en amont.

L'étude a été réalisée sur deux années consécutives le long d'un quai du port de Santander (Fig. 6.1 B, C). En 2011 (mise en place le 05-02-2011), 11 huîtres *M. gigas* originaires du port de Santander ont été étudiées, et en 2012 (mise en place le 27-03-2012), c'est un groupe de 14 huîtres (*M. gigas*) composés de 6 huîtres ramenées de San Vicente de la Barquera et 8 huîtres originaires du port de Santander qui a été suivi. À noter que les groupes initiaux étaient de 16 huîtres : en 2011, 16 huîtres natives du port de Santander et en 2012, 2 x 8 huîtres, 8 natives de Santander, 8 natives de San Vicente de la Barquera. La différence correspond à la mortalité. Les huîtres de Santander ont été collectées directement sur place à la position de l'étude (Fig. 6.1 B-C) alors que celles de San Vicente ont

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE *MAGALLANA GIGAS* DANS LE PORT DE SANTANDER

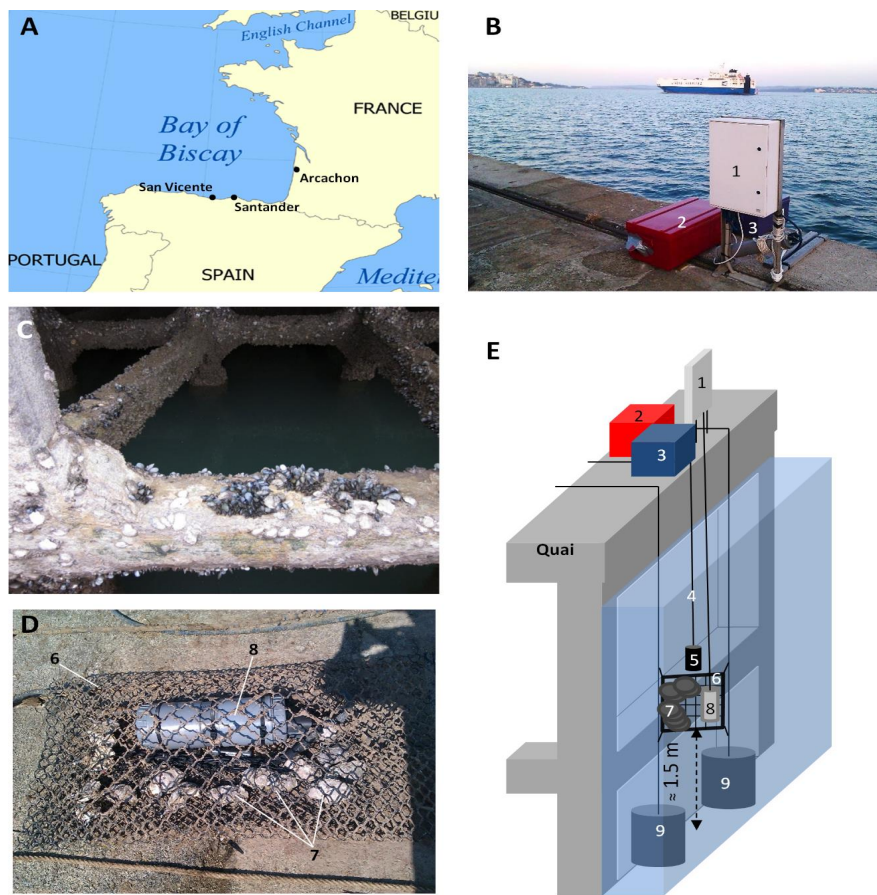


FIGURE 6.1 – Localisation générale et détails du site d'étude dans le port de Santander. A, Zones d'études et de prélèvement des huîtres. B, Emplacement du boîtier dans le port de Santander à 300 m du passage des cargos entrant et sortant du port. C, Vue du dessous du quai et de sa population naturelle d'huîtres et de moules. D, poche à huîtres contenant 16 huîtres équipées avec des électrodes et liées au boîtier immergé. E, schéma de principe du montage : 1, Boîtier du haut pour la transmission des données via GPRS (General Packet Radio Service) ; 2, Caisse contenant l'ordinateur pour la sauvegarde des fichiers audio ; 3, caisse contenant l'amplificateur ; 4, connexion électrique entre le boîtier du haut et le boîtier bas ; 5, hydrophone ; 6, poche à huîtres ; 7, huîtres ; 8, boîtier du bas muni d'une carte électronique pour la mesure du comportement valvaire ; 9, parpaings en béton.

été achetées à un ostréiculteur de San Vicente. Les huîtres ont été équipées d'électrodes pour le suivi en continu de leur comportement valvaire (ANDRADE et al., 2016) et ont été positionnées à l'intérieur d'une poche à huître (1 x 0,5 m, Fig. 6.1 D). La poche a été immergée à une dizaine de mètres sous la surface, $\approx 1,5$ -2 m au-dessous du fond et a été stabilisée en la liant à deux câbles tendus fixés entre le quai et des poids en béton (Fig 6.1 E).

Les huîtres étaient en condition subtidale, immergées en permanence, et le niveau moyen de la mer était de 2,85 mètres au-dessus du zéro hydrographique. Un câble ombilical liait le valvomètre immergé dans l'eau à une carte électronique se trouvant sur le quai pour

le transfert des données via le réseau téléphonique. La position d'étude était à une centaine de mètres de terminaux pour gros cargo et les navires entrant ou sortant passaient à ~300-500 m des huîtres (Fig. 6.1 B).

Au niveau du bassin d'Arcachon situé dans le sud-ouest de la France et qui est largement ouvert sur le golfe de Gascogne (Fig 6.1 A ; Lat. 44°66'N, Long. 1.16°8'O), le comportement des huîtres est suivi depuis 2006 par la même technologie à la jetée d'Eyrac (valvométrie HFNI). Les poches à huître sont fixées sur des tables ostréicoles attachées à des plaques de béton et maintenues à environ 50 cm au-dessus du sédiment. Dans le bassin d'Arcachon, le port est fréquenté régulièrement par une dizaine de chalutiers et de très nombreux navires de plaisance. Les grosses unités sont totalement exceptionnelles et ne sont jamais de la taille de celles fréquentant Santander. Les embarcations actives toute l'année sont des plates d'ostréiculteurs, quelques pinasses à moteur, et en saison touristique des vedettes, jets ski et voiliers qui représentent 94 % du nombre total des embarcations actives (LE BERRE et al., 2010). Il convient de souligner que ces bateaux à moteurs émettent pour la plupart des niveaux sonores à des fréquences élevés au-dessus de 1 kHz (AU et GREEN, 2000) qui sont inaudibles par les huîtres (CHARIFI et al., 2018).

Étude du comportement des huîtres par valvométrie HFNI

La valvométrie HFNI est une technique de mesure de l'activité de mollusques bivalves à haute fréquence non invasive qui permet un suivi sur le long terme en minimisant le stress généré par le dispositif, sans avoir à intervenir sur le site d'étude. Elle a récemment été décrite par ANDRADE et al. (2016). Brièvement, l'appareil d'enregistrement est constitué de deux électrodes légères (54 mg) relié par des câbles flexibles à un boîtier électronique. Chaque électrode est enrobée par une résine protectrice et collé à chaque valve. L'une est émettrice alors que l'autre électrode est réceptrice. Le principe est de mesurer la distance entre les deux valves par le biais des variations de voltage produite par le courant électromagnétique entre les deux électrodes.

Les données d'activité valvaire sont gérées par une première carte électronique se trouvant dans un boîtier étanche immergé au côté des huîtres. Cette carte électronique est reliée par un câble ombilical à une seconde carte électronique émergée et connecté au réseau téléphonique. La fréquence d'acquisition est de 10 Hz, et comme pour cette étude 16 huîtres ont été mises en place initialement l'état d'ouverture de chaque huître est mesuré toutes les 1,6 s. Lors de chaque échantillonnage, 3 valeurs sont enregistrées qui sont l'heure, le numéro de l'huître échantillonné et le voltage correspondant à l'écart valvaire. Les données à la fin de chaque jour (minuit) sont transférées du terrain vers la station marine d'Arcachon et sont sauvegardées sur une station Dell (double processeur - 8 cœurs). Les données sont traitées automatiquement à l'aide de routines (séquences d'instruction) et publiées en ligne le jour même sur le site internet « l'œil du mollusque » (<https://molluscan-eye.epoc.u-bordeaux.fr>).

Diverses analyses peuvent être conduites pour traiter les données brutes valvométriques

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE MAGALLANA GIGAS DANS LE PORT DE SANTANDER

reçues du terrain. Pour cette étude l'intérêt s'est porté essentiellement sur l'analyse de paramètres qui sont : la durée d'ouverture journalière du groupe, l'amplitude d'ouverture horaire, les microfermetures, les rythmes circadiens et circatidaux d'ouverture et de fermeture, la ponte et la croissance en épaisseur des huîtres.

Enregistrement et analyse des données sonores dans le port de Santander

Un hydrophone (Sensibilité= -200 dB re 1V μPa^{-1}) a été déployé dans le port de Santander pendant 8 jours entre le 16 et le 24 avril 2012. Il a été placé au plus proche de la poche à huîtres le long d'un des câbles de suspension, environ 2 m au-dessus du fond (Fig. 6.1 E). Au niveau du quai, un amplificateur (construit au laboratoire avec un gain de 40 dB) et un ordinateur pour l'enregistrement des données audios ont été placés dans une malle en métal afin d'empêcher la transmission des nuisances électriques (Fig. 6.1B-C et 1E). L'ordinateur était programmé pour enregistrer le son reçu par l'hydrophone en continu par blocs d'une heure et la fréquence d'échantillonnage était de 44,1 kHz et 16 bits. La largeur de bande de l'enregistrement était comprise entre 5 Hz et 5 kHz.

Les données ont été calibrées en utilisant les spécifications techniques de l'hydrophone, le gain de l'amplificateur et le voltage du convertisseur analogique numérique. Les données audio ont été ensuite traitées à l'aide d'un script exécuté sous Matlab (MERCHANT et al., 2015). La densité spectrale de puissance a été calculée en utilisant la fenêtre de Hann et un chevauchement de 50 % pour chaque enregistrement d'une heure.

Mesures acoustiques

Le niveau de pression acoustique (Sound pressure level, SPL) est un moyen de caractériser l'amplitude d'un son. C'est la valeur efficace de la pression acoustique par rapport à une pression de référence. Le niveau de pression acoustique est exprimé en décibel selon la formule suivante :

$$SPL = 10 \log_{10} \left(\frac{Q}{P_{ref}^2} \right) \quad (6.1)$$

avec Q la valeur efficace de pression acoustique et P_{ref} la pression de référence égale à $1 \mu\text{Pa}$ à une distance de 1 m dans l'eau.

La valeur efficace de pression acoustique est exprimée selon la formule suivante :

$$Q = \frac{1}{T} \int_0^T q^2(t) dt \quad (6.2)$$

avec T la durée sur laquelle la moyenne est calculée, et $q(t)$ la pression acoustique à l'instant t .

Une durée (T) de 60 s a été choisie pour calculer le niveau de pression acoustique dans

une gamme de fréquences comprise entre 5 Hz et 5 kHz. Cette bande fréquentielle couvre la gamme de fréquence émise par les gros cargos (TASKER et al., 2010).

Le niveau d'exposition acoustique (sound exposure level, SEL) est une mesure cumulative de l'énergie acoustique sur une période donnée. Pour des sons continus tels que les sons émis par les passages de bateaux le niveau d'exposition acoustique peut être mesuré dans une bande fréquentielle précise selon la formule suivante :

$$SEL = SPL + 10 \log_{10}(T) \quad (6.3)$$

avec T la durée totale du signal traité. Cette mesure permet une comparaison avec les énergies émises par des sources sonores mesurées dans d'autres études.

Le niveau sonore quant à lui est un terme qui décrit la puissance acoustique générée par une source à une distance de 1 m indépendamment du trajet de propagation du son de la source à un récepteur (par exemple un hydrophone). L'estimation du niveau sonore est faite par la mesure d'un paramètre physique tel que la pression sonore loin de la source (dans le champ lointain) et par le calcul en retour de la valeur à une distance de 1 m du centre de la source en utilisant le modèle de propagation approprié.

Le niveau sonore (Sound level, SL) est exprimé par la formule suivante :

$$SL = SPL + TL \quad (6.4)$$

avec SPL, le niveau de pression acoustique et TL la perte de transmission.

La perte de transmission, (Transmission loss, TL) est la mesure du taux avec lequel l'énergie sonore est perdue lors de la propagation de l'onde sonore. Elle est exprimée par la formule :

$$TL = N \log R - \alpha R \quad (6.5)$$

avec R la distance de la source en mètre, N et α sont des coefficients liés respectivement à la perte par diffusion et à l'absorption du son dans l'eau de mer. Pour une distance inférieure à 10 km de la source le coefficient α peut généralement être ignoré. Dans les eaux peu profondes où le son se propage avec des réflexions sur la surface et le fond marin, le son est supposé être distribué uniformément sur la surface d'un cylindre. La perte par diffusion est alors égale à $10 \log_{10} R$ (WILLE, 1986).

La présentation sous forme d'un spectrogramme montre la variation de l'intensité associée à chaque fréquence au cours du temps.

Statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm 1 SE. Les comparaisons entre groupes ont été effectuées par analyse de variance (ANOVA), après vérification des hypothèses d'indépendance, de normalité et d'homoscédasticité des données. En cas de différences significatives, le test de Tukey HSD a été utilisé pour déterminer les différences significatives entre les moyennes des groupes. Lorsque l'hypothèse de normalité et d'homoscédasticité n'était pas obtenue, nous avons utilisé un test non paramétrique (test de Kruskal-Wallis) puis considéré le test de Dunn (Dunn test) pour les comparaisons multiples. Pour tous les tests statistiques le seuil de significativité retenu est $\alpha = 0,05$. Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R (TEAM, 2017) et Sigma Plot 13.

6.2.3 Résultats

Caractérisation du bruit ambiant dans le port de Santander

La caractérisation de l'ambiance sonore dans le port de Santander au niveau de l'hydrophone durant les 8 jours d'enregistrement audio (entre le 16 et le 24 avril 2012) est présentée sur la figure 6.2 A. Tout au long de l'enregistrement sonore, la présence de bruit ponctuel et intermittent est bien visible sur le spectrogramme (Fig. 6.2 A1, voir position des flèches verticales). Une vérification directe des enregistrements audio a permis d'attribuer ces bruits intermittents au passage de bateaux de commerce. La puissance du bruit émis par ces événements intermittents est particulièrement concentrée dans la gamme de fréquence entre 80 Hz et 4000 Hz, et le maximum se trouve entre 150 et 1000 Hz. Un bruit électrique à fréquence constante a été observé lors de l'analyse spectrale des enregistrements audio. Ce bruit correspond au 50 Hz du système d'alimentation électrique, et aux harmoniques générées à 100 et 150 Hz (Voir Fig. 6.2 A1, bandes horizontales).

De manière générale, le niveau de pression acoustique touchant les huîtres dans la bande spectrale entre 5 et 5000 Hz a varié entre 98 et 146 dB re $1\mu\text{Pa}$ (Fig. 6.2 A2). La pression acoustique moyenne sur toute la période a été égale à 120,2 dB re $1\mu\text{Pa}$ et la médiane égale à 109,2 dB re $1\mu\text{Pa}$. Au total 119 pics ont été détectés durant la totalité de la durée de l'enregistrement sonore soit une moyenne de 15 bateaux par jour concentrée globalement dans la période 7-21 h. Le niveau de pression acoustique des pics intermittents attribués à des passages de bateaux a varié entre 120 et 146 dB re $1\mu\text{Pa}$ pour un niveau de pression acoustique moyen de $130 \pm 0,94$ dB re $1\mu\text{Pa}$. Le niveau sonore à la source, si la source de ces passages était à 300 m - distance du chenal aux huîtres fixées le long du quai - correspond à une valeur de 171 dB re $1\mu\text{Pa}@1\text{m}$ (niveau sonore = $146 + 10 \log_{10}(300)$), formule 6.5).

Sur l'ensemble de la période d'enregistrement, le niveau de pression acoustique apparaît chuter au cours du temps. Le niveau de pression acoustique minimal mesuré lors du premier jour d'enregistrement (16 /04/ 2012) était de 111,4 dB re $1\mu\text{Pa}$ alors que vers la fin de l'enregistrement (24 /04/ 2012) le niveau de pression acoustique mesuré était de

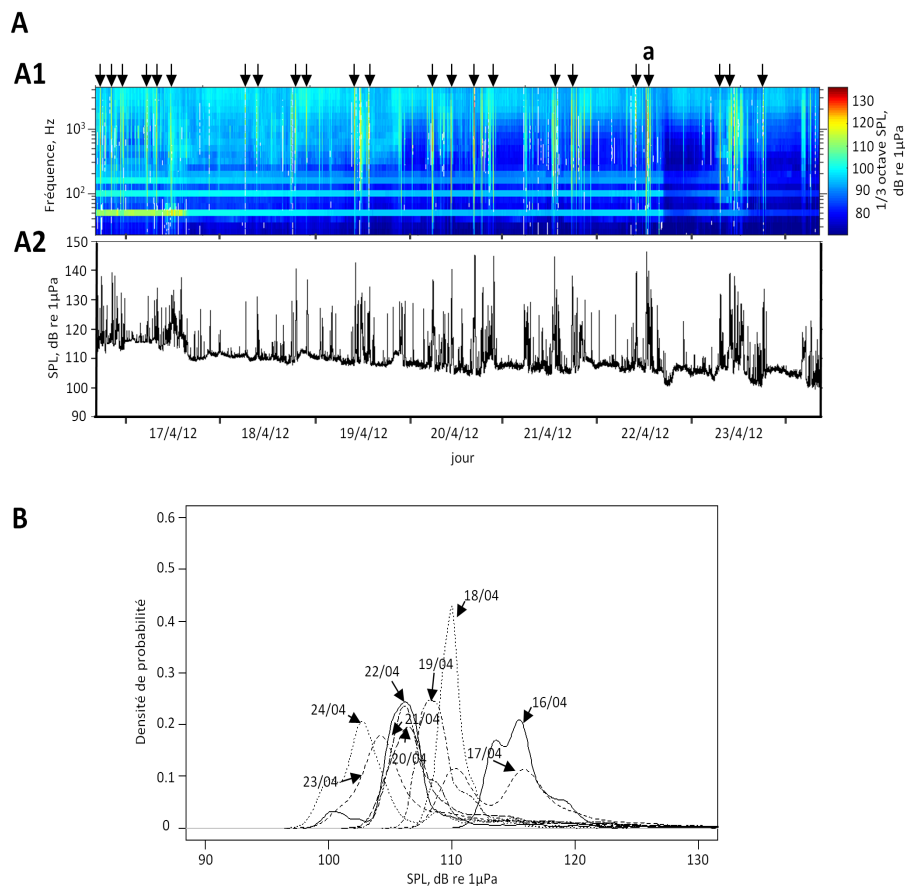


FIGURE 6.2 – Caractérisation du bruit ambiant dans le port de Santander. A1, Analyse spectrale par bande de tiers d’octaves pour les 8 jours d’enregistrements sonores. Mesures faites dans la gamme de fréquence entre 5 Hz et 5 kHz. La flèche (a) pointe sur le passage le plus fort observé au cours de l’enregistrement sonore. L’échelle de couleur indique le niveau du bruit à un instant t et pour une fréquence donnée. A2, niveau de pression acoustique exprimé en dB re $1\mu\text{Pa}$ dans la bande spectrale (5 Hz-5 kHz). B, densité de probabilité estimé pour chaque journée d’enregistrements du niveau sonore.

98 dB re $1\mu\text{Pa}$. Le phénomène pourrait être lié au fouling (Fig. 6.2 B). La courbe de densité pour chaque jour montre une chute graduelle du niveau de pression acoustique. La présence de faibles niveaux de pression acoustique entre le 20 et le 24/04/2012 correspond à un week-end suivi d’une période de faible activité.

Durant la période d’étude (entre le 16 et le 24/04/2012), le niveau d’exposition acoustique calculé était $178,5 \text{ dB re } 1\mu\text{Pa}^2\text{s}$. Il a été dominé par la contribution des bruits intermittents où le niveau d’exposition acoustique durant une journée d’enregistrement a été 9 dB plus grand que le niveau d’exposition acoustique estimé sans la présence de ces bruits intermittents ($168 \text{ dB re } 1\mu\text{Pa}^2\text{s}$ contre $158 \text{ dB re } 1\mu\text{Pa}^2\text{s}$ respectivement).

Le niveau de pression acoustique moyen à Santander a été $121,34 \pm 0,87 \text{ dB re } 1\mu\text{Pa}$. En l’absence de passage de bateau, le niveau de pression acoustique moyen du bruit de fond était égal à $110 \text{ dB re } 1\mu\text{Pa}$.

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE
MAGALLANA GIGAS DANS LE PORT DE SANTANDER

Analyse comparée du comportement valvaire d'huîtres dans le port de Santander et le Bassin d'Arcachon

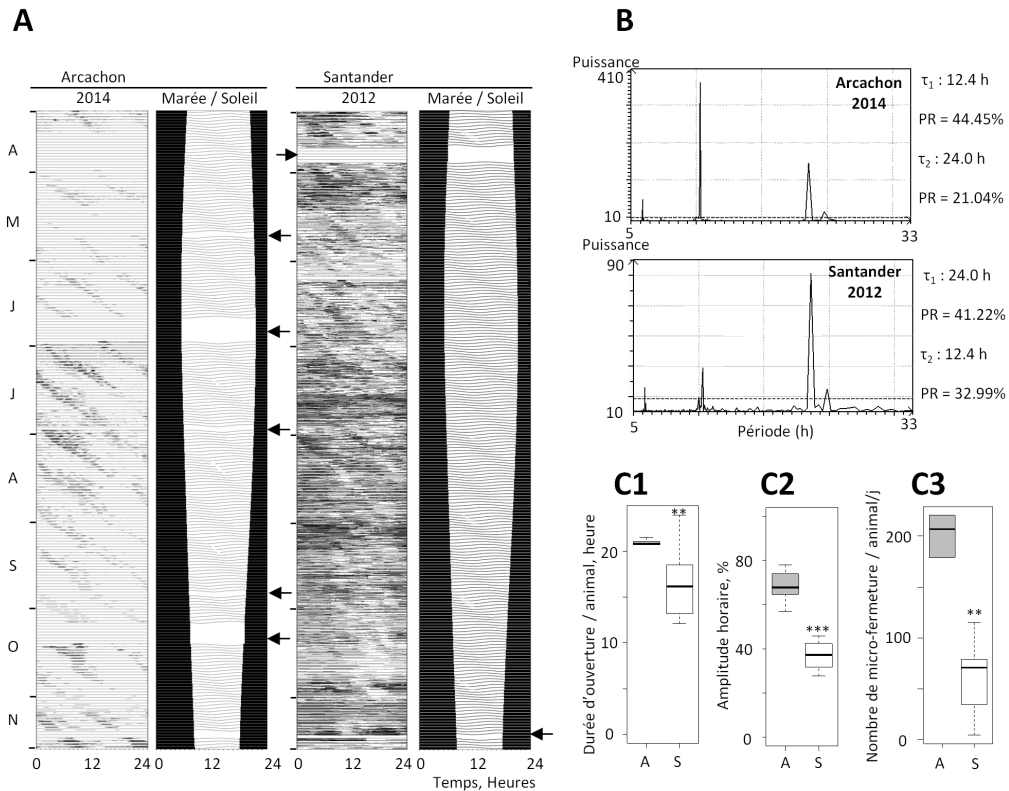


FIGURE 6.3 – Analyse Comparative du comportement valvaire des huîtres dans le port de Santander (2011) et dans le port d'Arcachon (2014). A, actogramme représentant l'activité valvaire d'ouverture et de fermeture des huîtres pour un seuil à 5 % (11 huîtres nées à Santander à Santander et 6 huîtres nées à Arcachon à Arcachon). Chaque ligne représente un jour et les barres blanches représentent un état ouvert alors que les barres noires représentent un état fermé. À droite de chaque actogramme en retrouve l'alternance jour et nuit (noir = nuit) et la marée pour chaque site. Les flèches indiquent des données manquantes. B, la période pour chaque groupe d'huîtres est déterminée par analyse spectrale périodogramme de Lomb et Scargle. Le pourcentage du rythme, PR, est indiqué pour chaque période. C1, description avec des quartiles de la durée d'ouverture chez les huîtres immergées dans le port de Santander (S, blanc) et dans la baie d'Arcachon (A, gris). C2, le nombre de micro-fermetures par animal pour un seuil choisi à 80 % (voir M& M). C3, le pourcentage d'amplitude par tranche horaire du groupe d'huîtres dans les deux sites étudiés. C1, C2 et C3 ont été calculés sur la période entre le 10/04/2011 et 19/11/2011 (Santander) et le 10/04/2014 et 19/11/2014 (Arcachon). (**), $p < 0,001$, (***) , $p < 0,0001$.

CHARIFI et al. (2017) avaient montré en laboratoire que des huîtres naïves exposées à 3 min de sons purs toutes les 30 min (146 dB_{rms} re $1 \mu\text{Pa}$) présentaient des fermetures partielles transitoires sans habituation (i.e. sans atténuation de l'amplitude de la réponse) pendant 11 jours. CHARIFI et al. (2018) ont rapporté une habituation avec absence de réponse après 4 jours d'exposition pour 92 expositions/j de 12 min à un bruit de cargo

(150 dB_{rms} re 1 μPa) en laboratoire. L'analyse des enregistrements d'activité valvaire dans le port de Santander étend *in situ* ces observations. Aucune corrélation directe n'a pu être faite entre passage de cargo et fermeture partielle pour environ 15 expositions/j (à pression sonore comparable) que ce soit pour les animaux originaires de Santander ou de San Vicente. La Figure 6.3A montre le schéma global de l'activité valvaire, sous forme d'actogrammes, des huîtres natives de Santander étudiées *in situ* dans le port de Santander et, pour comparaison, des huîtres natives d'Arcachon dans le bassin d'Arcachon sous la jetée d'Eyrac. Dans les deux milieux les huîtres sont immergées en permanence dans un écosystème de marée semi-diurne. Le schéma de comportement d'ouverture et de fermeture valvaire chez les huîtres immergées dans le bassin d'Arcachon suivait clairement un cycle tidal (Fig. 6.3A). L'analyse spectrale correspondante révèle toutefois que les huîtres exprimaient à la fois un rythme circadien et tidal (Fig. 6.3B). Le rythme tidal était dominant avec une période de 12,4h avec un pourcentage du rythme qui explique 44,45 % du comportement. Le pourcentage de rythme expliqué par le rythme circadien était 21 %.

En revanche, chez les huîtres dans le port de Santander le schéma du comportement valvaire apparaît bruité par comparaison avec Arcachon, c'est-à-dire caractérisé par de nombreuses fermetures transitoires sous le seuil de 5 % d'ouverture (Fig. 6.3A ; comparer aussi les lignes de base des périodogrammes de la Fig. 6.3B) sans relation directe apparente avec des pics sonores. Par contre l'analyse spectrale révèle aussi la présence d'une activité bimodale (expression d'un rythme circadien et tidal) mais l'ordre d'importance est inversé. Le rythme circadien explique à lui seul 41,22 % du comportement (Fig. 6.3B) et le rythme circatidal n'explique plus que 33 % du comportement rythmique.

Durant l'ensemble de la durée d'étude, la durée d'ouverture moyenne du groupe d'huîtres immergé dans le bassin d'Arcachon était significativement supérieure à celle des huîtres dans le port de Santander (Fig. 6.3C1, $p = 0,0044$). L'amplitude d'ouverture valvaire à Arcachon était aussi significativement plus importante à celle des huîtres dans le port de Santander (Fig. 6.3C2, $p = 0,000001$). Également, les huîtres dans le port de Santander étaient moins actives avec un nombre de microfermetures moyen 3 fois inférieur à celui mesuré chez les huîtres à Arcachon (Fig. 6.3C3, $p = 0,003$).

La valvométrie HFNI permet la collecte d'informations sur le taux de croissance journalier des huîtres dans leur milieu naturel, on a comparé l'index de croissance des huîtres natives de Santander et celui des huîtres à Arcachon (Fig. 6.4A1, 2, 3).

La comparaison des figures 6.4A1 et 6.4A2 montre que le taux de croissance chez les huîtres de Santander en 2012 était largement plus faible que celui chez les huîtres dans le bassin d'Arcachon ($p = 0,0005$). La courbe de croissance chez certaines huîtres de Santander a été pratiquement plate. À la fin de l'étude, le gain moyen de taille en épaisseur mesuré au niveau des électrodes était de $0,31 \pm 0,12$ mm chez les huîtres de Santander alors que chez les huîtres à Arcachon le gain de taille avait atteint $5,21 \pm 0,95$ mm (Fig. 6.4A3).

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE *MAGALLANA GIGAS* DANS LE PORT DE SANTANDER

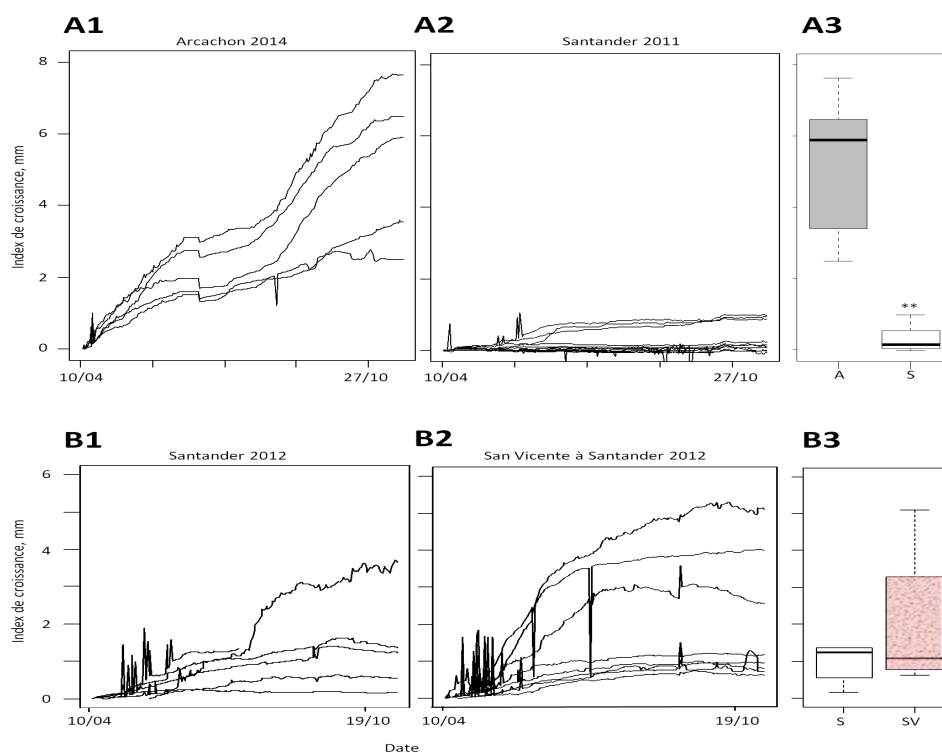


FIGURE 6.4 – L'évolution du taux de croissance des huîtres mesuré par valvométrie HFNI à Santander et Arcachon. A1 (Arcachon) et A2 (Santander 2011), index de croissance journalier. A3, différence de l'index de croissance entre les deux sites décrit en quartile, calculé sur le dernier jour d'enregistrement (19/11). A : Arcachon, S : Santander. (n = 5 huîtres à Arcachon et n = 11 huîtres à Santander). (**), $p < 0,001$. B1 et B2 index de croissance journalier à Santander pour des huîtres natives de Santander (B1) et natives de San Vicente transférées à Santander (B2). B3, différence de l'index de croissance entre les deux sites décrit en quartile et Calculé sur le dernier jour d'enregistrement (19/11/2012). (S : Santander ; n = 6 et SV : San Vicente à Santander ; n = 8).

Pour résumer, les huîtres vivant à Santander exprimaient, contrairement aux huîtres d'Arcachon, un rythme majoritairement circadien et minoritairement circatidal, présentant de nombreuses fermetures d'apparence aléatoire, elles étaient moins ouvertes et moins actives durant la journée et elles ont présenté un taux de croissance beaucoup plus faible.

Afin de tenter de mieux comprendre le déterminisme du comportement chez les huîtres nées et vivant dans le port de Santander, un lot d'huîtres 'naïves' a été transféré de la baie de San Vicente de la Barquera, peu anthropisée, et mélangé dans la même poche à huîtres avec des huîtres de Santander à Santander. La Figure 6.5 montre l'analyse comparée entre ces 2 groupes pour la période Avril-Novembre 2012. Tout comme le comportement du lot d'huîtres de Santander 2011 apparaissait bruité par comparaison avec celui des huîtres d'Arcachon sur la figure 6.3A, le comportement du lot de San Vicente apparaît plus bruité par comparaison avec les huîtres natives de Santander (Fig 6.5A). L'analyse spectrale révèle à nouveau la présence d'une activité bimodale chez les deux lots d'huîtres avec une période dominante de 24h. Les pourcentages de rythmes pour les animaux de

Santander à Santander sont comparables entre 2011 et 2012 (rythme circadien, PR = 41,22 % en 2011 et 38,2 % en 2012 ; rythme circatidal, PR = 32,99 % en 2011 et 31,6 % en 2012). Un phénomène intéressant est que le pourcentage du rythme circatidal chez les huîtres transférées de San Vicente est largement plus faible (PR = 22,8 %) que chez les huîtres de Santander. Le pourcentage du rythme circadien est par contre comparable (PR = 44 % versus 41,22 et 38,2 % pour les huîtres de Santander, Fig. 6.5B).

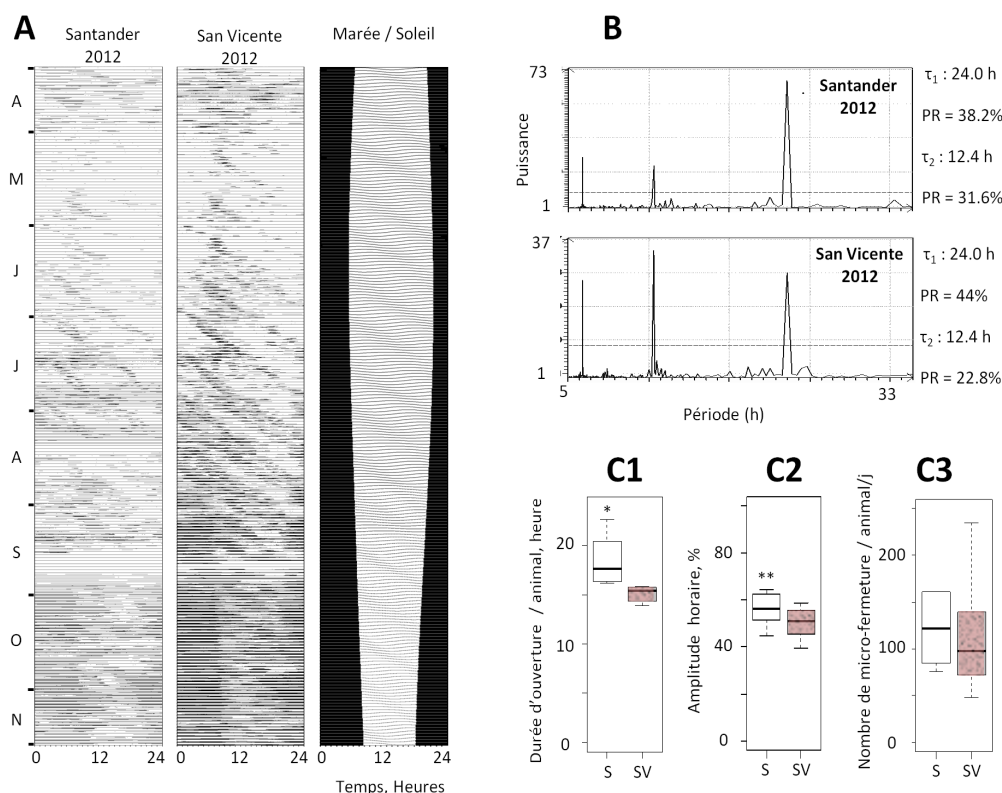


FIGURE 6.5 – Analyse Comparée du comportement d'huîtres de Santander à Santander et d'huîtres de la baie de San Vicente à Santander dans une même poche à huîtres (2012). A, actogramme représentant l'activité valvaire d'ouverture et de fermeture des huîtres pour un seuil à 5 % (6 huîtres originaires de Santander et 8 huîtres venant de St Vicente). Chaque ligne représente un jour et les barres blanches représentent un état ouvert alors que les barres noires représentent un état fermé. À droite des actogrammes en retrouve l'alternance jour et nuit (noir = nuit) et la marée. B, la période pour chaque groupe d'huître est déterminée par analyse spectrale (périodogramme de Lomb et Scargle). Le pourcentage du rythme est indiqué pour chaque période. C1, C2 et C3, décrivent respectivement la durée d'ouverture, le pourcentage d'amplitude horaire et le nombre de microfermetures pour le lot d'huîtres originaire de Santander et celui venant de San Vicente à Santander en 2012. (*), $p < 0,01$, (**), $p < 0,001$, (***), $p < 0,0001$.

La comparaison des durées d'ouverture moyenne et de l'amplitude d'ouverture chez les huîtres transplantées de San Vicente confirme l'observation visuelle de la Fig. 6.5A : les animaux de San Vicente à Santander étaient significativement moins ouverts que les huîtres originaires de Santander (Fig. 6.5C1, $p = 0,034$ et Fig. 6.5C2, $p = 0,002$). Par

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE *MAGALLANA GIGAS* DANS LE PORT DE SANTANDER

contre le niveau d'activité valvaire observé des huîtres originaires de San Vicente n'était pas significativement différent de celui des animaux natifs de Santander (Fig. 6.5C3, $p = 0,454$; distributions comparables, Kolmogorov-Smirnov, $p = 0,29$; test de Levene = 0,7). Il faut noter également que le nombre de microfermetures chez les huîtres natives de San Vicente et de Santander à Santander est largement inférieur à celui mesuré à Arcachon (comparer les Figures 6.5C3 et 6.3C3).

Finalement, le gain de taille a été mesuré chez les deux lots d'huîtres. La distribution des courbes est présentée sur les figures 6.4B1 et 6.4B2 et la distribution des tailles finales sur la figure 6.5B3. Le taux de croissance moyen chez les deux lots n'était pas significativement différent ($p = 0,621$, Fig. 6.4B3) mais on voit clairement que les croissances les plus faibles sont enregistrées chez les animaux originaires de Santander (Fig. 6.4B1) et que les croissances les plus fortes correspondent aux animaux originaires de San Vicente (Fig. 6.4B2).

Pour résumer, les huîtres transplantées depuis la lagune calme de San Vicente dans le port de Santander ont montré un rythme circatidal plus faible que les animaux natifs de Santander. Elles s'ouvraient moins longtemps et de manière moins ample. Le nombre de leurs mouvements de microfermetures ou fermetures partielles n'a pas été différent de celui des huîtres natives de Santander mais largement inférieur à celui mesuré chez les animaux d'Arcachon à Arcachon.

Etude du comportement de ponte. La valvométrie HFNI permet d'enregistrer les pontes sur le terrain car l'huître *M. gigas* femelle présente des mouvements caractéristiques associés à la déposition d'œufs (BERNARD et al., 2016 ; GALTSOFF, 1938). Ce comportement a déjà été caractérisé dans les Bassins d'Arcachon et de Marennes-Oléron (BERNARD et al., 2016) et nous l'avons étudié ici dans le Port de Santander chez les animaux natifs de Santander et chez ceux natifs de San Vicente transplantés à Santander. Le premier fait intéressant, est qu'aucun comportement de ponte n'a pu être décelé en 2011 chez les huîtres natives de Santander (0/11) alors qu'elles étaient seules, non associées à des huîtres natives de San Vicente.

Par contre en 2012, alors qu'elles étaient mélangées avec des individus de San Vicente et qu'on voyait tous les animaux de San Vicente présenter 1-2 comportements de ponte (8/8 soit 100 % des animaux transférés), 4 huîtres de Santander ont présenté ce comportement typique. Trois d'entre elles l'ont fait à 12 h d'intervalles entre 2 pontes d'huîtres de San Vicente, une l'a fait exactement au même moment. L'ensemble des signaux de ponte enregistré est présenté dans la figure 6.6 à la même échelle pour faciliter la comparaison. Pour chaque tracé le 0 et le 100 % d'ouverture correspondent aux 0 et au 100 % d'ouverture (min, max) enregistrés pendant les 6 jours précédant la ponte. Ces pontes se sont étalés sur 3 jours à 1 mois d'intervalle. Le 9/8/2012, 3 huîtres de San Vicente ont présenté un signal de ponte typique comme celui décrit par BERNARD et al. (2016) comprenant une série de mouvements rapides et amples des valves. Les pontes ont démarré sur une plage

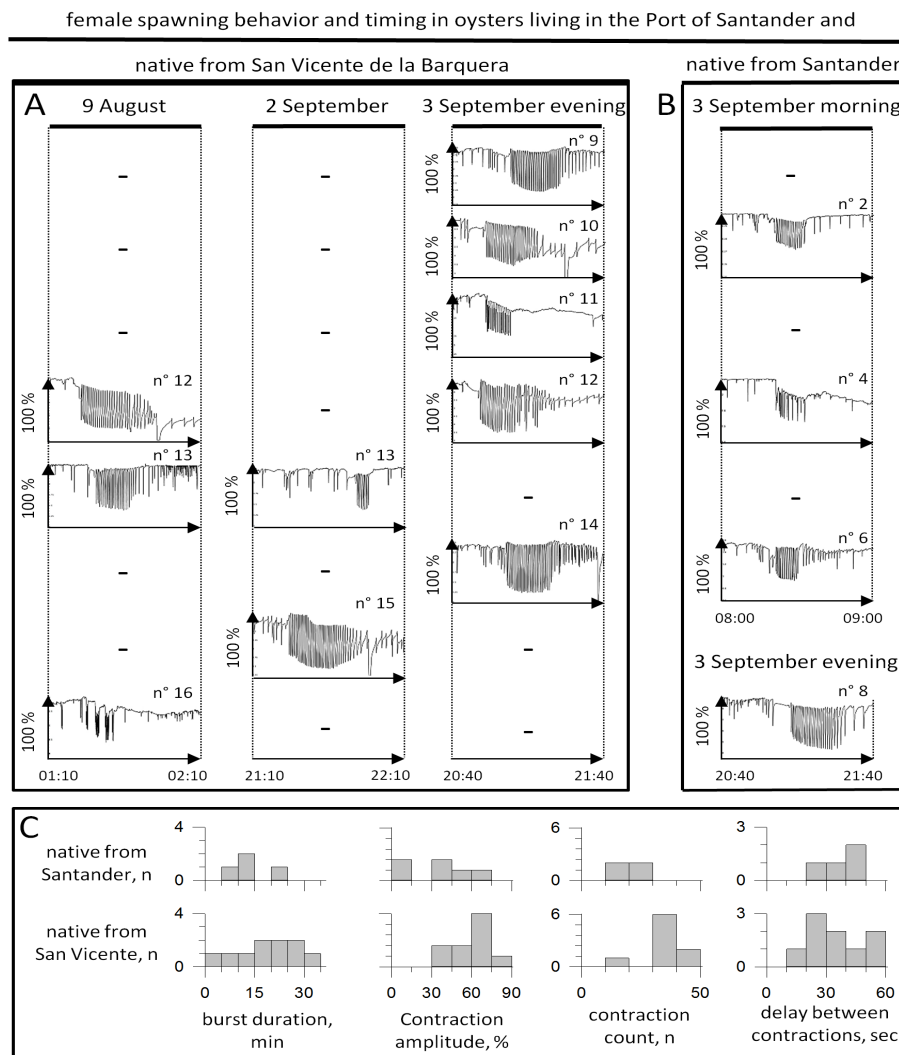


FIGURE 6.6 – Comportements de ponte dans le port de Santander chez des huîtres natives de San Vicente de la Barquera (A) et de Santander (B) en fonction du temps. C, analyse comparées, sous forme de distribution de fréquence, des durées des bouffées de contraction, de leur amplitude, du nombre de contractions et du délai entre contraction dans les 2 groupes. Les huîtres venant de San Vicente présentent des contractions significativement plus amples et des contractions plus nombreuses. La durée des bouffées de contractions et le délai entre contractions ne sont pas différents (voir le texte).

de temps de 5 min 54 sec avec un motif clair. La bouffée de contractions chez l'animal n°16 a été la moins dense en termes de fréquence de contractions sur l'ensemble des pontes enregistrées. Le 2 septembre au soir, 2 autres pontes ont lieu (espacées de 25 min) puis le 3 septembre à la même heure, en 17 min, les 5 dernières huîtres de San Vicente pondent, accompagnée d'une huître native de Santander qui montre un signal aussi fourni et dense qu'elles en termes d'amplitude et de nombre de contractions. Le matin de ce 3 septembre, 3 animaux natifs de Santander pondent de façon très synchrone (26 sec séparent le démarrage de la ponte de l'huître 4 et de l'huître 6, Fig. 6.6B) mais l'amplitude de leur mouvement ainsi que le nombre de contractions dans la bouffée étaient significativement

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE *MAGALLANA GIGAS* DANS LE PORT DE SANTANDER

plus faibles que chez les animaux de San Vicente. Pour l'ensemble des observations (8 San Vicente / 4 Santander), l'amplitude de la bouffée de contraction était plus faible chez les natifs de Santander (natifs de Santander, amplitude de la bouffée, $37,3 \pm 9,1$ %; natifs de San Vicente, $60,9 \pm 4,0$ %; two-tailed P-value = 0,0167, one-tailed P-value = 0,00834) et le nombre de contractions dans la bouffée était aussi plus faible (natifs de Santander, nombre de contractions, $21,5 \pm 3,2$; natifs de San Vicente, $34,5 \pm 2,9$; two-tailed P-value = 0,0270, one-tailed P-value = 0,0135). Par contre la durée moyenne des bouffées ainsi que le délai moyen entre chaque contraction n'étaient pas différents (natifs de Santander, durée de la bouffée, $795,5 \pm 171,9$ sec ; natifs de San Vicente, $1136,7 \pm 158$ sec ; two-tailed P-value = 0,240, one-tailed P-value = 0,120). Finalement le délai moyen entre contractions chez les natifs de Santander était $37 \pm 4,9$ sec et chez les natifs de San Vicente, $34,2 \pm 4,2$ sec (non différent : two-tailed P-value = 0,708, one-tailed P-value = 0,354). Les histogrammes présentant l'ensemble des distributions des différentes grandeurs caractérisant ces bouffées de ponte sont présentés sur la Fig. 6.6C.

6.2.4 Discussion

Pendant 2 années consécutives, au pied d'un quai du port de Santander, $\approx 1,5$ m au-dessus du sédiment, l'activité valvaire, les rythmes biologiques, la ponte et la croissance ont été étudié chez 3 groupes d'huîtres *M. gigas* (2 groupes né dans le port en 2011 et 2012 ; un 3^{ème} groupe transplanté d'un estuaire non industrialisé, San Vicente de la Barquera; en 2012). Les observations ont été comparées (i) aux enregistrements d'un 4^{ème} groupe étudié dans un autre site du Golfe de Gascogne, le Bassin d'Arcachon, pris comme autre référence non industrialisée et (ii) à des résultats récents en laboratoire (CHARIFI et al., 2018). Le port de Santander a été pris comme modèle de « masse d'eau fortement modifiée » (heavily modified water bodies, «HMWBs», KAMPA et LAASER, 2009). L'état physico-chimique de la masse d'eau du port de Santander a été récemment caractérisé (ONDIVIELA et al., 2013 ; RIAL et al., 2017 ; RUIZ et al., 2018) ainsi que celle d'Arcachon (AUBY et al., 2018). Nous avons caractérisé le bruit ambiant sous-marin à Santander qui a un niveau moyen de pression acoustique de 110 dB re $1\mu\text{Pa}$ au niveau du site d'étude ce qui est supérieur de 20 dB à celui rapporté dans le bassin d'Arcachon. Le niveau sonore généré par les passages fréquents de bateaux et mesuré au niveau des huîtres était compris entre 120 et 146 dB re $1\mu\text{Pa}$. Nos résultats montrent que sur le site suivi, la durée et l'amplitude d'ouverture, le nombre de microfermetures ou fermetures partielles ainsi que la croissance étaient significativement plus faibles qu'à Arcachon. L'ensemble de ces modifications est cohérent avec les observations de CHARIFI et al. (2018) qui avaient rapporté un effet répressif de la pollution sonore en laboratoire. À Santander le rythme circadien est le rythme premier contrairement à la situation à Arcachon. La perte apparente de l'importance du rythme circatidale est cohérente avec l'hypothèse de CHARIFI et al. (2018) d'un masquage du bruit naturel lié au courant de marée et d'un masquage de son effet zeitgeber.

Lors de la 1^{ère} année d'étude, les huîtres natives de Santander avaient été étudiées seules. Aucune bouffée de contractions caractéristique associée à la ponte d'œufs n'avait été observée alors que de 2007 à 2014 des pontes ont été enregistrées par valvométrie à Arcachon et Marennes-Oléron chaque année où elles étaient étudiées ($\approx 50\%$ des animaux étudiés à Arcachon et Marennes-Oléron avaient présenté un comportement de ponte femelle, BERNARD et al., 2016). Par contre, la 2^{ème} année alors que des animaux natifs de San Vicente et de Santander étaient mélangés dans la même poche à huîtres ($0,5\text{ m}^2$), 100% des animaux provenant de San Vicente ont présenté ces bouffées de contractions caractéristiques de la ponte (BERNARD et al., 2016 ; GALTSOFF, 1938) ainsi que 4 individus de Santander.

Le niveau de bruit ambiant dans le port de Santander

L'analyse des enregistrements effectués dans le port de Santander durant une période de 8 jours révèle un niveau sonore élevé par rapport à des régions à faible activité maritime, tandis qu'une comparaison des niveaux sonores avec certains ports montre des similitudes. Par exemple, dans le port de Gothenburg qui connaît une activité maritime annuelle plus élevée que le port de Santander, le niveau sonore du bruit de fond enregistré en 2007 variait entre 100 dB et 130 dB re $1\mu\text{Pa}$ calculé dans la gamme de fréquence entre 0 et 500 Hz (PETROVIC et al., 2008). POTTER et DELORY (1998) ont rapporté un niveau sonore supérieur à 100 dB au-dessous de 100 Hz dans le port de Singapour. Il est bien de noter que le niveau de pression acoustique du bruit ambiant mesuré dans un port dépend du degré d'activité au sein du port et du type de bateaux entrants et sortants. Par contre dans des régions plus éloignées du trafic maritime le niveau sonore du bruit ambiant est au-dessous de 90 dB re $1\mu\text{Pa}$. Par exemple, au niveau de la Moray Firth, une baie située en Écosse avec des passages de navire occasionnel, le niveau sonore du bruit ambiant mesuré est de ~ 85 dB re $1\mu\text{Pa}$ (MERCHANT et al., 2014). CHARIFI et al. (2017) dans une étude récente ont rapporté un niveau sonore de 90 dB re $1\mu\text{Pa}$ dans le bassin d'Arcachon. Le niveau sonore enregistré dans le port de Santander est donc 20 dB supérieur à celui enregistré dans des zones avec une faible activité maritime.

Les niveaux sonores recalculés des navires en transit dans le port de Santander étaient comparables à ceux mesurés dans des études précédentes. Le niveau de pression acoustique enregistré à Santander était compris entre 120 et 146 dB re $1\mu\text{Pa}$ avec un niveau sonore à la source estimé de 171 dB re $1\mu\text{Pa}@1\text{m}$. HATCH et al. (2008) ont enregistré dans une région où les navires de commerce représentent 82 % des navires en transit, des niveaux sonores reçus compris entre 117 et 140 dB re $1\mu\text{Pa}$ dans une gamme de fréquence entre 71 et 141 Hz. Le niveau sonore à la source était estimé entre 158 et 186 dB re $1\mu\text{Pa}@1\text{m}$. Dans une autre étude, MERCHANT et al. (2012) ont rapporté des niveaux sonores reçus entre 92,8 et 148,6 dB re $1\mu\text{Pa}$ à Falmouth Bay l'une des voies maritimes les plus fréquentées au monde (MCQUINN et al., 2011).

Les niveaux de pression acoustique observés dans le port de Santander (120 – 146 dB

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE *MAGALLANA GIGAS* DANS LE PORT DE SANTANDER

re $1\mu\text{Pa}$) se situent dans la plage de puissance qui peut causer des changements comportementaux chez certains animaux marins. Les baleines à fanon présentent des réactions comportementales sous l'effet de niveaux sonores de l'ordre de 120 dB re $1\mu\text{Pa}$ (SOUTHALL et al., 2008). Les fréquences et les niveaux sonores émis par les bateaux coïncident également avec les gammes d'auditions chez plusieurs espèces de poisson (POPPER et HASTINGS, 2009). Les niveaux sonores générés peuvent masquer les communications entre individus (CODARIN et al., 2009 ; VASCONCELOS et al., 2007), causer des effets à long terme associés à un stress physiologique (WYSOCKI et al., 2006), produire un impact sur la croissance (PURSER et RADFORD, 2011) et masquer les bruits naturels d'origine biotique et abiotique (CHARIFI et al., 2017). Chez les huîtres, CHARIFI et al. (2017) ont rapporté une réaction comportementale significative lors de l'exposition des animaux à des niveaux sonores supérieurs à 122 dB re $1\mu\text{Pa}$ et à une vitesse d'accélération de particules égale à $0,02\text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$ (CHARIFI et al., 2017).

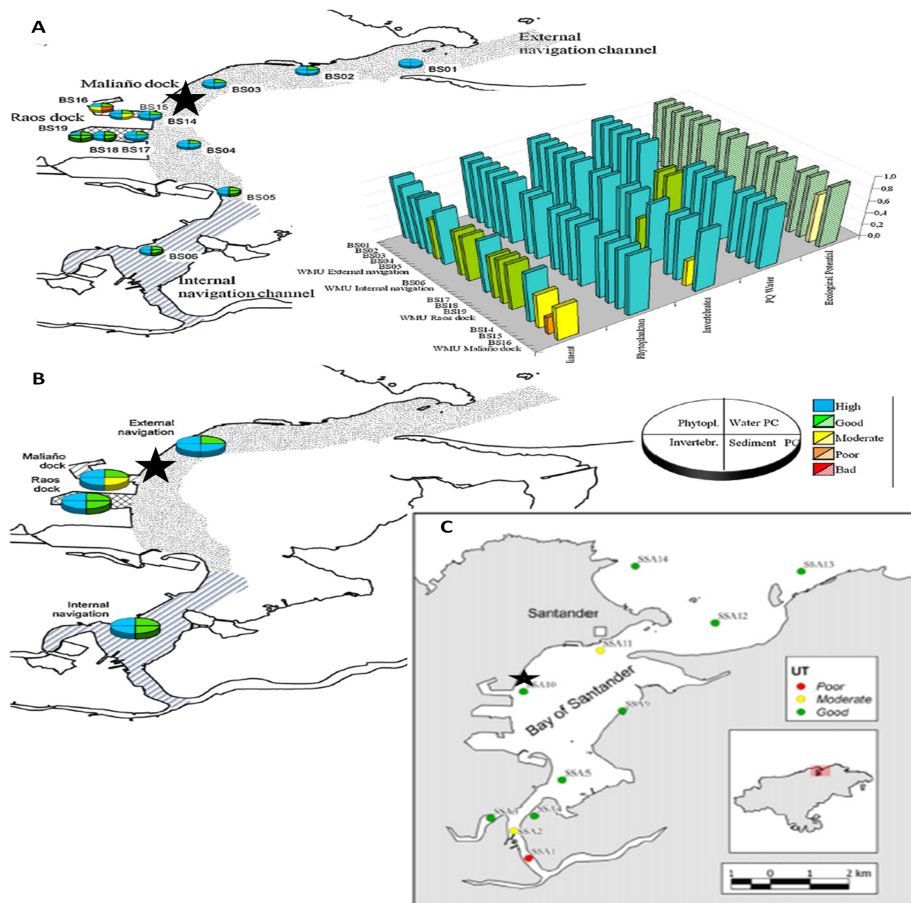


FIGURE 6.7 – Classement de la qualité de l'eau et des sédiments dans la baie de Santander suivant ONDIVIELA et al. (2013) (A et B) et RIAL et al. (2017) (C). Ce sont essentiellement les sédiments qui montrent un gradient de contamination. L'étoile indique l'emplacement des huîtres pour l'étude présente, 1,5 m au-dessus des sédiments.

La contamination chimique à Santander

La pollution sonore n'est pas le seul facteur de stress dans un port de commerce et un bassin industrialisé. Le faible taux de croissance chez les huîtres dans le port de Santander peut être causé aussi par divers facteurs chimiques. La qualité du milieu a été évaluée par différents travaux dans le port et la baie de Santander (Fig. 6.7). ONDIVIELA et al. (2013) passant en revue de multiples paramètres ont rapporté que les principaux signes de perturbation étaient détectés au niveau de la qualité des sédiments dans certaines zones du port. L'évaluation de la pollution marine dans la baie de Santander conduite par RIAL et al. (2017), et basé sur l'analyse d'éluutriats de sédiments, a mis l'accent sur un gradient de toxicité de l'intérieur vers l'extérieur de la baie. Les chercheurs ont analysé dans le sédiment les concentrations d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), produits de soins, plastifiants, triazines, les organophosphorés, les pesticides et les pesticides organochlorés. Les concentrations des substances mesurées étaient inférieures aux normes de qualité environnementale formulées dans la directive européenne 2013. Néanmoins, les bio-essais embryo-larvaires conduits dans cette étude ont abouti à conclure que les sédiments au niveau de l'emplacement des huîtres dans l'étude présente montraient de faibles niveaux de toxicité (figure 6.7). ONDIVIELA et al. (2013) ont souligné des problèmes au niveau des sédiments du dock Maliano proche de notre site d'étude (Fig. 6.7A). La baie de Santander est donc une source et on doit admettre un flux sortant de contaminants, et des concentrations qui ne peuvent être nulles dans l'eau où ont baigné les animaux étudiés même si elles sont faibles et inférieures aux limites de détection. Un cas bien documenté est celui du TBT. On sait que sur les bateaux de plus de 25 m, ce qui est le cas des cargos fréquentant le port de Santander, l'utilisation de tributylétains (TBT) est autorisée comme antifouling et sa présence est connue dans la Baie de Santander (HIGUERA-RUIZ et ELORZA, 2009 ; RUIZ et al., 2018). Ces auteurs ont rapporté localement des niveaux d'imposex au-dessus des normes de qualité environnementale (RUIZ et al., 2018). HIGUERA-RUIZ et ELORZA (2011), ont suggéré à Santander que le TBT pouvait être associé à une interruption de la croissance normale de l'huître en arrêtant la croissance longitudinale. La coquille devient anormalement épaisse réduisant ainsi le volume de la cavité palléale. Nous n'avons pas vu de différence de croissance significative entre les huîtres natives de Santander (2011 – 2012) et celles qui avaient été transplantées de San Vicente mais dans les deux cas la croissance était largement inférieure à celles des animaux d'Arcachon. Le TBT est bien sûr un candidat qui pourrait expliquer tout ou partie des observations présentes. Cependant, la majorité des observations rapportées ici correspondent à un tableau de symptômes bien particulier qui ont déjà été rapportés en laboratoire par CHARIFI et al. (2018) et que nous allons maintenant aborder.

Analyse comparée du comportement d'huîtres du port de Santander vis-à-vis d'huîtres dans le bassin d'Arcachon et d'huîtres originaires de San Vicente de la Barquera transplantées à Santander

Comportement valvaire et rythmes biologiques. Il a été montré récemment qu'une exposition en laboratoire à des niveaux sonores supérieurs à 150 dB re 1 μ Pa pendant 15 jours avait un effet répressif chez l'huître caractérisée par un ralentissement de l'activité valvaire, de la ventilation et de la croissance (CHARIFI et al., 2018). Dans le travail présent, des différences de comportement ont été observées entre les huîtres originaires du port de Santander et du bassin d'Arcachon. Les huîtres nées et vivants dans le port de Santander exprimaient des rythmes d'ouverture et de fermeture valvaire différents de celles des huîtres à Arcachon. À Arcachon des huîtres immergées en permanence présentent un rythme valvaire principalement entraîné par le rythme circatidal (τ : 12,4 h) et secondairement par le rythme circadien. Elles sont plus ouvertes à marée haute et plus fermées à marée basse et au début de la marée montante (TRAN et al., 2011). À Santander, les séquences d'ouverture et de fermeture des huîtres sont plus dispersées au cours de la journée. Un point remarquable est qu'à l'inverse des huîtres d'Arcachon, leur rythme était principalement circadien et moins circatidal (Fig. 6.3B). Cette observation a été renforcée par une expérience de transplantation en 2012 d'huîtres provenant d'un site de référence (San Vicente) mélangées à des huîtres natives de Santander. Le pourcentage de rythme caractérisant la puissance de leur rythme circatidal a été encore plus faible que celui des animaux natifs de Santander (Fig. 6.5B). Nous proposons que la pollution sonore pourrait expliquer cette observation. En effet CHARIFI et al. (2017) ont proposé que les capacités auditives de l'huître doivent leur permettre de percevoir divers bruits naturels issus de leur environnement comme le bruit des vagues, des courants et du tonnerre. Ils ont proposé que ces bruits naturels, associés à l'activité des marées, pourraient servir de zeitgeber permettant de synchroniser l'activité rythmique circatidale et préparer l'activité cyclique liée à la prise de nourriture et la digestion (MORTON, 1977). Le rythme circatidal des huîtres étant plus faible à Santander qu'à Arcachon, et celui d'huîtres transférées à Santander en provenance d'un milieu peu ou pas contaminé était encore plus faible, nous proposons que le bruit a eu un effet masquant sur la perception du son produit par le courant de la marée. Le bruit de fond sonore lié à l'activité industrielle du port limiterait la perception de ces zeitgebers naturels (courants et ressac) et pourrait être à l'origine de la diminution d'importance du rythme circatidal, favorisant le rythme circadien basé sur l'alternance jour/nuit. Par contre les variations de luminosité sont indépendantes de la pollution sonore. Le rythme circadien serait donc favorisé alors qu'il n'est pas lié au rythme de l'arrivée de plancton océanique. Si le phénomène est associé à un « mismatch » entre arrivée d'une nourriture riche de l'océan et une ou plusieurs étapes dans le processus d'alimentation de l'huître, comme la filtration, il pourrait participer à la diminution de croissance observée.

À côté de ce problème de diminution de fitness et mismatch potentiel, les bruits d'origine

anthropique ont déjà été cités pour leur effet sur la croissance chez des invertébrés marins. LAGARDÈRE (1982) a rapporté chez la crevette grise européenne élevée dans des bacs avec un bruit ambiant 30 dB supérieure à celui des contrôles une réduction importante de la croissance. CHARIFI et al. (2018) ont expliqué un faible taux croissance chez l'huître exposée au bruit de cargo par un effet répressif sur la prise alimentaire et la lipogenèse car les huîtres étudiées étaient moins actives, plus fermées pendant leur période d'activité diurne et leur activité ventilatoire, donc de filtration, était plus faible. À Santander, nos résultats montrent que les huîtres natives ou récemment transplantées sont moins actives et ont une plus faible durée d'ouverture journalière. Un effet répressant direct de la pollution sonore pourrait donc être un second mécanisme dans un environnement exposé pour expliquer la plus faible croissance enregistrée dans ces conditions.

L'altération de la fonction de reproduction

Finalement, on a observé que 100 % des huîtres transplantées depuis la Ria de San Vicente dans la Baie de Santander - qui avaient été choisies en fonction de leur taille sans a priori sur le sexe - a pondu, présentant un comportement d'huître femelle. Le constat est inattendu et à notre connaissance totalement original car on aurait pu s'attendre soit à un pourcentage plus équilibré, tendant vers 50/50 chez des animaux de cette taille âgés de 1,5-2 ans (BERNARD et al., 2016), soit à une masculinisation liée à la présence de TBT à Santander (RUIZ et al., 2018). Les phénomènes d'Imposex sont bien connus en particulier en présence de perturbateurs endocriniens comme ceux qui sont présents dans les eaux de la Baie de Santander (RIAL et al., 2017 ; RUIZ et al., 2018). Ce sexe ratio de 100 % de phénotype femelle lors de la ponte chez les San Vicente transplantées à Santander peut être dû au hasard. Mais il pourrait aussi être dû à un basculement ou une accélération du passage du phénotype mâle à femelle induit par un ou plusieurs facteurs environnementaux. En effet, chez *M. gigas* le pourcentage de phénotypes femelles évolue au cours du temps. Chez des animaux de 1 an, on trouve 37 % de femelles (ALLEN, 1988 ; GUO et al., 1998), à 2 ans le pourcentage monte à 55 % pour atteindre 75 % à 3 ans. À la naissance il y a des mâles qui ne peuvent pas changer de sexe (MF) et des femelles (FF) qui sont d'abord mâles à l'état juvénile et peuvent changer de sexe les années suivantes (COE, 1932 ; GUO et al., 1998). *M. gigas* est hermaphrodite à l'état embryonnaire (COE, 1932) et GUO et al. (1998) proposent dans une logique évolutive que l'absence de mutations précoces causant le changement vers le sexe femelle qui expliquerait le sexe ratio décrit plus haut. Nous proposons, si le hasard n'est pas responsable des 100 % d'individus femelles observées, que les conditions environnementales du Port de Santander ont pu provoquer les mutations responsables de ces observations et le basculement vers 100 % d'huîtres femelles.

Un dernier fait intéressant est qu'en 2011, alors qu'il n'y avait que des animaux originaires de Santander dans la poche de Valvométrie HFNI (0,5 m²), aucune bouffée de contractions caractérisant un comportement de ponte n'avait été observée parmi les huîtres. Par

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE *MAGALLANA GIGAS* DANS LE PORT DE SANTANDER

contre, en 2012, alors que toutes les huîtres provenant de San Vicente pondaient, 4 comportements de ponte ont été enregistrés chez les huîtres de Santander. Nous proposons que ce soit la présence d'animaux prêt à pondre chez les animaux transplantés de San Vicente qui a pu déclencher ces comportements chez les huîtres natives de Santander. Le phénomène est d'autant plus intéressant que le fait de trouver des huîtres sur les poutres du quai où les enregistrements ont été réalisés démontre qu'il existe une reproduction de *M. gigas in situ*. GALTSOFF (1964) a rapporté en laboratoire deux mécanismes d'expulsion des œufs chez l'huître. L'un est réalisé avec la série de contractions illustrée sur la Fig. 6.6. Dans cette situation les œufs sont éjectés avec force de la cavité palléale dans la masse d'eau et d'après lui peuvent voyager sur de longues distances dans les courants (Fig. 2090 in GALTSOFF, 1964). Avec les contractions et une éjection forte et puissante, Galtsoff considère que les chances de fertilisation et survie sont beaucoup plus importantes. L'autre mécanisme associe la sortie des œufs au courant ventilée exhalent sans contraction. GALTSOFF (1964) rapporte que dans cette situation les œufs tombent à proximité de la femelle et que seul un faible pourcentage serait alors fertilisé avec donc une chance de se développer. L'absence ou la présence de ces contractions jouerait donc un rôle majeur bien que subtil dans le succès de la reproduction.

6.2.5 Conclusion

Un port est un milieu complexe où de multiples stress sont présents pour la faune aquatique. Nous avons fait dans ce travail un focus particulier sur ce que pourrait être l'impact potentiel de la pollution sonore, une des composantes particulières de ces milieux. Nous proposons de la considérer comme une composante majeure. En effet, nous avons retrouvé chez l'huître *M. gigas*, qu'elle soit native de port de Santander ou transplantée depuis un milieu de référence peu ou pas contaminé, des indices de perturbations spécifiques du bruit caractérisés précédemment en laboratoire. L'ensemble de nos observations suggère que la pollution sonore pourrait diminuer le fitness des animaux en modifiant la hiérarchie de leurs rythmes biologiques et en ayant un effet répressif sur leur activité de nutrition. Nous avons également mis en évidence des effets subtils et originaux sur la reproduction de l'huître dans un milieu portuaire : absence de contractions associées à la déposition chez l'huître femelle dans un cas et imposition possible d'un sexe femelle dans un autre. Ces observations demandent bien sûr à être confirmées par de futurs travaux mais le passage à l'état femelle de tout le groupe transplanté est d'autant plus surprenant qu'habituellement ce genre de phénomène peut s'observer quand des huîtres arrivent dans un milieu exceptionnellement riche en nourriture. On considère alors que c'est une adaptation de la population favorable à sa dynamique. On admet d'ailleurs couramment que le phénotype chez l'huître est très plastique (LANGO-REYNOSO et al., 1999). Le fait surprenant ici est qu'on ne peut pas dire que le milieu où nous avons suivi les huîtres dans le port de Santander soit particulièrement favorable puisque la croissance des huîtres, natives ou transplantées était largement inférieure à la croissance dans le Bassin d'Arcachon

pris comme référence. Un ou plusieurs autres facteurs, inconnus, mais parmi lesquels la pollution sonore est un candidat, a dû intervenir.

En l'état actuel, attribuer l'origine de ces derniers effets à une forme de stress plutôt qu'à une autre est impossible mais tout cela souligne la puissance de l'analyse comportementale et le besoin urgent de développer des techniques novatrices pour l'observation *in situ* afin de mieux comprendre notre impact sur le milieu.

6.2.6 Références

Allen, S. (1988). "Reproductive sterility of triploid shellfish and fish." Thèse de doct. University of Washington, Seattle.

Andrade, H., J.-C. Massabuau, S. Cochrane, P. Ciret, D. Tran, M. Sow et L. Camus (2016). "High frequency non-invasive (HFNI) bio-sensors as a potential tool for marine monitoring and assessments". In : *Frontiers in Marine Science* 3, p. 187.

Andrew, R. K., B. M. Howe, J. A. Mercer et M. A. Dzieciuch (2002). "Ocean ambient sound : comparing the 1960s with the 1990s for a receiver off the California coast". In : *Acoustics Research Letters Online* 3.2, p. 65-70.

Au, W. W., R. W. Floyd, R. H. Penner et A. E. Murchison (1974). "Measurement of echolocation signals of the Atlantic bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus* Montagu, in open waters". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 56.4, p. 1280-1290.

Au, W. et M Green (2000). "Acoustic interaction of humpback whales and whale watching boats". In : *Marine Environmental Research* 49.5, p. 469-481.

Auby, I., H. Oger- Jeanneret, G. Trut, F. Ganthy, L. Rigouin, D. Casamajor, F. Sanchez, M. Lissardy, M. Fortune, S. Manach et al. (2018). Classement des masses d'eau du littoral Manche-Atlantique sur la base de l'indicateur DCE Angiospermes. Rapp. tech. Ifremer.

Bernard, I, J.-C. Massabuau, P Ciret, M Sow, A. Sottolichio, S. Pouvreau et D Tran (2016). "In situ spawning in a marine broadcast spawner, the Pacific oyster *Crassostrea gigas* : timing and environmental triggers". In : *Limnology and Oceanography* 61.2, p. 635-647.

Buscaino, G., F. Filiciotto, G. Buffa, A. Bellante, V. Di Stefano, A. Assenza, F. Fazio, G. Caola et S. Mazzola (2010). "Impact of an acoustic stimulus on the motility and blood parameters of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)" In : *Marine Environmental Research* 69.3, p. 136-142.

Celi, M., F. Filiciotto, M. Vazzana, V. Arizza, V. Maccarrone, M. Ceraulo, S. Mazzola et G. Buscaino (2015). "Shipping noise affecting immune responses of European spiny lobster (*Palinurus elephas*)". In : *Canadian Journal of Zoology* 93.2, p. 113-121.

Charifi, M., M. Sow, P. Ciret, S. Benomar et J.-C. Massabuau (2017). "The sense of hearing in the Pacific oyster, *Magallana gigas*". In : *PloS One* 12.10, e0185353.

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE
MAGALLANA GIGAS DANS LE PORT DE SANTANDER

Charifi, M., A. Miserazzi, M. Sow, M. Perrigault, P. Gonzalez, P. Ciret, S. Benomar et J.-C. Massabuau (2018). "Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas*". In : PloS One 13.4, e0194174.

Codarin, A., L. E. Wysocki, F. Ladich et M. Picciulin (2009). "Effects of ambient and boat noise on hearing and communication in three fish species living in a marine protected area (Miramare, Italy)". In : Marine Pollution Bulletin 58.12, p. 1880-1887.

Coe, W. R. (1932). "Sexual phases in the American oyster (*Ostrea virginica*)". In : The Biological Bulletin 63.3, p. 419-441.

Council, N. R. et al. (1994). Low-frequency sound and marine mammals : Current knowledge and research needs. National Academies Press.

Council, N. R. et al. (2005). Marine mammal populations and ocean noise : determining when noise causes biologically significant effects. National Academies Press.

Coz, A, O Rodríguez-Obeso, R Alonso-Santurde, M Alvarez-Guerra, A Andrés, J. Viguri, D Mantzavinos et N Kalogerakis (2008). "Toxicity bioassays in core sediments from the Bay of Santander, northern Spain". In : Environmental Research 106.3, p. 304-312.

De Soto, N. A., N. Delorme, J. Atkins, S. Howard, J. Williams et M. Johnson (2013). "Anthropogenic noise causes body malformations and delays development in marine larvae". In : Scientific Reports 3, p. 2831.

Ellers, O. (1995). "Discrimination among wave-generated sounds by a swash-riding clam". In : The Biological Bulletin 189.2, p. 128-137.

Galtsoff, P. S. (1938). "Physiology of reproduction of *Ostrea virginica* : II. Stimulation of spawning in the female oyster". In : The Biological Bulletin 75.2, p. 286-307.

Glé, C., Y. Del Amo, B. Sautour, P. Laborde et P. Chardy (2008). "Variability of nutrients and phytoplankton primary production in a shallow macrotidal coastal ecosystem (Arcachon Bay, France)". In : Estuarine, Coastal and Shelf Science 76.3, p. 642-656.

Guo, X., D. Hedgecock, W. K. Hershberger, K. Cooper et S. K. A. Jr (1998). "Genetic determinants of protandric sex in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg". In : Evolution 52.2, p. 394-402.

Hatch, L., C. Clark, R. Merrick, S. Van Parijs, D. Ponirakis, K. Schwehr, M. Thompson et D. Wiley (2008). "Characterizing the relative contributions of large vessels to total ocean noise fields : a case study using the Gerry E. Studts Stellwagen Bank National Marine Sanctuary". In : Environmental Management 42.5, p. 735-752.

Higuera-Ruiz, R et J Elorza (2009). "Biometric, microstructural, and high-resolution trace element studies in *Crassostrea gigas* of Cantabria (Bay of Biscay, Spain) : Anthropogenic and seasonal influences". In : Estuarine, Coastal and Shelf Science 82.2, p. 201-213.

Higuera-Ruiz, R et J Elorza (2011). "Shell thickening and chambering in the oyster

Crassostrea gigas : natural and anthropogenic influence of tributyltin contamination". In : Environmental Technology 32.6, p.583-591.

Hildebrand, J. A. (2009). "Anthropogenic and natural sources of ambient noise in the ocean". In : Marine Ecology Progress Series 395, p. 5-20.

Islam, M. S. et M. Tanaka (2004). "Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management : a review and synthesis". In : Marine Pollution Bulletin 48.7-8, p. 624-649.

Kampa, E et C Laaser (2009). "Heavily modified water bodies : information exchange on designation, assessment of ecological potential, objective setting and measures". In : Common implementation strategy workshop, Brussels Google Scholar.

Kight, C. R. et J. P. Swaddle (2011). "How and why environmental noise impacts animals : an integrative, mechanistic review". In : Ecology Letters 14.10, p. 1052-1061.

Lagardère, J. (1982). "Effects of noise on growth and reproduction of *Crangon crangon* in rearing tanks". In : Marine Biology 71.2, p. 177-185.

Lango-Reynoso, F., N. Devauchelle, M. LE Pennec et P.-J. Hatt (1999). "Elements of reproductive strategy in oysters, *Crassostrea gigas*, from the "Rade de Brest", France". In : Invertebrate Reproduction & Development 36.1-3, p. 141-144.

Le Berre, S, J Courtel et L Brigand (2010). "Etude de la fréquentation nautique du Bassin d'Arcachon". In : Rapport gouvernementale.

Loosanoff, V. L. et C. A. Nomejko (1949). "Growth of oysters, *Ostrea virginica*, during different months". In : The Biological Bulletin 97.1, p. 82-94.

McDonald, J., S. Wilkens, J. Stanley et A. Jeffs (2014). "Vessel generator noise as a settlement cue for marine biofouling species". In : Biofouling 30.6, p. 741-749.

McDonald, M. A., J. A. Hildebrand et S. M. Wiggins (2006). "Increases in deep ocean ambient noise in the Northeast Pacific west of San Nicolas Island, California". In : The Journal of the Acoustical Society of America 120.2, p. 711-718.

McQuinn, I. H., V. Lesage, D. Carrier, G. Larrivée, Y. Samson, S. Chartrand, R. Michaud et J. Theriault (2011). "A threatened beluga (*Delphinapterus leucas*) population in the traffic lane : Vessel-generated noise characteristics of the Saguenay- St. Lawrence Marine Park, Canada". In : The Journal of the Acoustical Society of America 130.6, p. 3661-3673.

Merchant, N. D., M. J. Witt, P. Blondel, B. J. Godley et G. H. Smith (2012). "Assessing sound exposure from shipping in coastal waters using a single hydrophone and Automatic Identification System (AIS) data". In : Marine Pollution Bulletin 64.7, p. 1320-1329.

Merchant, N. D., E. Pirotta, T. R. Barton et P. M. Thompson (2014). "Monitoring ship noise to assess the impact of coastal developments on marine mammals". In : Marine Pollution Bulletin 78.1-2, p. 85-95.

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE *MAGALLANA GIGAS* DANS LE PORT DE SANTANDER

Merchant, N. D., K. M. Fristrup, M. P. Johnson, P. L. Tyack, M. J. Witt, P. Blondel et S. E. Parks (2015). "Measuring acoustic habitats". In : *Methods in Ecology and Evolution* 6.3, p. 257-265.

Morton, B. (1977). "The tidal rhythm of feeding and digestion in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg)". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 26.2, p. 135-151.

Myrberg Jr, A. A. (1990). "The effects of man-made noise on the behavior of marine animals". In : *Environment International* 16.4-6, p. 575-586.

Nedelec, S. L., A. N. Radford, S. D. Simpson, B. Nedelec, D. Lecchini et S. C. Mills (2014). "Anthropogenic noise playback impairs embryonic development and increases mortality in a marine invertebrate". In : *Scientific Reports* 4, p. 5891.

Neumann, D. (1978). "Entrainment of a semilunar rhythm by simulated tidal cycles of mechanical disturbance". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 35.1, p. 73-85.

Ondiviela, B., A. G. Gómez, A. Puente et J. A. Juanes (2013). "A pragmatic approach to define the ecological potential of water bodies heavily modified by the presence of ports". In : *Environmental Science and Policy* 33, p. 320-331.

Payton, L., M. Sow, J.-C. Massabuau, P. Ciret et D. Tran (2017). "How annual course of photoperiod shapes seasonal behavior of diploid and triploid oysters, *Crassostrea gigas*". In : *PloS One* 12.10, e0185918.

Peng, C., X. Zhao, S. Liu, W. Shi, Y. Han, C. Guo, J. J. iang, H. Wan, T. Shen et G. Liu (2016). "Effects of anthropogenic sound on digging behavior, metabolism, Ca²⁺/Mg²⁺ ATPase activity, and metabolism-related gene expression of the bivalve *Sinonovacula constricta*". In : *Scientific Reports* 6, p. 24266.

Petrovic, S, E Dalberg, R. Lennartsson et L Persson (2008). "Analysis of underwater acoustic and electric noise in the port of Gothenburg". In : *OCEANS 2008. IEEE*, p. 1-5.

Picciulin, M., L. Sebastianutto, A. Codarin, A. Farina et E. A. Ferrero (2010). "In situ behavioural responses to boat noise exposure of *Gobius cruentatus* (Gmelin, 1789; fam. Gobiidae) and *Chromis chromis* (Linnaeus, 1758; fam. Pomacentridae) living in a Marine Protected Area". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 386.1-2, p. 125-132.

Popper, A. N. et M. Hastings (2009). "The effects of anthropogenic sources of sound on fishes". In : *Journal of Fish Biology* 75.3, p. 455-489.

Popper, A. N., R. R. Fay, C. Platt et O. Sand (2003). "Sound detection mechanisms and capabilities of teleost fishes". In : *Sensory processing in aquatic environments*. Springer, p. 3-38.

Popper, A. N., M. E. Smith, P. A. Cott, B. W. Hanna, A. O. MacGillivray, M. E. Austin et D. A. Mann (2005). "Effects of exposure to seismic airgun use on hearing of three fish species". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 117.6, p. 3958- 3971.

Potter, J. et E. Delory (1998). "Noise sources in the sea and the impact for those who live there". In : *Acoustics and Vibrations, Asia* 98.

Purser, J. et A. N. Radford (2011). "Acoustic noise induces attention shifts and reduces foraging performance in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)". In : *PLoS One* 6.2, e17478.

Rial, D., V. M. León et J. Bellas (2017). "Integrative assessment of coastal marine pollution in the Bay of Santander and the Upper Galician Rias". In : *Journal of Sea Research* 130, p. 239-247.

Richardson, W. J., C. R. Greene Jr, C. I. Malme et D. H. Thomson (2013). *Marine mammals and noise*. Academic press.

Romano, T., M. Keogh, C Kelly, P Feng, L Berk, C. Schlundt, D. Carder et J. Finneran (2004). "Anthropogenic sound and marine mammal health : measures of the nervous and immune systems before and after intense sound exposure". In : *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61.7, p. 1124-1134.

Ross, D. (2005). "Ship sources of ambient noise". In : *IEEE Journal of Oceanic Engineering* 30.2, p. 257-261.

Ruiz, J. M., B. Carro, N. Albaina, R. Barreiro, D. Rial et J. Bellas (2018). "Extended imposex monitoring in N Atlantic Spain confirms punctual attainment of European environmental objectives for TBT". In : *Marine Pollution Bulletin* 126, p. 462-466.

Sarà, G, J. Dean, D d'Amato, G Buscaino, A Oliveri, S Genovese, S Ferro, G Buffa, M Lo Martire et S Mazzola (2007). "Effect of shipping traffic on behaviour of bluefin tuna *Thunnus thynnus*". In : *Marine Ecology Progress Series* 331, p. 243-253.

Scargle, J. D. (1982). "Studies in astronomical time series analysis. II Statistical aspects of spectral analysis of unevenly spaced data". In : *The Astrophysical Journal* 263, p. 835-853.

Scholik, A. R. et H. Y. Yan (2001). "Effects of underwater noise on auditory sensitivity of a cyprinid fish". In : *Hearing Research* 152.1-2, p. 17-24.

Schwartzmann, C., G. Durrieu, M. Sow, P. Ciret, C. E. Lazareth et J.-C. Massabuau (2011). "In situ giant clam growth rate behavior in relation to temperature : A one-year coupled study of high-frequency noninvasive valvometry and sclerochronology". In : *Limnology and Oceanography* 56.5, p. 1940-1951.

Slabbekoorn, H., N. Bouton, I. van Opzeeland, A. Coers, C. ten Cate et A. N. Popper (2010). "A noisy spring : the impact of globally rising underwater sound levels on fish".

6.2. ÉTUDE COMPARÉE DE DIFFÉRENTS TRAITS DE VIE DE L'HUÎTRE
MAGALLANA GIGAS DANS LE PORT DE SANTANDER

In : Trends in Ecology & Evolution 25.7, p. 419-427.

Solan, M., C. Hauton, J. A. Godbold, C. L. Wood, T. G. Leighton et P. White (2016). "Anthropogenic sources of underwater sound can modify how sediment-dwelling invertebrates mediate ecosystem properties". In : Scientific Reports 6, p. 20540.

Southall, B. L., A. E. Bowles, W. T. Ellison, J. J. Finneran, R. L. Gentry, C. R. Greene Jr, D. Kastak, D. R. Ketten, J. H. Miller, P. E. Nachtigall et al. (2008). "Marine mammal noise-exposure criteria : initial scientific recommendations". In : Bioacoustics 17.1-3, p. 273-275.

Sow, M., G. Durrieu, L. Briollais, P. Ciret et J.-C. Massabuau (2011). "Water quality assessment by means of HFNI valvometry and high-frequency data modeling". In : Environmental Monitoring and Assessment 182.1-4, p. 155-170.

Sun, Y., Y. Song, J. Zhao, J. Chen, Y. Yuan, S. Jiang et D. Zhang (2001). "Effect of drilling noise and vibration on growth of carp (*Cyprinus carpio*) by cut-fin marking method." In : Marine Fisheries Research/Haiyang Shuichan Yanjiu. Qingdao 22.1, p. 62-68.

Tasker, M., M Amundin, M Andre, A Hawkins, W Lang, T Merck, A Scholik- Schlomer, J Teilmann, F Thomsen, S Werner et al. (2010). "Marine Strategy Framework Directive Task Group 11 Report Underwater noise and other forms of energy". In : Report No. EUR 24341.

Thomas, J. A., R. A. Kastelein et F. T. Awbrey (1990). "Behavior and blood catecholamines of captive belugas during playbacks of noise from an oil drilling platform". In : Zoo Biology 9.5, p. 393-402.

Vasconcelos, R. O., M. C. P. Amorim et F. Ladich (2007). "Effects of ship noise on the detectability of communication signals in the Lusitanian toadfish". In : Journal of Experimental Biology 210.12, p. 2104-2112.

Wale, M. A., S. D. Simpson et A. N. Radford (2013a). "Noise negatively affects foraging and antipredator behaviour in shore crabs". In : Animal Behaviour 86.1, p. 111-118.

Wale, M. A., S. D. Simpson et A. N. Radford (2013b). "Size-dependent physiological responses of shore crabs to single and repeated playback of ship noise". In : Biology Letters 9.2, p. 20121194.

Weilgart, L. S. (2007). "The impacts of anthropogenic ocean noise on cetaceans and implications for management". In : Canadian Journal of Zoology 85.11, p. 1091-1116.

Wille, P (1986). "3.2. 6.3-4 Shallow-water transmission loss, Fluctuation of transmitted sound". In : Subvolume A. Springer, p. 338-348.

Wysocki, L. E., J. P. Dittami et F. Ladich (2006). "Ship noise and cortisol secretion in European freshwater fishes". In : Biological Conservation 128.4, p. 501-508.

6.3 Discussion - Conclusions

Les résultats présentés dans ce chapitre indiquent la présence de points communs entre le comportement des huîtres étudiées dans un port de commerce et celui des huîtres exposées pendant 14 jours au bruit en laboratoire (Chapitre 5). En effet, comme au laboratoire (chapitre 5), les huîtres vivant dans le bruit du port de Santander ont présenté de plus faibles durées d'ouvertures, de plus faibles amplitudes d'ouvertures et un faible nombre de micro-fermetures par rapport à des huîtres immergées dans un milieu moins bruyant comme le Bassin d'Arcachon pris comme référence. Le taux de croissance était aussi significativement plus faible qu'à Arcachon. Ces indices de perturbation, observés dans le chapitre 5, sont cohérents avec ce qu'on comprend aujourd'hui de l'effet d'une exposition au bruit.

Dans le port de Santander, les huîtres montraient un rythme principalement circadien ce qui est contraire à ce qui a été rapporté précédemment dans le Bassin d'Arcachon (TRAN et al., 2011) alors que les situations de marée (amplitude et type) sont très semblables. Dans le bassin d'Arcachon, dans des conditions subtidales, il a été rapporté que les huîtres présentent un rythme principalement circatidal alors que le rythme circadien est moins prononcé (TRAN et al., 2011). Nous avons suggéré dans le chapitre 4 que le bruit des courants et du ressac pourrait jouer le rôle d'un zeitgeber ou d'un synchronisateur circatidal naturel mais aussi que la pollution sonore pourrait cacher ce bruit naturel et désynchroniser les animaux. Les observations rapportées dans ce chapitre 6 vont dans ce sens. On va ici vers l'idée que le bruit ambiant à Santander, qui est largement supérieur à celui observé à Arcachon et dans des régions à faible trafic maritime, pourrait en effet masquer les bruits d'origine naturelle qui peuvent jouer un rôle de zeitgeber pour synchroniser le rythme circatidal. Un faible entraînement du rythme tidal de l'activité valvaire par la marée, qui est lié à l'arrivée du plancton océanique, ne favoriserait pas la prise de nourriture et par conséquent aurait à un certain niveau un impact sur le taux de croissance de l'huître. Le tout participerait donc à la faible croissance que nous avons observée dans ce port. La question qui se pose est de savoir qu'elle est le niveau sonore minimal qui est capable de masquer la perception du son émis par le courant généré par la marée ? TONOLLA et al. (2009) a rapporté qu'un courant d'une vitesse de $0,4 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ pourrait générer un niveau de pression sonore de 120 dB. Il apparaît évident que le niveau sonore d'un courant avec ces mêmes propriétés physiques générées au niveau des huîtres peut être masqué par le bruit de fond (121 dB, mouvement de particule non mesuré) dans le port de Santander.

Un résultat particulièrement original dans l'étude du comportement des huîtres à Santander est l'altération observée des pontes. Nous rapportons un basculement à l'état femelle de toutes les huîtres venant de San Vicente et l'absence de contractions révélatrices de ponte en 2011 chez les huîtres natives de Santander, lorsqu'elles étaient seules, sans huître

de San Vicente matures ou pondant à côté d'elles. Aucune étude n'a pour l'instant rapporté un effet visible du bruit sur la reproduction chez les bivalves. L'effet répressant du bruit sur l'activité valvaire et sur la prise de nourriture pourrait éventuellement avoir eu un impact sur le budget énergétique et pourrait expliquer un faible succès reproductif mais on aurait dû aussi le voir chez les San Vicente qui venaient de passer plusieurs mois à Santander. Toute conclusion est pour l'instant impossible mais l'observation ouvre un champ d'investigation important et très intéressant.

Il est évident que dans un port des activités diverses produisent différents facteurs de stress qui peuvent interagir les uns avec les autres en ayant des effets additifs ou non additifs et/ou avoir des effets multipliés ou réduits. Les analyses chimiques réalisées dans le port de Santander suggèrent des concentrations de contaminants inférieures aux normes de qualité environnementale formulées dans la directive européenne (ONDIVIELA et al., 2013 ; RIAL et al., 2017). Néanmoins, la présence de TBT, un agent largement présent dans les milieux portuaires, à de très faibles doses peut avoir des effets critiques sur les bivalves (HANANA et al., 2014 ; INOUE et al., 2004 ; PARK et al., 2012). Le taux de croissance réduit observé chez les huîtres de Santander et l'altération de la reproduction pourraient être due en partie au TBT (HANANA et al., 2014). Mais le plus probable est qu'on ait des effets cocktails puisque divers contaminants sont présents. L'interaction entre le bruit et le TBT pourrait aussi avoir un effet additif et induire un état de stress plus prononcé chez les animaux. De telles conclusions doivent être vérifiées par des tests expérimentaux appropriés pour évaluer l'ampleur de l'effet de l'interaction entre deux facteurs de stress produit par une même source qui est le trafic maritime.

Par contre ce qui semble clair à Santander est qu'on peut parler de contaminants chimiques à l'état de traces ou d'ultra traces (ONDIVIELA et al., 2013 ; RIAL et al., 2017). Mais en ce qui concerne la pollution sonore, l'adjectif trace n'est certainement pas le plus adapté. La pollution sonore est belle et bien présente à un niveau fort et nous avons montré dans ce travail, en prenant l'huître du Pacifique comme exemple d'invertébré, qu'elle pouvait être parfaitement perçue. En tant que telle, on doit donc la prendre en compte dans les analyses écotoxicologiques ce qui amène à un nouveau niveau de complexité qu'il faudra intégrer dans l'avenir.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES

7.1 Discussion générale et conclusions

Les travaux présentés dans ce manuscrit avaient pour but d'étudier les effets d'une pollution sonore sur un bivalve marin par une approche d'abord mécanistique (qu'est-ce que l'huître peut entendre?), puis par une approche d'écotoxicologie et écophysiologie en laboratoire de durée moyenne (14 j) et finalement par une approche d'éthologie dans un port de commerce (2 x 1 an).

Peu d'études se sont intéressées à l'effet du bruit sur cette embranchement d'animaux malgré leur importance dans la biodiversité. Et en général ces recherches se sont focalisées sur l'impact qu'a le bruit sur le comportement à très court terme en utilisant des durées d'expositions généralement de l'ordre d'une dizaine de minutes exceptionnellement jusqu'à 7 j (SOLAN et al., 2016). Ce type d'approche ne permet pas d'aboutir à des conclusions sur l'impact du bruit à plus long terme. Pour essayer de combler le manque d'informations dans ce domaine, notre choix s'est porté sur l'étude de l'effet de la pollution sonore sur l'huître *Magallana gigas*, un bivalve filtreur largement distribué géographiquement, très exploité et qui est couramment utilisé comme bio-indicateur de la qualité du milieu marin. Les résultats obtenus lors des différentes expériences sont totalement originaux, tant aux niveaux écophysiologiques et éthologiques par la compréhension du sens de l'audition chez ce bivalve, qu'aux niveaux écotoxicologiques par l'étude des effets que peut avoir la pollution sonore.

Nos expériences ont permis de déterminer la gamme de fréquences et les seuils de sensibilité chez l'huître *M. gigas*. Par ailleurs, la caractérisation du sens de l'audition chez l'huître a permis d'identifier les sons qui peuvent jouer un rôle dans sa vie et en même temps de connaître les sources sonores d'origine anthropiques qui peuvent l'affecter dans

son habitat. Également, les résultats obtenus apportent un éclairage nouveau sur l'effet de la pollution sonore sur la physiologie de l'huître et de son interaction avec une contamination métallique (ou probablement tout autre type de contamination) présente dans la colonne d'eau. Finalement, les résultats du laboratoire ont été renforcés par une étude *in situ* du comportement des huîtres et de leur croissance dans un milieu à trafic maritime élevé, le port de Santander.

7.1.1 Sens de l'audition chez l'huître *Magallana gigas*

Quelles sont les capacités auditives de l'huître ?

Dans les recherches portant sur l'étude de l'audition chez les animaux marins, peu de courbes de sensibilité au son sont disponibles chez les invertébrés (BREITHAUPT, 2002 ; ROBERTS et al., 2016). Il était évident pour nous qu'une caractérisation du sens de l'audition chez l'huître est d'une grande importance avant la réalisation d'une étude portant sur les effets de la pollution sonore. Nos résultats montrent que l'huître perçoit des fréquences comprises entre 10 et 1000 Hz avec une forte sensibilité à des fréquences plus basses entre 10 et 200 Hz. De plus notre approche éthologique a permis de montrer que le temps de réaction des huîtres était plus rapide et l'amplitude de réponse plus importante dans cette gamme de fréquence ce qui reflète son importance particulière pour l'huître. Finalement, il est fort probable que l'huître puisse percevoir des fréquences inférieures à 10 Hz. Notre dispositif expérimental ne permettait pas de générer ces fréquences avec un niveau sonore suffisamment fort par rapport au bruit de fond. Des études comportementales réalisées sur des crustacées ont pu mettre en évidence leur sensibilité à des fréquences avoisinant les 5 Hz (BREITHAUPT, 2002 ; ROBERTS et al., 2016). Nos résultats (voir la Figure 3A du chapitre 4) indiquent une réaction maximale à 10 Hz ce qui laisse présager d'une probable perception du son à des fréquences plus basses.

Les tests réalisés dans ce travail nous ont permis d'estimer les seuils de sensibilité dans la gamme de fréquence audible chez l'huître. La courbe de sensibilité obtenue est sous forme d'une courbe dose/réponse associant la réaction comportementale aux différents niveaux sonores appliqués. Il nous paraît clair au vu de la technique employée que les seuils de sensibilité sont sous-estimés. En effet, nous avons choisi comme indicateur le changement de comportement valvaire. Cette réaction au son peut être apparentée à une réponse réflexe nociceptive pour protéger le corps mou d'un possible dommage. Il est donc excessivement probable que les huîtres sont sensibles à des niveaux sonores plus bas que ceux rapportés ici. Ils pourraient probablement être approchés à l'aide de mesure d'électrophysiologie. Cette approche est impossible à appliquer chez une huître vigile dont on veut respecter l'intégrité et le comportement naturel. C'est pour cette raison première que la mesure du comportement est considérée comme étant la méthode la plus fiable pour l'étude du sens de l'audition chez l'animal aquatique (LADICH et FAY, 2013).

À la lumière de nos résultats, on a pu comparer les capacités auditives chez l'huître

avec celles rapportées chez certains poissons et invertébrés marins et on a observé de nombreuses similitudes comme l'a illustré la figure 4.1. Effectivement, la majorité des poissons ainsi que des invertébrés étudiés jusqu'à présent sont connus par leur capacité à détecter des fréquences basses (BREITHAUPT, 2002 ; POPPER et HIGGS, 2009 ; ROBERTS et al., 2016). Néanmoins, certains poissons et céphalopodes paraissent être plus sensibles aux sons que les huîtres (LADICH et FAY, 2013 ; PACKARD et al., 1990). Les études réalisées sur les crustacées indiquent des seuils de sensibilité proches de ceux mesurés chez l'huître (ROBERTS et al., 2016 ; SALMON, 1971). Chez les bivalves, la moule, la telline et le pétoncle perçoivent la même gamme de fréquences que celle rapporté ici (ELLERS, 1995 ; ROBERTS et al., 2015 ; ZHADAN, 2005). Toutefois, une comparaison des seuils de sensibilité entre espèces est à faire avec précaution. Les seuils obtenus sont largement dépendants du procédé expérimental suivi et de la composante du son qui est pertinente pour l'animal.

Pour les crustacées comme pour les céphalopodes, on pense que le statocyste est l'organe impliqué dans la détection du son (EDMONDS et al., 2016 ; KAIFU et al., 2008 ; WILLIAMSON, 1988). Chez les huîtres, cet organe est présent à l'état larvaire (ELLIS et KEMPF, 2011) et on a rapporté sa présence chez diverses formes adultes (Chapitre 2, Section 2.4.3). Des mesures d'électrophysiologie au niveau du nerf d'un statocyste de pieuvre indiquent une sensibilité de cet organe à des vibrations dans la gamme de fréquence entre 10 et 200 Hz (WILLIAMSON, 1988). Ces mesures sont en accord avec la gamme de fréquence perçu par l'huître dans l'étude présente.

D'autres organes candidats sont au contact de l'eau. L'organe abdominal (ZHADAN, 2005) et l'organe palléal (GALTSOFF, 1964), qui ne sont probablement qu'un seul et même organe d'après la position sur le muscle adducteur décrite dans les 2 articles, et le « nouvel organe palléal » de COLE (1938) sont des candidats parfaits pour la détection des mouvements de particules.

C'est donc un ensemble, statocystes - organe abdominal ou palléal - nouvel organe palléal, dont les éléments sont localisés dans le milieu intérieur ou au contact de l'eau, qui doit permettre aux mollusques bivalves de percevoir les vibrations sonores.

Jusqu'à quelle distance l'huître peut-elle percevoir un son ?

Lors de sa propagation dans le milieu marin, le son est dégradé de diverses manières. Au fur et à mesure qu'il se propage sur une large surface, son intensité diminue en fonction de la distance. Dans des conditions de champ acoustique libre (loin de surface réfléchissante), l'intensité du son diminue suivant la loi sphérique de propagation. Dans ce cas, l'intensité du son décroît de 6 dB à chaque doublement de distance. Dans des eaux peu profondes (200 m), le son peut être réfléchi par la surface et par le fond marin. La théorie prédit alors que le son est distribué uniformément sur la surface d'un cylindre. Dans ce cas, l'intensité du son décroît de 3 dB à chaque doublement de distance (Chapitre 2).

Si le son est supposé se propager sous forme d'onde plane (loin de toute surface réfléchissante

qui peut déformer la forme de l'onde), la relation entre la pression et le mouvement de particule est exprimé par la formule

$$P = \rho c u \quad (7.1)$$

Lors de l'expérience qui nous a permis de caractériser le sens de l'audition chez l'huître, nous avons été en mesure de déterminer les seuils de sensibilité en fonction du pourcentage de réponse d'un groupe d'huître. L'énergie acoustique minimale requise pour déclencher une réponse était de $0,02 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$ à 122 dB re $1 \mu\text{Pa}$ pour des fréquences allant de 10 à 80 Hz. À l'aide de la formule précédente, on peut estimer la valeur de la vitesse de particules correspondant au niveau de pression acoustique généré par diverses sources anthropiques dans l'océan. Étant donné que les seuils mesurés dans le chapitre 4 sont exprimés en accélération, la valeur de vitesse de particules estimée peut être convertie en accélération à l'aide de la formule

$$a = u 2\pi f \quad (7.2)$$

En prenant en compte la perte d'intensité de l'onde sonore lors de sa propagation dans le milieu (une perte de 3 dB par doublement de distance dans des eaux peu profondes), on peut estimer la distance jusqu'à laquelle l'huître peut détecter diverses sources de bruit (Figure 7.1). Par exemple, un cargo générant un niveau sonore de 182 dB re $1 \mu\text{Pa}$, pourrait provoquer un mouvement de particules et être détecté par ce mécanisme jusqu'à une distance estimée à 1 km. On voit d'ores et déjà que de très nombreuses huîtres le long de la zone côtière, ou tout invertébré ayant les capacités auditives d'une huître, vont pouvoir entendre ce cargo. La conséquence est que le bruit émis par ce cargo va pouvoir couvrir les sources naturelles du paysage sonore de nombreux animaux sur une très large surface.

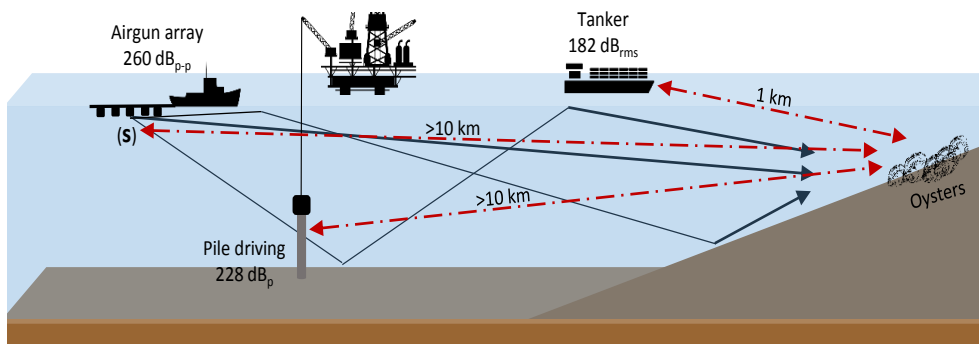


FIGURE 7.1 – Estimation de la distance maximale de détection chez l'huître *Magallana gigas*. (s) correspond à la source avec les flèches indiquant les chemins estimés de propagation de l'onde sonore dans un milieu intertidal.

Le calcul ci-dessus est théorique. Des mesures qui ont été réalisées *in situ* lors d'une

activité de battage de pieux, ont en fait indiqué des valeurs de vitesse de particules 1 à 10 fois supérieures à celles estimées par le biais de l'équation qui lie la pression et le mouvement de particule (CERAULO et al., 2016). Compte tenu de la complexité des interactions de l'onde sonore avec la surface et le fond marin (réverbération, ré-émission par mise en vibration au seuil de résonance, etc), une mesure directe du mouvement de particules, couplée à celle de la pression sonore pour avoir un tableau complet, reste la méthode la plus fiable.

Quel rôle pourrait avoir le son dans la vie des huîtres ?

Très peu d'informations sont disponibles sur le rôle que peut jouer le son dans la vie des mollusques bivalves. Les idées convergeaient jusqu'à présent vers l'absence de tout rôle en se basant sur l'ignorance de leurs capacités auditives et l'incapacité de ces animaux à produire du son de manière volontaire.

Cependant divers indices indiquaient un rôle potentiellement important du son dans plusieurs activités biologiques chez les bivalves marins. Par exemple, la telline, un bivalve qui est connu pour sa capacité à migrer avec les vagues montantes et descendantes dans les plages sableuses, utilise le son comme un outil pour le choix de la plus grosse vague qui lui permettrait de migrer le plus loin possible (ELLERS, 1995). Le niveau de réaction de la telline dépend du niveau sonore émis par la vague et cette activité suit un rythme circatidal donc participe à l'élaboration de ses rythmes biologiques. Egalement, des études avaient montré, ou fortement suggéré, que le son émanant des habitats marins tels que les récifs contiennent des informations utiles qui peuvent servir aux larves d'huîtres pour trouver des habitats satisfaisants pour se fixer (LILLIS et al., 2013).

Dans l'étude présente, nous proposons que le bruit généré par les courants de marée et les vagues puisse entraîner, ou participer à entraîner, le rythme circatidal de l'huître dans son environnement. En effet, le bruit généré par le courant est un son de fréquence basse (TONOLLA et al., 2009) qui est dans la gamme de fréquence et de puissance audible par les huîtres. Le rôle du son dans l'entraînement d'activités circatidales a déjà été mis en évidence chez certains animaux vivant dans la zone intertidale (ELLERS, 1995 ; NEUMANN, 1978). Suivant l'hypothèse émise par MAT et al. (2014), le rythme circadien et tidal chez l'huître est produit par un seul oscillateur qui est l'horloge circadienne. Selon le poids de chaque zeitgeber (lumière ou marée), cet oscillateur pourrait produire un rythme unimodal tidal ou un rythme unimodal journalier ou un rythme bimodal. Lors de l'étude de l'effet du bruit sur les huîtres *in situ* dans le port de Santander, on a observé que le rythme tidal était plus faible que le rythme circadien, contrairement à Arcachon. Nous avons émis l'hypothèse que le niveau du bruit ambiant dans l'environnement où baignent les huîtres pourrait masquer le son généré par la marée laissant ainsi le rythme circadien d'alternance jour/nuit être le rythme premier.

Quels sont les sons d'origine anthropique que les huîtres perçoivent ?

Suite à nos études, on sait que les gammes de fréquences et les seuils de sensibilité mesurés chez l'huître se situent dans la plage des niveaux et fréquences générés par plusieurs activités anthropiques telles que les activités de prospection sismique, le battage de pieux, le son généré par les bateaux et le bruit émis par les éoliennes. Bien que chaque source a des caractéristiques spatio-temporelles distinctes et peut affecter les animaux marins de manière différente, on a choisi d'étudier l'effet d'une pollution générée par les bateaux. Le trafic maritime représente 90 % de l'énergie acoustique générée par les humains dans l'océan (COUNCIL, 1994). Son expansion ces dernières décennies et son caractère continu sont à l'origine d'une augmentation conséquente du bruit ambiant dans l'océan (Ross, 2005).

Par contre les huîtres ne peuvent pas entendre le bruit émis par les bateaux à moteur hors-bord, le son émis par un jet ski ou bien un sonar qui émet sur les moyennes et hautes fréquences.

7.1.2 Effet de la pollution sonore sur l'huître**Quel est l'effet du bruit sur l'huître en termes de changement de comportement ?**

Nous avons réalisé des tests sonores présentant différentes caractéristiques. Des tests brefs et peu fréquents (CHARIFI et al., 2017 ; Chapitre 4), des tests plus longs et complexes plus fréquents (CHARIFI et al., 2018 ; Chapitre 5) et nous avons enregistré des bruits de cargo couplés à des enregistrements comportementaux dans le Port de Santander (Chapitre 6). Dans le paragraphe qui suit nous allons utiliser ces différences pour mieux comprendre les capacités d'intégration de l'information chez une huître.

Observation 1. Dans le Chapitre 4 nos résultats montrent que face à une exposition à un son pur de 3 min à une pression sonore moyenne de 146 dB_{rms} re $1 \mu\text{Pa}$ et une accélération au niveau de la coquille de $0,4 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$, les huîtres se ferment partiellement ou complètement pendant 1 à 5 min. Lors de la répétition de cette exposition pendant 10 jours toutes les 30 min, 10 h/j, de 9 h à 18 h, on observe ce même type de réponse sans habituation.

Observation 2. Dans le Chapitre 5 nous avons observé une adaptation lorsque nous avons exposé plus longuement les huîtres 24/7 à des bruits de bateaux (CHARIFI et al., 2018). Lors de l'exposition des huîtres à 92 bruits de passage de bateau par jour (de minuit à minuit, chaque passage durant 7 min et ayant une pression sonore de 150 ou 138 dB_{rms} re $1 \mu\text{Pa}$), tous les animaux présentent des fermetures complètes transitoires le 1^{er} jour. Le 2^{ème} jour, 40 % des animaux continuent à présenter ces fermetures transitoires complètes mais après le 4^{ème} jour aucune réaction (fermeture transitoire) au bruit du bateau n'est observée.

Observation 3. Dans le Chapitre 6 on voit que dans le port de Santander où nous avons enregistré jusqu'à 30 passages de cargo par jour pour des puissances variant de 98 à 146 dB re $1 \mu\text{Pa}$, nous n'avons trouvé aucune relation directe entre fermeture transitoire et

passage de cargo. Par contre, par comparaison avec Arcachon pris comme site de référence, nous avons retrouvé des modifications de durée et d'amplitude d'ouverture ainsi qu'une diminution du nombre de microfermetures allant dans le même sens que les observations faites au laboratoire dans l'article de CHARIFI et al. (2018).

En conclusion, ces observations montrent deux choses principales. D'une part, l'huître n'est pas capable d'habituation (i.e. d'apprentissage) face à un stimulus (son pur) de 3 min répété toutes les 30 min, 10 h/j pendant 10 jours alors qu'elle « apprend » en 2 à 4 jours face à un stimulus (son complexe) de même puissance sonore mais présenté plus longtemps et plus fréquemment (92 bruits de bateau de 7 min / j, 24h/24). En psychologie, l'habituation constitue une forme d'apprentissage. Elle est définie comme la diminution graduelle plus ou moins prolongée de l'intensité ou de la fréquence d'apparition d'une réponse à la suite de la présentation répétée ou prolongée du stimulus l'ayant déclenchée. Nos travaux apportent donc des informations de base sur les capacités d'apprentissage de l'huître *M. gigas*.

Effet en termes répresser

La présence régulière de bruits de cargos, en laboratoire et dans un port de commerce, diminue durablement les durées et amplitudes d'ouverture ainsi que le nombre de microfermetures. En laboratoire, l'analyse indirecte via l'accumulation de cadmium dans les tissus (branchies et glande digestive) et la croissance, ainsi que via le comportement indiquent une diminution du débit ventilatoire et du taux de filtration. À la lumière l'ensemble de ces observations, une exposition chronique au bruit paraît donc avoir un effet dépressant ou répressant sur l'huître. Cette conclusion va dans le sens de la littérature récente que nous avons discuté par ailleurs. Fait intéressant aussi, l'effet du bruit de passage de cargo (à la fréquence d'environ un toutes les 15 min, 92j/24h) était plus important sur l'activité valvaire des huîtres le jour que pendant la nuit. Cette observation doit être reprise dans le cadre des rythmes biologiques et de notre procédure expérimentale car les huîtres ont été nourries chaque jour après l'extinction de la lumière. Cela laisse à penser que les huîtres feraient un choix entre la nourriture et une réaction valvaire prononcée contre le bruit. Cette idée va dans le sens d'une réponse au stimulus sonore dépendant de la situation motivationnelle de l'organisme. Ce genre de situation a été observé chez les poissons exposés au bruit. Ces derniers ne réagissaient pas au bruit au cours de la période de prise de nourriture (VABØ et al., 2002).

L'un des effets importants du bruit que nous avons observé a touché la croissance des animaux (alors que nous avons apporté de la nourriture régulièrement et de la même façon dans tous les bacs expérimentaux) et la bioaccumulation d'un contaminant métallique. Croissance et bioaccumulation ont diminué en présence de bruit ce qui signifie comme nous l'avons conclu déjà un changement de comportement ventilatoire et un ralentissement de la filtration. Nous discutons de manière plus large des conséquences possibles ci-dessous.

Quel(s) effet(s) pourraient avoir la pollution sonore au niveau de la population et de l'écosystème ?

Les effets de la pollution sonore au niveau de la population sont la conséquence directe des effets sur les individus. Toutefois on sait d'une façon générale qu'un effet sur une population peut avoir un lien linéaire avec le nombre d'individus touchés, alors que d'autres effets peuvent présenter des relations plus complexes. Ces effets sont alors difficiles à prédire par la seule connaissance de l'effet au niveau de l'individu (BOEBEL et al., 2018). La nature de cette relation pour le bruit a intéressé la communauté scientifique. Un modèle conceptuel, le modèle PCAD (de l'anglais Population Consequence of Acoustic Disturbance) a été développé par le conseil national de recherche des Etats-Unis (COUNCIL, 2005). Il aide à mieux percevoir le lien entre l'exposition sonore d'individus et un effet potentiel sur une population. En 2014, un autre modèle a été établi pour transformer le modèle PCAD en une structure formelle et mathématique, en prenant en compte les impacts physiologiques induits par le bruit (Figure 7.2 ; NEW et al., 2014).

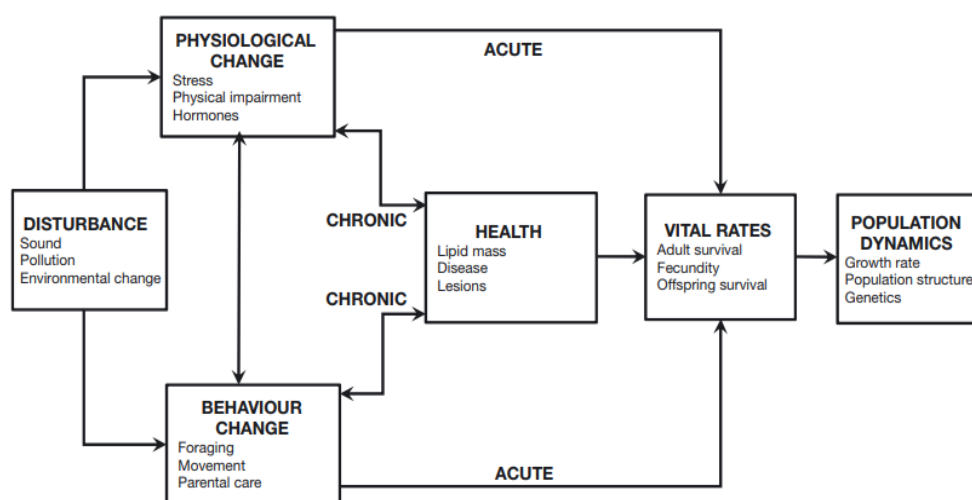


FIGURE 7.2 – Un modèle conceptuel des relations liant la perturbation aux changements de comportement et de physiologie, à la santé, aux indices vitaux et à la dynamique de la population (NEW et al., 2014).

À l'origine, le modèle a été conçu pour les mammifères marins exposés au bruit. Cependant, le concept suit des principes de base qui sont généraux et peut tout aussi bien être appliqué aux mollusques bivalves et aux invertébrés qui réagiraient comme l'ont fait les huîtres dans notre travail. Nous avons utilisé ce modèle conceptuel comme guide pour discuter nos résultats et ceux de la littérature en envisageant les effets potentiels sur une population d'huîtres et au-delà d'invertébrés marins (Figure 7.3). L'intérêt est de poser des bases didactiques qui pourraient à l'avenir aider à déterminer quelles sont les sources sonores, les niveaux sonores et les réactions biologiques et physiologiques qui peuvent à un certain niveau induire un effet sur les populations.

La première étape dans le modèle est d'identifier la source de bruit, déterminer ses caractéristiques et la relier à un changement comportemental chez l'animal. La réponse dépend bien évidemment de la capacité de l'animal à détecter le son. Nous avons pu déterminer la gamme de fréquence audible chez les huîtres (Chapitre 4) et nous posons pour les besoins de l'exercice l'hypothèse que la plupart des bivalves et autres invertébrés percevraient des fréquences semblables et seraient sensibles à des puissances comparables (voir Figure 4.1). Lors de l'exposition des huîtres à des niveaux sonores à caractère relativement continu et d'une puissance maximal de 150 dB re 1 μ Pa, différents changements comportementaux et physiologiques ont été observés (plus faible durée et amplitude d'ouverture, plus faible activité valvaire, plus faible activité ventilatoire et de filtration, faible croissance, perturbation de l'activité de ponte). Chez d'autres bivalves (*Ruditapes philippinarum*, *Sinonovacula constricta*), les observations sont moins complètes mais des réactions allant dans le même sens d'une répression physiologique (réduction de l'activité locomotrice, fermeture des valves, diminution de réaction d'enfouissement) ont été observées pour des niveaux sonores proches de ceux rapportés dans notre étude (PENG et al., 2016 ; SOLAN et al., 2016). L'ensemble, nos résultats et ceux de la littérature, fait donc un tout assez cohérent.

Comme nous l'avons rapporté dans nos travaux au laboratoire, une plus faible activité ventilatoire chez un animal filtreur comme l'huître a des conséquences directes sur le milieu intérieur. Nous avons aussi rapporté de nombreuses perturbations au niveau génique. D'autres auteurs ont également montré qu'une exposition au bruit peut causer un ralentissement de l'activité métabolique, un impact sur l'expression des gènes (PENG et al., 2016) et avoir un effet dépressant ou répressant sur l'animal.

Au moyen de l'analyse valvométrique (analyse comportementale et physiologique) nous rapportons une action très visible sur la croissance des individus et la ponte. Comme on l'a observé au laboratoire, où nous avons manipulé spécifiquement le bruit et sur le terrain, où le bruit était associé à une pollution chimique de type multistress à l'état de traces, l'exposition des huîtres uniquement au bruit ou contenant, peut être majoritairement, du bruit à moyen et long terme est associée à un plus faible taux de croissance sur la majorité du groupe étudié. Un deuxième effet spécifique est la réduction du nombre d'animaux à fort taux de croissance au sein de la population qui apparait sous l'effet d'une exposition au bruit en laboratoire et sur le terrain. Dans la nature, le taux de croissance varie chez les individus d'une population de bivalves. Cette différence est associée à une différence dans la capacité à acquérir de l'énergie. Les recherches ont indiqué que les différences de croissance sont déterminées de façon endogène (TAMAYO et al., 2014). Ce qui peut apparaître comme un affaiblissement des animaux qui pourraient être les plus performants, et donc les meilleurs reproducteurs, serait bien sûr défavorable à la population.

La reproduction paraît aussi touchée. Sur le terrain à Santander, la reproduction est

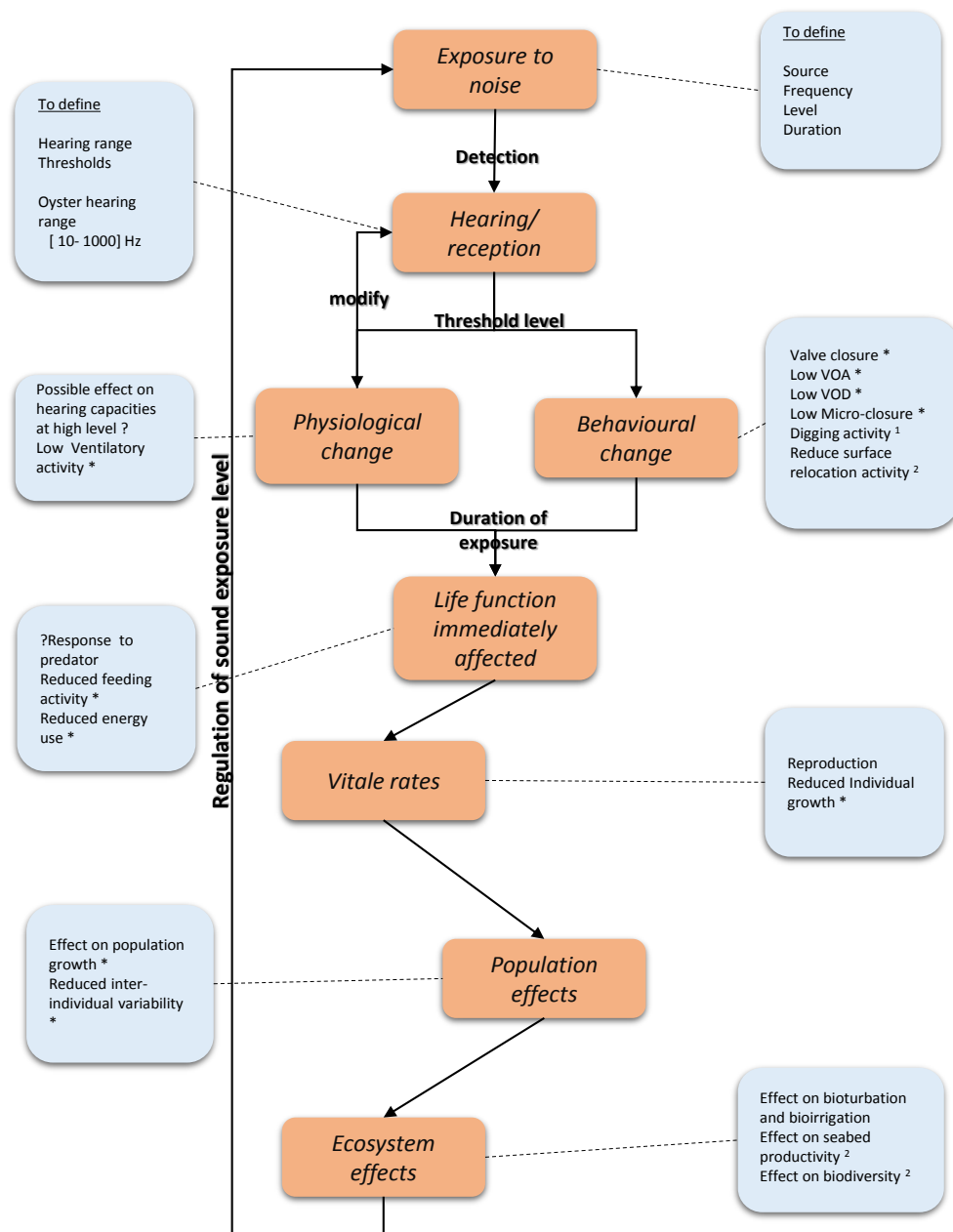


FIGURE 7.3 – Modèle décrivant les mécanismes par lequel la pollution sonore affecte l’individu jusqu’à avoir un impact sur la population. * résultats obtenu dans le présent travail pour l’huître. ¹PENG et al., 2016 ; ²SOLAN et al., 2016. Modèle d’après NEW et al., 2014 ; COUNCIL, 2005). VOA, Valve opening amplitude; VOD, valve opening duration; Low Micro-closure, low number of micro- or partial-closures.

apparue perturbée chez les huîtres natives et les huîtres transplantées. Les contractions valvaires caractéristiques d’une ponte n’ont pas été observées chez les huîtres natives de Santander quand elles étaient seules en 2011 alors que l’observation annuelle est systématique depuis 2006 dans le Bassin d’Arcachon, un site avec une faible activité de trafic maritime. Toutes les huîtres transplantées de San Vicente de la Barquera, 100%,

ont montré un comportement typique femelle de contractions associées à la ponte. Des modifications du rendement reproductif au niveau populationnel sont bien sûr à attendre si le cycle de reproduction est perturbé au niveau individuel et si nos résultats sont représentatifs de la situation.

SOLAN et al. (2016) ont discuté du problème de l'exposition de bivalves marins et de crustacés fouisseurs à du bruit et du phénomène de réduction de leur activité. Cette idée permet de passer du niveau de la population à celui de l'écosystème. En effet, l'activité de bio-irrigation est cruciale pour le cycle de la matière, le recyclage des nutriments et le stockage du carbone. Une réduction de l'irrigation des sédiments peut conduire à la formation de sédiments denses pauvres en oxygène ce qui peut avoir un impact sur la biodiversité sédimentaire ainsi que la productivité et le rôle des fonds marins.

L'exercice mené dans ce paragraphe nous a donc mené de l'impact sur l'individu huître à celui sur l'écosystème au sens large puisque nous avons fini avec le cycle du carbone. Tout ceci est spéculation mais a bien sûr l'intérêt de poser des questions et de voir le problème de la pollution sonore chez les invertébrés à une échelle globale.

Comme nous l'avons discuté plus haut, la manière dont ont été accueillis nos travaux par la presse et le grand public montre qu'au moins des éléments de la société ont parfaitement compris qu'une partie de la biodiversité marine, dont on ignorait la sensibilité potentielle à la pollution sonore, est à risque. Mais nos réflexions montrent que le problème pourrait être encore plus large.

Les mesures prises pour limiter les risques liés à la pollution sonore.

Cadre juridique et connaissance scientifique. Durant les dernières années, les législateurs ont élaboré un ensemble de critères détaillés et des normes méthodologiques afin de protéger plus efficacement le milieu marin. En 2010, un cadre réglementaire a été mis en place par l'union européenne dans le but d'atteindre un bon état écologique dans les mers de l'union européenne (GRAAF et al., 2012). Ce cadre réglementaire comprend onze descripteurs qualitatifs, dont le onzième fait référence à l'introduction d'une énergie dans le milieu marin y compris le bruit sous-marin. Bien que l'introduction de ces réglementations concernant la pollution sonore permet de mieux réglementer l'introduction de l'énergie sonore dans l'océan, la mise en œuvre de telles stratégies est difficile, les critères d'exposition sonore retenus dans les études d'impact sont souvent largement spéculatifs (HAWKINS et POPPER, 2017) et l'efficacité de telles mesures n'est pas vérifiée. En effet, d'une part le manque d'information dans de nombreux domaines doit être surmonté afin de mettre en place des mesures efficaces pour limiter l'impact de la pollution sonore sur les animaux marins. Jusqu'à présent, il y a un manque conséquent de données biologiques et d'études expérimentales sur les effets de la pollution sonore. Peu de données sont disponibles sur les capacités auditives chez les invertébrés marins et les conditions expérimentales variables, d'une étude à l'autre, rendent la comparaison et l'utilisation des données très compliquée (LADICH et FAY, 2013). D'autre part, l'impact du bruit sur

les animaux marins varie selon les caractéristiques de la source, les conditions de propagation, le niveau sonore et la durée d'exposition. Une bonne caractérisation du champ acoustique, du niveau sonore du bruit ambiant et la détermination des seuils d'exposition provoquant une réponse comportementale chez l'animal sont nécessaires. Notre travail a apporté sa contribution en documentant le cas d'un mollusque bivalve, l'huître *M. gigas* mais il reste beaucoup à faire pour passer des échelles où nous avons travaillé à celle de l'écosystème. Notre travail sur le Port de Santander devrait être en particulier étendu car un des principaux problèmes est d'extraire l'effet spécifique de la pollution sonore d'une situation multistress. La situation est d'autant plus complexe quand on s'attaque au long terme.

Méthodes pratiques. Des méthodes d'atténuations du bruit généré par certaines activités anthropiques sont mises en pratique comme les rideaux de bulles ou les coffrages dans le cas du battage de pieux. Cependant, l'utilisation de ces méthodes est limitée jusqu'à présent pour des raisons économiques et/ou de faisabilité (SPIGA et al., 2012).

Chez les mammifères marins qui connaissent un intérêt accru, des critères ont été établis pour prédire les niveaux sonores d'expositions au bruit au-delà desquelles un effet nocif est envisagé (SOUTHALL et al., 2008). Deux catégories d'effets ont été pris en compte, les lésions physiques et les troubles de comportement. Lors des activités de prospection pétrolière, en cas de présence de mammifères marins dans la zone explorée à moins d'une certaine distance, les travaux d'exploration doivent être interrompus.

Chez les poissons des directives relative à l'exposition sonore ont été établis (POPPER et al., 2014). Par exemple, un niveau sonore de 213 dB_{peak} généré lors de battage de pieux peut être mortel ou causer des lésions potentiellement mortelles chez certains poissons ainsi que chez les larves. Mais il est clair qu'on parle ici de situations extrêmes. On est loin des effets « silencieux » qu'on appelle en écotoxicologie « effets faibles doses » qui se développent sur le long terme.

Chez les invertébrés marins les données sont, comme on l'a vu dans ce travail, insuffisantes pour l'établissement des critères d'expositions au bruit en spécifiant les niveaux sonores qui en cas de dépassement auront des effets nocifs. En plus des résultats obtenus dans l'étude présente, d'autres recherches sont nécessaires pour créer un lien entre les niveaux sonores générés par différentes sources et l'impact observé chez ces animaux. On part d'une prise de conscience qui n'existait pas. Mais c'est le type de travail que nous avons réalisé qui permettra l'élaboration de mesures pour limiter l'effet du bruit sur ces animaux et l'ensemble de la biodiversité.

Pratique de l'expérimentation au laboratoire et croissance en élevage en présence de bruit

Notre travail devrait aussi avoir des conséquences pour la pratique de l'expérimentation chez l'animal aquatique. En laboratoire, la plupart des expériences est réalisée dans des bacs munis d'équipements pour l'aération de l'eau qui augmentent le niveau du bruit ambiant (GUTSCHER et al., 2011). Les bruits de basses fréquences sont générés par les

pompes électriques et les filtres pour aquarium (50 Hz) ou sont transmis par les vibrations du sol et des parois. Ces fréquences émises sont dans la gamme d'audition de multiples poissons et invertébrés marins ou d'eau douce qui sont largement utilisés lors des études expérimentales (BREITHAUPT, 2002 ; POPPER et HIGGS, 2009). Bien que le niveau sonore généré lors de notre expérience au laboratoire (chapitre 5) soit plus élevé que celui généré par ces équipements, il n'est pas du tout impossible qu'une exposition continue à des niveaux sonores incontrôlés puisse entraîner des perturbations physiologiques comme celles rapportées dans notre étude. Cela peut avoir des implications sur la qualité des résultats obtenus dans les cas où des dispositions pour minimiser le bruit ne sont pas appliquées (utilisation d'absorbants de vibrations). Dans le domaine de l'aquaculture, le bruit généré peut atteindre ou dépasser les 135 dB re 1 μ Pa (BART et al., 2001) et on devrait s'attendre, au moins chez certaines espèces, à des impacts sur la croissance, donc à des conséquences économiques importantes. La relation apparaît malgré tout ni simple ni directe. En effet chez la truite d'élevage (*Oncorhynchus mykiss*) une étude a montré un cas de production aquacole intensive (149 dB re 1 μ Pa), où le bruit n'avait un impact que sur le premier mois de croissance sur une période totale d'étude de 5 mois (DAVIDSON et al., 2009). Les analyses ont montré sur les quatre mois suivants une croissance rapide de 'rattrapage' n'entraînant aucune différence de poids et de taille avec les témoins. On pourrait donc conclure à une absence d'effet sur le moyen terme mais on a ici à faire à des poissons d'élevage et on sait par ailleurs qu'un 'rattrapage' de la croissance peut entraîner une réduction de la durée de vie chez le poisson en raison du stress oxydatif (LEE et al., 2013). Ces résultats en tout cas n'apparaissent pas cohérents avec nos observations dans le port de Santander. Les problèmes liés aux conditions artificielles de l'expérimentation, la stabulation ou de l'élevage méritent donc dans l'avenir bien d'autres analyses et études avant d'être éclaircis. Nous n'avons fait que lever un pan de voile chez un invertébré. Les effets de l'intensité, de la nature et de la durée de l'exposition au bruit devraient être étudiés spécifiquement dans l'avenir.

7.2 Perspectives de recherches

Notre travail est une première dans le monde des invertébrés bien que des travaux publiés, pendant la réalisation de cette thèse, pointent vers les mêmes conclusions. Cependant, bien qu'on ait pu avancer dans notre compréhension du problème, de nombreuses interrogations persistent. Quelques réponses donc mais beaucoup de questions.

Effet du bruit per se. Une des grandes difficultés sur le terrain est qu'on n'y contrôle peu de chose. En analysant la situation du port de Santander nous nous sommes trouvés dans une condition multistress alors que notre problématique était celle du bruit et de la pollution sonore. Certes on peut dire que la pollution chimique est au niveau de traces ou d'ultra traces à l'endroit précis où nous avons travaillé mais on ne sait pratiquement rien sur les effets d'une telle pollution sur le long terme. Impossible donc de dire quelle cause

produit quel effet. Nous pouvons simplement dire que nous avons retrouvé à Santander un certain nombre de modifications comportementales induites par le bruit en laboratoire. Une urgence aujourd'hui serait donc de trouver des situations bruyantes hors d'un port et du bassin versant d'une agglomération où des industries sont actives.

Impact sur la bioturbation. La pollution sonore a un effet répressif sur l'activité des mollusques bivalves et des crustacés. Il existe des arguments pour dire que la bioturbation et les cycles de la matière à l'interface eau-sédiment pourraient être affectés. Il nous semble qu'il y a une sorte d'urgence à faire des études sur la bioturbation dans des situations tests et contrôles. Peut-on caractériser des différences entre sites exposés au bruit et sites silencieux ? La difficulté bien sûr sera de trouver des sites silencieux comparables pour les autres facteurs à des sites non silencieux.

Impact d'autres sources sonores. Dans le milieu marin, les animaux sont sujets à différentes expositions sonores générées par des activités humaines telles que le battage de pieux, la prospection sismique et les éoliennes. Notre étude s'est portée exclusivement sur l'effet du son généré par le trafic maritime. Une extrapolation des résultats de l'effet d'un son de nature relativement continu (trafic maritime) à celui d'un effet causé par des sources à caractère impulsif (prospection sismique par exemple) serait imprudente en raison de propriétés acoustiques différentes. Bien que le bruit produit par le trafic maritime représente 90 % de l'énergie acoustique générée dans l'océan (COUNCIL, 1994), il serait utile d'étudier l'effet causé par d'autres sources de bruit sur les invertébrés marins et d'étendre le travail de ROBERTS et al. (2015). Certaines activités dans le milieu marin ont connu ces dernières années une expansion rapide. Par exemple, en raison de problème de sécurité énergétique et une réorientation vers l'utilisation des énergies renouvelable, les parcs éoliens sont construits à un rythme croissant pour répondre à la demande d'énergie. Les effets sur la faune marine font l'objet de beaucoup d'effort pour ce qui est faune piscicole mais la multiplicité des impacts qu'on peut envisager sur la faune des invertébrés est jusqu'à présent très peu connu. Or cette faune est à la base de la chaîne alimentaire. On imagine immédiatement l'impact si la base de la chaîne alimentaire devenait moins productive.

Chronobiologie. Nos résultats suscitent aussi des interrogations dans le domaine de la chronobiologie. Comme nous l'avons proposé, le son pourrait être un facteur pertinent qui entraîne ou synchronise le rythme tidal chez l'huître. Il serait utile de tester cette hypothèse par la simulation des cycles tidaux en utilisant le son comme principal facteur d'entraînement. Dans le Bassin d'Arcachon, les huîtres immergées en permanence expriment un rythme tidal d'activité valvaire avec deux périodes de fermetures qui coïncident avec les étals de marée basse. Le rythme circadien est beaucoup plus faible (PAYTON et al., 2017a ; TRAN et al., 2011). Nous avons observé au contraire dans le port de Santander que les huîtres présentaient un rythme tidal plus faible qu'à Arcachon et que le rythme circadien était majoritaire. Nous avons proposé que le bruit de fond très élevé

dans le port de Santander puisse perturber la perception du son généré par le courant (qui serait un *zeitgeber* ou synchronisateur) et participer à la diminution du rythme tidal en favorisant le rythme circadien. C'est aujourd'hui une hypothèse qui demande à être vérifié. Autre question, la pollution sonore peut-elle aussi avoir un effet perturbateur au niveau de l'horloge moléculaire ? Des analyses moléculaires orientées vers les gènes de l'horloge, couplées à un suivi du comportement valvaire sur des animaux exposés au laboratoire à un bruit ambiant supérieur à 122 dB re $1\mu\text{Pa}$ (niveau sonore provoquant 30% de réaction chez le groupe, Chapitre 4) permettraient de répondre à cette question.

Croissance. Dans le cadre de notre expérience la croissance moyenne et la variabilité interindividuelle du taux de croissance étaient réduites chez les animaux exposés au bruit avec une absence d'huîtres à fort taux de croissance. Au-delà des propres mesures du groupe d'Arcachon (SCHWARTZMANN et al., 2011 chez le bénitier ; PAYTON et al., 2017a chez les huîtres diploïdes et triploïdes ; ANDRADE et al., 2016 chez l'huître diploïde ; MASSABUAU et al., 2015 chez la pétoncle arctique), on sait que dans le milieu naturel et dans des conditions environnementales similaires on a une forte disparité dans les taux de croissance (TAMAYO et al., 2014). Cette variabilité est considérée comme liée à une différence dans l'activité de filtrage et les taux d'ingestion et d'absorption mais elle est aussi commune dans tout élevage piscicole. Comme on l'a observé dans notre travail, cette variabilité disparaît ou devient plus faible chez le groupe d'huîtres exposées au bruit à cause d'un effet répressif sur l'activité de filtration. En plus de cet effet répressif du bruit, l'absence d'huîtres à fort potentiel de croissance serait-elle liée à une dérégulation moléculaire ? Un tel impact sur la variabilité pourrait avoir des conséquences importantes au niveau de la population. Quel pourrait être l'impact de la « disparition » (répression) des individus les plus performants sur la dynamique des populations ? Ces pistes méritent une attention particulière.

Reproduction, ponte. Lorsque nous avons étudié des huîtres natives de Santander seules, en 2011, nous n'avons enregistré aucune activité typique de ponte. Cette activité est apparue chez quelques individus lorsque nous avons placé à côté d'elles, dans la même poche à huîtres, des huîtres provenant d'un milieu peu ou pas exposé, San Vicente de la Barquera. Est-ce que le phénomène est reproductible ou est-ce un hasard¹ ? Quels sont les mécanismes sous-jacents ? On sait que des mollusques bivalves à l'état femelle peuvent relarguer des ovocytes sans mouvement de contraction (Massabau, observation personnelle). En présence de pollution sonore, quel est l'efficacité de ces pontes en termes de quantité et de qualité ?

Applications. Le manque d'information sur l'effet du bruit chez un grand nombre d'invertébrés rend difficile une mise en œuvre de décisions en matière de gestion des risques.

¹Double ou triple hasard en fait. Le 1^{er} hasard serait en 2011, aucun mouvement typique de ponte (déposition d'ovocytes) enregistré parmi 16 individus. Ce serait tous des mâles ? Le 2^{ème} hasard serait en 2012 qu'il y aurait eu 100 % d'huîtres femelles dans le groupe transplanté. Et par hasard ces huîtres transplantées auraient stimulé quelques huîtres natives de Santander pour qu'elles présentent un comportement de ponte.

Une grande partie de la réglementation des activités produisant du bruit dans le milieu marin est basée sur l'étude de l'impact du bruit sur les mammifères marins. De telles réglementations peuvent se révéler moins pertinentes pour les invertébrés. Actuellement, il y a besoin d'étudier plus d'espèces, de déterminer leur sensibilité au son et de produire des courbes dose/réponse pour spécifier les niveaux sonores minimaux provoquant des réactions physiologiques qui peuvent être critiques pour l'individu, pour la population et pour l'écosystème. Notre travail permet d'en savoir plus sur les niveaux sonores qui provoquent une réaction comportementale chez l'huître et sur les effets que peut avoir le bruit sur sa physiologie. D'autres travaux sont nécessaires pour apporter d'autres données sur d'autres espèces et définir des modèles prédictifs comme ceux développés chez les mammifères marins. Il faudrait à terme déterminer les niveaux sonores seuils à ne pas dépasser dans le milieu côtier lors d'activités industrielles.

La surveillance du milieu marin représente un grand défi. Le développement d'outils innovants à coût réduit et facile à mettre en place pour la surveillance en continu peut être d'un grand intérêt. La valvométrie, utilisée dans le présent travail, représente un outil efficace pour l'enregistrement de l'activité valvaire des bivalves dans n'importe quelle région du monde. Elle permet d'évaluer l'état environnemental des écosystèmes marins à distance et en temps réel par la détection des perturbations du comportement valvaire chez des groupes de bivalves. On sait aujourd'hui que cet outil pourrait servir de système d'alerte pour avertir de la présence d'agents toxiques comme des algues toxiques, des contaminants métalliques (ANDRADE et al., 2016) et le pétrole (MISERAZZI et al., 2018). Dans notre travail, on a pu caractériser les réponses comportementales et physiologiques au bruit. On a pu faire une comparaison du comportement entre des bivalves baignés dans un milieu avec une forte activité maritime et un milieu calme. Ces données sur l'effet du bruit couplé aux données déjà acquises sur la réaction des bivalves à divers contaminants et situations (ANDRADE et al., 2016) renforcent la démarche entreprise pour permettre d'utiliser l'outil de valvométrie comme un capteur viable pour la surveillance de milieu. On peut maintenant envisager la surveillance de sites à forte activité industriel, générant une forte énergie acoustique, avec une vision nouvelle.

BIBLIOGRAPHIE

- AHMED, H., R. USHIROBIRA, D. EFIMOV, D. TRAN, M. SOW, L. PAYTON et J.-C. MASSABUAU (2016). "A fault detection method for automatic detection of spawning in oysters". In : *IEEE Transactions on Control Systems Technology* 24.3, p. 1140-1147.
- AINSLIE, M. A. (2010). *Principles of sonar performance modelling*. Springer.
- AKAMATSU, T., T. OKUMURA, N. NOVARINI et H. Y. YAN (2002). "Empirical refinements applicable to the recording of fish sounds in small tanks". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 112.6, p. 3073-3082.
- ALKON, D. L. (1975). "Responses of hair cells to statocyst rotation." In : *The Journal of General Physiology* 66.4, p. 507-530.
- ALLEN, S. (1988). "Reproductive sterility of triploid shellfish and fish." Thèse de doct. University of Washington, Seattle.
- AMORIM, M. C. P. et A. NEVES (2008). "Male painted gobies *Pomatoschistus pictus* vocalise to defend territories". In : *Behaviour* 145.8, p. 1065-1083.
- ANDERSSON, M. H., S. ANDERSSON, J. AHLSEN, B. L. ANDERSSON, J. HAMMAR, L. K. PERSSON, J. PIHL, P. SIGRAY et A. WIKSTROM (2016). *A framework for regulating underwater noise during pile driving*. Rapp. tech. Swedish Environmental Protection Agency, Sweden.
- ANDRADE, H., J.-C. MASSABUAU, S. COCHRANE, P. CIRET, D. TRAN, M. SOW et L. CAMUS (2016). "High Frequency Non-Invasive (HFNI) bio-sensors as a potential tool for marine monitoring and assessments". In : *Frontiers in Marine Science* 3, p. 187.
- ANDRÉ, M., M. SOLÉ, M. LENOIR, M. DURFORT, C. QUERO, A. MAS, A. LOMBARTE, M. van der SCHAAAR, M. LÓPEZ-BEJAR, M. MORELL et al. (2011). "Low-frequency sounds induce acoustic trauma in cephalopods". In : *Frontiers in Ecology and the Environment* 9.9, p. 489-493.
- ANDREW, R. K., B. M. HOWE, J. A. MERCER et M. A. DZIECIUCH (2002). "Ocean ambient sound : comparing the 1960s with the 1990s for a receiver off the California coast". In : *Acoustics Research Letters Online* 3.2, p. 65-70.
- ANDREW, R. K., B. M. HOWE et J. A. MERCER (2011). "Long-time trends in ship traffic noise for four sites off the North American West Coast". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 129.2, p. 642-651.
- ANSELL, A. D. (1983). "The biology of the genus *Donax*". In : *Sandy beaches as ecosystems*. Springer, p. 607-635.

- ATEMA, J. (1988). "Distribution of chemical stimuli". In : *Sensory biology of aquatic animals*. Springer, p. 29-56.
- AU, W. W. et K. BANKS (1998). "The acoustics of the snapping shrimp *Synalpheus parneomeris* in Kaneohe Bay". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 103.1, p. 41-47.
- AU, W. W., R. W. FLOYD, R. H. PENNER et A. E. MURCHISON (1974). "Measurement of echolocation signals of the Atlantic bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in open waters". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 56.4, p. 1280-1290.
- AU, W. et M GREEN (2000). "Acoustic interaction of humpback whales and whale-watching boats". In : *Marine Environmental Research* 49.5, p. 469-481.
- AUBY, I., H. OGER-JEANNERET, G. TRUT, F. GANTHY, L. RIGOUIN, D. CASAMAJOR, F. SANCHEZ, M. LISSARDY, M. FORTUNE, S. MANACH et al. (2018). *Classement des masses d'eau du littoral Manche-Atlantique sur la base de l'indicateur DCE Angiospermes*. Rapp. tech. Ifremer.
- BAIN, D. E. et R WILLIAMS (2006). "Long-range effects of airgun noise on marine mammals : responses as a function of received sound level and distance". In : *Scientific Committee at the 58th Meeting of the International Whaling Commission*. T. 26.
- BARBER, V. et P. DILLY (1969). "Some aspects of the fine structure of the statocysts of the molluscs *Pecten* and *Pterotrachea*". In : *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie* 94.4, p. 462-478.
- BART, A., J CLARK, J YOUNG et Y ZOHAR (2001). "Underwater ambient noise measurements in aquaculture systems : a survey". In : *Aquacultural Engineering* 25.2, p. 99-110.
- BERNARD, I, J.-C. MASSABUAU, P CIRET, M SOW, A. SOTTOLICHIO, S. POUVREAU et D TRAN (2016). "In situ spawning in a marine broadcast spawner, the Pacific oyster *Crassostrea gigas* : timing and environmental triggers". In : *Limnology and Oceanography* 61.2, p. 635-647.
- BIJOUX, H. (2014). "Etude des impacts toxiques des contaminants chimiques du Bassin d'Arcachon sur l'huitre cultivée *Crassostrea gigas* : Approche in-situ et expérimentale". Thèse de doct. Université de Bordeaux.
- BLACKWELL, S. B., C. R. GREENE JR et W. J. RICHARDSON (2004). "Drilling and operational sounds from an oil production island in the ice-covered Beaufort Sea". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 116.5, p. 3199-3211.
- BOEBEL, O., E. BURKHARDT et I. van OPZEELAND (2018). "Input of Energy/Underwater Sound". In : *Handbook on Marine Environment Protection*. Springer, p. 463-485.
- BRAWN, V. M. (1961). "Sound production by the cod (*Gadus callarias* L.)" In : *Behaviour* 18.4, p. 239-255.
- BREITHAUPT, T. (2002). "Sound perception in aquatic crustaceans". In : *The crustacean nervous system*. Springer, p. 548-558.

- BREITHAUPT, T. et J. TAUTZ (1990). "The sensitivity of crayfish mechanoreceptors to hydrodynamic and acoustic stimuli". In : *Frontiers in Crustacean Neurobiology*. Springer, p. 114-120.
- BROWNING, D., N. FISCH et P. KOENIGS (1982). *Shallow Water Ambient Noise : Offshore Measurements at 20-10,000 Hz*. Rapp. tech. Naval Underwater Systems Center Tech.
- BRUINTJES, R. et A. N. RADFORD (2013). "Context-dependent impacts of anthropogenic noise on individual and social behaviour in a cooperatively breeding fish". In : *Animal Behaviour* 85.6, p. 1343-1349.
- BRUINTJES, R., J. PURSER, K. A. EVERLEY, S. MANGAN, S. D. SIMPSON et A. N. RADFORD (2016). "Rapid recovery following short-term acoustic disturbance in two fish species". In : *Royal Society Open Science* 3.1, p. 150686.
- BUDELMANN, B. U. (1992). "Hearing in nonarthropod invertebrates". In : *The evolutionary biology of hearing*. Springer, p. 141-155.
- BUDELMANN, B.-U. (1989). "Hydrodynamic receptor systems in invertebrates". In : *The mechanosensory lateral line*. Springer, p. 607-631.
- BURTIN, B. (1986). "Etude du rôle de la composition ionique de l'eau dans la régulation de l'état acide-base extracellulaire chez l'écrevisse". Thèse de doct. Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- BUSCAINO, G., F. FILICIOTTO, G. BUFFA, A. BELLANTE, V. DI STEFANO, A. ASSENZA, F. FAZIO, G. CAOLA et S. MAZZOLA (2010). "Impact of an acoustic stimulus on the motility and blood parameters of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.)". In : *Marine Environmental Research* 69.3, p. 136-142.
- CAMPBELL, P. et P. STOKES (1985). "Acidification and toxicity of metals to aquatic biota". In : *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42.12, p. 2034-2049.
- CAMPBELL, P. (2003). "How might hypoxia affect metal speciation, accumulation and toxicity : some speculation". In : *Proceedings Seventh International Symposium on Fish Physiology, Toxicology, and Water Quality, Tallinn, Estonia*, p. 125-147.
- CARAZZI, D. (1897). *Contributo all'istologia e alla fisiologia dei lamellibranchi*. R. Hahn (H. Otto).
- CARSTENSEN, J. O. HENRIKSEN et J. TEILMANN (2006). "Impacts of offshore wind farm construction on harbour porpoises : acoustic monitoring of echolocation activity using porpoise detectors (T-PODs)". In : *Marine Ecology Progress Series* 321, p. 295-308.
- CATO, D. (1976). "Ambient sea noise in waters near Australia". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 60.2, p. 320-328.
- CELI, M., F. FILICIOTTO, M. VAZZANA, V. ARIZZA, V. MACCARRONE, M. CERAULO, S. MAZZOLA et G. BUSCAINO (2015). "Shipping noise affecting immune responses of European spiny lobster (*Palinurus elephas*)". In : *Canadian Journal of Zoology* 93.2, p. 113-121.
- CERAULO, M., R. BRUINTJES, T. BENSON, K. ROSSINGTON, A. FARINA et G. BUSCAINO (2016). "Relationships of sound pressure and particle velocity during pile driving

- in a flooded dock". In : *Proceedings of Meetings on Acoustics 4ENAL*. T. 27. 1. ASA, p. 040007.
- CHAPMAN, D. M. et D. D. ELLIS (1998). "Elusive decibel : Thoughts on sonars and marine mammals". In : *Canadian Acoustics* 26.2, p. 29-31.
- CHAPMAN, N. R. et A. PRICE (2011). "Low frequency deep ocean ambient noise trend in the Northeast Pacific Ocean". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 129.5, EL161-EL165.
- CHARIFI, M., M. SOW, P. CIRET, S. BENOMAR et J.-C. MASSABUAU (2017). "The sense of hearing in the Pacific oyster, *Magallana gigas*". In : *PloS One* 12.10, e0185353.
- CHARIFI, M., A. MISERAZZI, M. SOW, M. PERRIGAULT, P. GONZALEZ, P. CIRET, S. BENOMAR et J.-C. MASSABUAU (2018). "Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas*". In : *PloS One* 13.4, e0194174.
- CHENG, L., S.-H. WANG, Q.-C. CHEN et X.-M. LIAO (2011). "Moderate noise induced cognition impairment of mice and its underlying mechanisms". In : *Physiology & Behavior* 104.5, p. 981-988.
- CODARIN, A., L. E. WYSOCKI, F. LADICH et M. PICCIULIN (2009). "Effects of ambient and boat noise on hearing and communication in three fish species living in a marine protected area (Miramare, Italy)". In : *Marine Pollution Bulletin* 58.12, p. 1880-1887.
- COE, W. R. (1932). "Sexual phases in the American oyster *Ostrea virginica*". In : *The Biological Bulletin* 63.3, p. 419-441.
- COLE, H. (1938). "The fate of the larval organs in the metamorphosis of *Ostrea edulis*". In : *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 22.2, p. 469-484.
- COLSON, D. J., S. N. PATEK, E. L. BRAINERD et S. M. LEWIS (1998). "Sound production during feeding in Hippocampus seahorses (Syngnathidae)". In : *Environmental Biology of Fishes* 51.2, p. 221-229.
- CORNSWEET, T. N. (1962). "The staircase-method in psychophysics". In : *The American Journal of Psychology* 75.3, p. 485-491.
- COUNCIL, N. R. et al. (1994). *Low-frequency sound and marine mammals : Current knowledge and research needs*. National Academies Press.
- (2003). *Ocean noise and marine mammals*. National Academies Press.
- (2005). *Marine mammal populations and ocean noise : determining when noise causes biologically significant effects*. National Academies Press.
- COZ, A, O RODRÍGUEZ-OBESO, R ALONSO-SANTURDE, M ALVAREZ-GUERRA, A ANDRÉS, J. VIGURI, D MANTZAVINOS et N KALOGERAKIS (2008). "Toxicity bioassays in core sediments from the Bay of Santander, northern Spain". In : *Environmental Research* 106.3, p. 304-312.
- CRAGG, S. et J. NOTT (1977). "The ultrastructure of the statocysts in the pediveliger larvae of *Pecten maximus* (L.)(Bivalvia)". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 27.1, p. 23-36.

- CUYPERS, A., M. PLUSQUIN, T. REMANS, M. JOZEF CZAK, E. KEUNEN, H. GIELEN, K. OPDENAKKER, A. R. NAIR, E. MUNTERS, T. J. ARTOIS et al. (2010). "Cadmium stress : an oxidative challenge". In : *Biometals* 23.5, p. 927-940.
- DAHMEN, P. (1923). "Anatomie von *Ostrea chilensis* Philippi". In : *Jenaische Zeitschrift fur Naturwissenschaft, Bank* 52, p. 575-626.
- DAVIDSON, J., J. BEBAK et P. MAZIK (2009). "The effects of aquaculture production noise on the growth, condition factor, feed conversion, and survival of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*". In : *Aquaculture* 288.3-4, p. 337-343.
- DAY, R. D., R. D. McCAULEY, Q. P. FITZGIBBON, K. HARTMANN et J. M. SEMMENS (2017). "Exposure to seismic air gun signals causes physiological harm and alters behavior in the scallop *Pecten fumatus*". In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114.40, E8537-E8546.
- DE SOTO, N. A., N. DELORME, J. ATKINS, S. HOWARD, J. WILLIAMS et M. JOHNSON (2013). "Anthropogenic noise causes body malformations and delays development in marine larvae". In : *Scientific Reports* 3, p. 2831.
- DEANE, G. B. (1997). "Sound generation and air entrainment by breaking waves in the surf zone". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 102.5, p. 2671-2689.
- DEGN, U (2000). "Offshore wind turbines—VVM, underwater noise measurements, analysis, and predictions". In : *Ødegaard & Danneskiold-Samsøe A/S, Rep No 00-792 rev 1*, p. 1-230.
- DERUITER, S. L., P. L. TYACK, Y.-T. LIN, A. E. NEWHALL, J. F. LYNCH et P. J. MILLER (2006). "Modeling acoustic propagation of airgun array pulses recorded on tagged sperm whales (*Physeter macrocephalus*)". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 120.6, p. 4100-4114.
- DI IORIO, L., C. GERVAISE, V. JAUD, A. A. ROBSON et L. CHAUVAUD (2012). "Hydrophone detects cracking sounds : Non-intrusive monitoring of bivalve movement". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 432, p. 9-16.
- DI TORO, D. M., H. E. ALLEN, H. L. BERGMAN, J. S. MEYER, P. R. PAQUIN et R. C. SANTORE (2001). "Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis". In : *Environmental Toxicology and Chemistry* 20.10, p. 2383-2396.
- DIRECTIVE, M. S. F. (2008). "Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the Council". In : *Official Journal of the European Union*.
- DOLMER, P. (2000). "Feeding activity of mussels *Mytilus edulis* related to near-bed currents and phytoplankton biomass". In : *Journal of Sea Research* 44.3-4, p. 221-231.
- DONSKOY, D. M., M. LUDYANSKIY et D. A. WRIGHT (1996). "Effects of sound and ultrasound on Zebra Mussels." In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 99.4, p. 2577-2603.
- DRAGOSSET, B. (2000). "Introduction to air guns and air-gun arrays". In : *The Leading Edge* 19.8, p. 892-897.
- DUBROVSKIY, N. et S. KOSTERIN (1993). "Noise in the ocean caused by lightning strokes". In : *Natural Physical Sources of Underwater Sound*. Springer, p. 697-709.

- DUBROVSKY, N. A. et V. M. FROLOV (1995). "Thunderstorm as a source of sounds in the ocean". In : *Sea Surface Sound'94*. World Scientific, p. 112-124.
- DUNCAN, A. J., K. LUCKE, C. ERBE et R. D. MCCAULEY (2016). "Issues associated with sound exposure experiments in tanks". In : *Proceedings of Meetings on Acoustics 4ENAL*. T. 27. 1. ASA, p. 070008.
- EDMONDS, N. J., C. J. FIRMIN, D. GOLDSMITH, R. C. FAULKNER et D. T. WOOD (2016). "A review of crustacean sensitivity to high amplitude underwater noise : data needs for effective risk assessment in relation to UK commercial species". In : *Marine Pollution Bulletin* 108.1-2, p. 5-11.
- ELLERS, O. (1995). "Discrimination among wave-generated sounds by a swash-riding clam". In : *The Biological Bulletin* 189.2, p. 128-137.
- ELLIS, I. et S. C. KEMPF (2011). "Characterization of the central nervous system and various peripheral innervations during larval development of the oyster *Crassostrea virginica*". In : *Invertebrate Biology* 130.3, p. 236-250.
- ENGÅS, A. et S. LØKKEBORG (2002). "Effects of seismic shooting and vessel-generated noise on fish behaviour and catch rates". In : *Bioacoustics* 12.2-3, p. 313-316.
- ENGÅS, A., S. LØKKEBORG, E. ONA et A. V. SOLDAL (1996). "Effects of seismic shooting on local abundance and catch rates of cod *Gadus morhua* and haddock *Melanogrammus aeglefinus*". In : *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53.10, p. 2238-2249.
- ERDMANN, W. (1934). *Untersuchungen über die Lebensgeschichte der Auster : Nr. 5 : Über die Entwicklung und Anatomie der "ansatzreifen" Larve von Ostrea edulis mit Bemerkungen über die Lebensgeschichte der Auster*. Lipsius & Tischer.
- ESPINOSA, E. P., M. PERRIGAULT, J. E. WARD, S. E. SHUMWAY et B. ALLAM (2009). "Lectins associated with the feeding organs of the oyster *Crassostrea virginica* can mediate particle selection". In : *The Biological Bulletin* 217.2, p. 130-141.
- ESPINOSA, E. P., A. KOLLER et B. ALLAM (2016). "Proteomic characterization of mucosal secretions in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*". In : *Journal of Proteomics* 132, p. 63-76.
- EVANS, D. L. et G. ENGLAND (2001). "Joint interim report Bahamas marine mammal stranding event of 15-16 March 2000". In : *US Department of Commerce (NOAA)/US Navy* 61.
- FARINA, A. (2012). "A biosemiotic perspective of the resource criterion : toward a general theory of resources". In : *Biosemiotics* 5.1, p. 17-32.
- FAY, R. R. (1984). "The goldfish ear codes the axis of acoustic particle motion in three dimensions". In : *Science* 225.4665, p. 951-954.
- FENG, A. et J. HALL (1991). "Mechanoreception and phonoreception". In : *Neural and Integrative Animal Physiology*, p. 247-317.
- FERNÁNDEZ-REIRIZ, M. J., J. IRISARRI et U. LABARTA (2016). "Flexibility of Physiological Traits Underlying Inter-Individual Growth Differences in Intertidal and Subtidal Mussels *Mytilus galloprovincialis*". In : *PloS One* 11.2, e0148245.

- FEWTRELL, J. et R. McCAULEY (2012). "Impact of air gun noise on the behaviour of marine fish and squid". In : *Marine Pollution Bulletin* 64.5, p. 984-993.
- FINE, M. L. (1981). "Mismatch between sound production and hearing in the oyster toadfish". In : *Hearing and sound communication in fishes*. Springer, p. 257-263.
- FINFER, D., T. LEIGHTON et P. WHITE (2008). "Issues relating to the use of a 61.5 dB conversion factor when comparing airborne and underwater anthropogenic noise levels". In : *Applied Acoustics* 69.5, p. 464-471.
- FISH, J. F. et G. C. OFFUTT (1972). "Hearing thresholds from toadfish, *Opsanus tau*, measured in the laboratory and field". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 51.4B, p. 1318-1321.
- FOURNIER, E., C. ADAM, J.-C. MASSABUAU et J. GARNIER-LAPLACE (2006). "Selenium bioaccumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* and subsequent transfer to *Corbicula fluminea* : role of selenium speciation and bivalve ventilation". In : *Environmental Toxicology and Chemistry* 25.10, p. 2692-2699.
- FRAKER, M. et W. J. RICHARDSON (1980). *Bowhead whales in the Beaufort Sea : A summary of their seasonal distribution and activities, and potential disturbance by offshore oil and gas exploration and development*. Rapp. tech. LGL Ecological Research Associates, Inc., Bryan, TX (USA).
- FRANCOIS, R. et G. GARRISON (1982). "Sound absorption based on ocean measurements : Part I : Pure water and magnesium sulfate contributions". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 72.3, p. 896-907.
- FRANTZIS, A. (1998). "Does acoustic testing strand whales?" In : *Nature* 392.6671, p. 29.
- FRISK, G. V. (2012). "Noiseconomics : The relationship between ambient noise levels in the sea and global economic trends". In : *Scientific Reports* 2, p. 437.
- GALTSOFF, P. S. (1938). "Physiology of reproduction of *Ostrea virginica* : II. Stimulation of spawning in the female oyster". In : *The Biological Bulletin* 75.2, p. 286-307.
- GALTSOFF, P. S. (1964). "The American oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin)". In : *Fishery Bulletin* 64, p. 1-480.
- GAMAIN, P. (2016). "Impact des polluants et du changement climatique sur les capacités de reproduction et le développement embryonnaire larvaire de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le Bassin d'Arcachon". Thèse de doct. Université de Bordeaux.
- GANNON, D. P., N. B. BARROS, D. P. NOWACEK, A. J. READ, D. M. WAPLES et R. S. WELLS (2005). "Prey detection by bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus* : an experimental test of the passive listening hypothesis". In : *Animal Behaviour* 69.3, p. 709-720.
- GAYLORD, B. (1999). "Detailing agents of physical disturbance : wave-induced velocities and accelerations on a rocky shore". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 239.1, p. 85-124.
- GERACI, J. et D. ST AUBIN (1980). "Offshore Petroleum Resource Development and Marine Mammals : A Review and Research Recommendations." In : *Marine Fisheries Review* 42.11, p. 1-12.

- GILL, A. B. (2005). "Offshore renewable energy : ecological implications of generating electricity in the coastal zone". In : *Journal of Applied Ecology* 42.4, p. 605-615.
- GLÉ, C., Y. DEL AMO, B. SAUTOUR, P. LABORDE et P. CHARDY (2008). "Variability of nutrients and phytoplankton primary production in a shallow macrotidal coastal ecosystem (Arcachon Bay, France)". In : *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 76.3, p. 642-656.
- GONZALEZ, P., M. BAUDRIMONT, A. BOUDOU et J.-P. BOURDINEAUD (2006). "Comparative effects of direct cadmium contamination on gene expression in gills, liver, skeletal muscles and brain of the zebrafish *Danio rerio*". In : *Biometals* 19.3, p. 225-235.
- GOODALL, C., C. CHAPMAN et D. NEIL (1990). "The acoustic response threshold of the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L.) in a free sound field". In : *Frontiers in Crustacean Neurobiology*. Springer, p. 106-113.
- GOODALL, C. A. (1988). "The sensory detection of water borne vibrational stimuli and their motor effects in the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L.)" Thèse de doct. University of Glasgow.
- GORSUCH, J., C. JANSSEN, C. LEE et M. REILEY (2002). "Special issue : The biotic ligand model for metals—Current research, future directions, regulatory implications". In : *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C Toxicology and Pharmacology* 133.1-2, p. 343.
- GÖTZ, T., G. HASTIE, L. T. HATCH, O. RAUSTEIN, B. L. SOUTHALL, M. TASKER, F. THOMSEN et al. (2009). "Overview of the impacts of anthropogenic underwater sound in the marine environment". In : *OSPAR Biodiversity Series* 441.
- GRAAF, A. Van der, M. AINSLIE, M. ANDRÉ, K. BRENSING, J. DALEN, R. DEKELING, S. ROBINSON, M. TASKER, F. THOMSEN et S. WERNER (2012). "European Marine Strategy Framework Directive-Good Environmental Status (MSFD GES) : Report of the Technical Subgroup on Underwater noise and other forms of energy". In : *Milieu Ltd, Brussels*.
- GROOMBRIDGE, B., M. D. JENKINS et al. (2000). *Global biodiversity : Earth's living resources in the 21st century*. World Conservation Press.
- GUERRA, Á., Á. F. GONZÁLEZ, S. PASCUAL et E. G. DAWE (2011). "The giant squid *Architeuthis* : an emblematic invertebrate that can represent concern for the conservation of marine biodiversity". In : *Biological Conservation* 144.7, p. 1989-1997.
- GUO, X., D. HEDGECOCK, W. K. HERSHBERGER, K. COOPER et S. K. A. JR (1998). "Genetic determinants of protandric sex in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg". In : *Evolution* 52.2, p. 394-402.
- GUTSCHER, M., L. E. WYSOCKI et F. LADICH (2011). "Effects of aquarium and pond noise on hearing sensitivity in an otophysine fish". In : *Bioacoustics* 20.2, p. 117-136.
- HABERKORN, H., D. TRAN, J.-C. MASSABUAU, P. CIRET, V. SAVAR et P. SOUDANT (2011). "Relationship between valve activity, microalgae concentration in the water and toxin accumulation in the digestive gland of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to *Alexandrium minutum*". In : *Marine Pollution Bulletin* 62.6, p. 1191-1197.

- HANANA, H, G SIMON, N KERVAREC et S CÉRANTOLA (2014). "Evaluation of toxicological effects induced by tributyltin in clam *Ruditapes decussatus* using high-resolution magic angle spinning nuclear magnetic resonance spectroscopy : study of metabolic responses in heart tissue and detection of a novel metabolite". In : *Toxicology Reports* 1, p. 777-786.
- HATCH, L., C. CLARK, R. MERRICK, S. VAN PARIJS, D. PONIRAKIS, K. SCHWEHR, M. THOMPSON et D. WILEY (2008). "Characterizing the relative contributions of large vessels to total ocean noise fields : a case study using the Gerry E. Studds Stellwagen Bank National Marine Sanctuary". In : *Environmental Management* 42.5, p. 735-752.
- HAWKINS, A. D. et A. N. POPPER (2017). "A sound approach to assessing the impact of underwater noise on marine fishes and invertebrates". In : *ICES Journal of Marine Science* 74.3, p. 635-651.
- HAWKINS, A. D., A. E. PEMBROKE et A. N. POPPER (2015). "Information gaps in understanding the effects of noise on fishes and invertebrates". In : *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 25.1, p. 39-64.
- HAXEL, J. H., R. P. DZIAK et H. MATSUMOTO (2013). "Observations of shallow water marine ambient sound : The low frequency underwater soundscape of the central Oregon coast". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 133.5, p. 2586-2596.
- HENNINGER, H. P. et W. H. WATSON (2005). "Mechanisms underlying the production of carapace vibrations and associated waterborne sounds in the American lobster, *Homarus americanus*". In : *Journal of Experimental Biology* 208.17, p. 3421-3429.
- HIGUERA-RUIZ, R et J ELORZA (2009). "Biometric, microstructural, and high-resolution trace element studies in *Crassostrea gigas* of Cantabria (Bay of Biscay, Spain) : Anthropogenic and seasonal influences". In : *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 82.2, p. 201-213.
- (2011). "Shell thickening and chambering in the oyster *Crassostrea gigas* : natural and anthropogenic influence of tributyltin contamination". In : *Environmental Technology* 32.6, p. 583-591.
- HILDEBRAND, J. A. (2009). "Anthropogenic and natural sources of ambient noise in the ocean". In : *Marine Ecology Progress Series* 395, p. 5-20.
- HO, A. et A. MBISTROVA (2015). "The European offshore wind industry-key trends and statistics 1st half 2015". In : *European Wind Energy Association (EWEA), Brussels, Belgium, Technical Report*.
- HOLT, S. A. (2002). "Intra and inter-day variability in sound production by red drum (Sciaenidae) at a spawning site". In : *Bioacoustics* 12.2-3, p. 227-229.
- HORCH, K. et M. SALMON (1972). "Responses of the ghost crab, *Ocypode*, to acoustic stimuli". In : *Ethology* 30.1, p. 1-13.
- HOSMER, D. (2000). *Exact methods for logistic regression models*. In. Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied logistic regression*.

- HOU, P., P. ENEVOLDSEN, W. HU, C. CHEN et Z. CHEN (2017). "Offshore wind farm repowering optimization". In : *Applied Energy* 208, p. 834-844.
- HUVET, A., A. HERPIN, L. DÉGREMONT, Y. LABREUCHE, J.-F. SAMAIN et C. CUNNINGHAM (2004). "The identification of genes from the oyster *Crassostrea gigas* that are differentially expressed in progeny exhibiting opposed susceptibility to summer mortality". In : *Gene* 343.1, p. 211-220.
- INOUE, S., Y. OSHIMA, K. NAGAI, T. YAMAMOTO, J. GO, N. KAI et T. HONJO (2004). "Effect of maternal exposure to tributyltin on reproduction of the pearl oyster *Pinctada fucata martensii*". In : *Environmental Toxicology and Chemistry* 23.5, p. 1276-1281.
- ISLAM, M. S. et M. TANAKA (2004). "Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management : a review and synthesis". In : *Marine Pollution Bulletin* 48.7-8, p. 624-649.
- IVERSEN, R. T., P. J. PERKINS et R. D. DIONNE (1963). "An indication of underwater sound production by squid". In : *Nature* 199.4890, p. 250.
- JOHANSSON, L., J.-P. JALKANEN et J. KUKKONEN (2017). "Global assessment of shipping emissions in 2015 on a high spatial and temporal resolution". In : *Atmospheric Environment* 167, p. 403-415.
- KAIFU, K., S. SEGAWA et K. TSUCHIYA (2007). "Behavioral responses to underwater sound in the small benthic octopus *Octopus ocellatus*". In : *The Journal of the Marine Acoustics Society of Japan* 34.4, p. 266-273.
- KAIFU, K., T. AKAMATSU et S. SEGAWA (2008). "Underwater sound detection by cephalopod statocyst". In : *Fisheries Science* 74.4, p. 781-786.
- KALMIJN, A. J. (1988). "Hydrodynamic and acoustic field detection". In : *Sensory biology of aquatic animals*. Springer, p. 83-130.
- KAMPA, E et C LAASER (2009). "Heavily modified water bodies : information exchange on designation, assessment of ecological potential, objective setting and measures". In : *Common implementation strategy workshop, Brussels*.
- KARLSEN, H. E. (1992). "Infrasound sensitivity in the plaice (*Pleuronectes platessa*)". In : *Journal of Experimental Biology* 171.1, p. 173-187.
- KASTELEIN, R. A., S. VAN DER HEUL, W. C. VERBOOM, N. JENNINGS, J. VAN DER VEEN et D. DE HAAN (2008). "Startle response of captive North Sea fish species to underwater tones between 0.1 and 64 kHz". In : *Marine Environmental Research* 65.5, p. 369-377.
- KASUMYAN, A. (2008). "Sounds and sound production in fishes". In : *Journal of Ichthyology* 48.11, p. 981-1030.
- KENYON, T., F LADICH et H. YAN (1998). "A comparative study of hearing ability in fishes : the auditory brainstem response approach". In : *Journal of Comparative Physiology A* 182.3, p. 307-318.
- KESTELEIN, R. A. (2008). "Effects of vibrations on the behaviour of cockles (bivalve molluscs)". In : *Bioacoustics* 17.1-3, p. 74-75.

- KETTEN, D. R. (2004). "Marine mammal auditory systems : a summary of audiometric and anatomical data and implications for underwater acoustic impacts". In : *Polarforschung* 72.2/3, p. 79-92.
- KIGHT, C. R. et J. P. SWADDLE (2011). "How and why environmental noise impacts animals : an integrative, mechanistic review". In : *Ecology Letters* 14.10, p. 1052-1061.
- KINDA, G. B., F. LE COURTOIS et Y. STÉPHAN (2017). "Ambient noise dynamics in a heavy shipping area". In : *Marine Pollution Bulletin* 124.1, p. 535-546.
- KINSLER, L. E., A. R. FREY, A. B. COPPENS et J. V. SANDERS (1999). "Fundamentals of acoustics". In : *Fundamentals of Acoustics, 4th Edition, by Lawrence E. Kinsler, Austin R. Frey, Alan B. Coppens, James V. Sanders, pp. 560. ISBN 0-471-84789-5. Wiley-VCH, December 1999. P. 560.*
- KLAASSEN, C. D., J. LIU et S. CHOUDHURI (1999). "Metallothionein : an intracellular protein to protect against cadmium toxicity". In : *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 39.1, p. 267-294.
- KÖHLER, D (1973). "A behavioural audiogram of juvenile carp". In : *Experientia* 29.1, p. 125-127.
- LACOURSE, J. R. et R. B. NORTHPROP (1978). "A preliminary study of mechanoreceptors within the anterior byssus retractor muscle of *Mytilus edulis* L". In : *The Biological Bulletin* 155.1, p. 161-168.
- LADICH, F. et R. R. FAY (2013). "Auditory evoked potential audiometry in fish". In : *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 23.3, p. 317-364.
- LAGARDÈRE, J. (1982). "Effects of noise on growth and reproduction of *Crangon crangon* in rearing tanks". In : *Marine Biology* 71.2, p. 177-185.
- LANGO-REYNOSO, F., N. DEVAUCHELLE, M. LE PENNEC et P.-J. HATT (1999). "Elements of reproductive strategy in oysters, *Crassostrea gigas*, from the "Rade de Brest", France". In : *Invertebrate Reproduction & Development* 36.1-3, p. 141-144.
- LASSUS, P., Z. AMZIL, R. BARON, V. SÉCHET, L. BARILLÉ, E. ABADIE, M. BARDOUIL, M. SIBAT, P. TRUQUET, J.-B. BÉRARD et al. (2007). "Modelling the accumulation of PSP toxins in Thau Lagoon oysters (*Crassostrea gigas*) from trials using mixed cultures of *Alexandrium catenella* and *Thalassiosira weissflogii*". In : *Aquatic Living Resources* 20.1, p. 59-67.
- LE BERRE, S, J COURTEL et L BRIGAND (2010). "Etude de la fréquentation nautique du Bassin d'Arcachon". In : *Rapport gouvernementale*.
- LEE, W.-S., P. MONAGHAN et N. B. METCALFE (2013). "Experimental demonstration of the growth rate–lifespan trade-off". In : *proceeding of the Royal Society B* 280.1752, p. 20122370.
- LEIGHTON, T. (1997). *Natural physical processes associated with sea surface sound*. University of Southampton.
- LIGGES, U. (2013). "Tune R". In : *Project R*.
- LILLIS, A., D. B. EGGLESTON et D. R. BOHNENSTIEHL (2013). "Oyster larvae settle in response to habitat-associated underwater sounds". In : *PLoS One* 8.10, e79337.

- LINDELL, H. (2003). *Utgrunden off-shore wind farm-Measurements of underwater noise*. Rapp. tech. Ingemansson Technology AB.
- LIVAK, K. J. et T. D. SCHMITTGEN (2001). "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method". In : *Methods* 25.4, p. 402-408.
- LLOYD, R et D. HERBERT (1962). "The effect of the environment on the toxicity of poisons to fish". In : *Journal of the National Institute of Public Health* 61, p. 132-145.
- LLOYD, R. (1961). "Effect of dissolved oxygen concentrations on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo gairdnerii* Richardson)". In : *Journal of Experimental Biology* 38.2, p. 447-455.
- LØKKEBORG, S. et A. V. SOLDAL (1993). "The influence of seismic exploration with airguns on cod *Gadus morhua* behaviour and catch rates". In : *Marine Science Symposia*. T. 196, p. 62-67.
- LOOSANOFF, V. L. et C. A. NOMEJKO (1949). "Growth of oysters, *Ostrea virginica*, during different months". In : *The Biological Bulletin* 97.1, p. 82-94.
- LOVELL, J., M. FINDLAY, R. MOATE et H. YAN (2005). "The hearing abilities of the prawn *Palaemon serratus*". In : *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Molecular & Integrative Physiology* 140.1, p. 89-100.
- LYTHGOE, J. N. (1988). "Light and vision in the aquatic environment". In : *Sensory biology of aquatic animals*. Springer, p. 57-82.
- MACGILLIVRAY, A. et R. RACCA (2006). "Sound pressure and particle velocity measurements from marine pile driving with bubble curtain mitigation". In : *Canadian Acoustics* 34.3, p. 58-59.
- MAI, H., P. GONZALEZ, P. PARDON, N. TAPIE, H. BUDZINSKI, J. CACHOT et B. MORIN (2014). "Comparative responses of sperm cells and embryos of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to exposure to metolachlor and its degradation products". In : *Aquatic Toxicology* 147, p. 48-56.
- MARIE, V., P. GONZALEZ, M. BAUDRIMONT, I. BOUTET, D. MORAGA, J.-P. BOURDINEAUD et A. BOUDOU (2006). "Metallothionein gene expression and protein levels in triploid and diploid oysters *Crassostrea gigas* after exposure to cadmium and zinc". In : *Environmental Toxicology and Chemistry* 25.2, p. 412-418.
- MARTIN, B., D. G. ZEDDIES, B. GAUDET et J. RICHARD (2016). "Evaluation of Three Sensor Tyes for Particle Motion Measurement". In : *The Effects of Noise on Aquatic Life II*. Springer, p. 679-686.
- MASSABUAU, J.-C. (2001). "From low arterial-to low tissue-oxygenation strategy. An evolutionary theory". In : *Respiration Physiology* 128.3, p. 249-261.
- MASSABUAU, J.-C. et J FORGUE (1996). "A field versus laboratory study of blood oxygen status in normoxic crabs at different temperatures". In : *Canadian Journal of Zoology* 74.3, p. 423-430.

- MASSABUAU, J. et D. ABELE (2011). "Principles of Oxygen Uptake and Tissue Oxygenation in Water-Breathing Animals". In : *Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems*, p. 139-156.
- MASSABUAU, J.-C., A. GUDIMOV, P. BLANC et al. (2015). "Environmental monitoring of Arctic waters with unmanned bivalve biosensor technology : one year of background data acquisition in the Barents Sea". In : *SPE Russian Petroleum Technology Conference*. Society of Petroleum Engineers.
- MAT, A. M., J.-C. MASSABUAU, P. CIRET et D. TRAN (2014). "Looking for the clock mechanism responsible for circatidal behavior in the oyster *Crassostrea gigas*". In : *Marine Biology* 161.1, p. 89-99.
- MCCAULEY, R. (1998). "Radiated underwater noise measured from the drilling rig Ocean General, rig tenders Pacific Ariki and Pacific Frontier, fishing vessel Reef Venture and natural sources in the Timor Sea, Northern Australia". In : *Centre Marina Science & Technology Report*.
- MCCAULEY, R. et J. HUGHES (2006). *Marine seismic mitigation measures – perspectives in 2006*.
- MCDONALD, J., S. WILKENS, J. STANLEY et A. JEFFS (2014). "Vessel generator noise as a settlement cue for marine biofouling species". In : *Biofouling* 30.6, p. 741-749.
- MCDONALD, M. A., J. A. HILDEBRAND et S. C. WEBB (1995). "Blue and fin whales observed on a seafloor array in the Northeast Pacific". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 98.2, p. 712-721.
- MCDONALD, M. A., J. A. HILDEBRAND et S. M. WIGGINS (2006). "Increases in deep ocean ambient noise in the Northeast Pacific west of San Nicolas Island, California". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 120.2, p. 711-718.
- McFADDEN, D. et al. (1973). "Conditional logit analysis of qualitative choice behavior". In : *Frontiers of Econometrics*.
- MCKENNA, M. F., D. ROSS, S. M. WIGGINS et J. A. HILDEBRAND (2012). "Underwater radiated noise from modern commercial ships". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 131.1, p. 92-103.
- MCQUINN, I. H., V. LESAGE, D. CARRIER, G. LARRIVÉE, Y. SAMSON, S. CHARTRAND, R. MICHAUD et J. THERIAULT (2011). "A threatened beluga *Delphinapterus leucas* population in the traffic lane : Vessel-generated noise characteristics of the Saguenay-St. Lawrence Marine Park, Canada". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 130.6, p. 3661-3673.
- MEDWIN, H. et C. S. CLAY (1997). *Fundamentals of acoustical oceanography*. Academic press.
- MELLEN, R. H. (1952). "The Thermal-Noise Limit in the Detection of Underwater Acoustic Signals". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 24.5, p. 478-480.
- MERCHANT, N. D., M. J. WITT, P. BLONDEL, B. J. GODLEY et G. H. SMITH (2012). "Assessing sound exposure from shipping in coastal waters using a single hydrophone

- and Automatic Identification System (AIS) data". In : *Marine Pollution Bulletin* 64.7, p. 1320-1329.
- MERCHANT, N. D., E. PIROTTA, T. R. BARTON et P. M. THOMPSON (2014). "Monitoring ship noise to assess the impact of coastal developments on marine mammals". In : *Marine Pollution Bulletin* 78.1-2, p. 85-95.
- MERCHANT, N. D., K. M. FRISTRUP, M. P. JOHNSON, P. L. TYACK, M. J. WITT, P. BLONDEL et S. E. PARKS (2015). "Measuring acoustic habitats". In : *Methods in Ecology and Evolution* 6.3, p. 257-265.
- MERCK, T., S. WERNER, S. KOSCHINSKI et K. LUDEMANN (2014). *OSPAR inventory of measures to mitigate the emission and environmental impact of underwater noise*. Rapp. tech. Ospar commision 626.
- MIHAIL, P., C. VERGIL, P. TIBERIU, P. ADRIAN, O. VALENTIN et P. CODRUTA (2010). "Assessment of underwater noise produced by ships at the entrance of port Constanta". In : *Proceedings of the 2nd International Conference on Manufacturing Engineering*. T. 4693, p. 65-70.
- MISERAZZI, A. M., M. PERIGAUT, P. CIRET et J.-C. MASSABUAU (2018). "Réponse comportementale, analyse du protéome et bioaccumulation chez *Corbicula fluminea* exposée au pétrole brut dans un contexte multistress. La 14^{ème} édition du colloque international francophone en écotoxicologie aquatique EcoBIM 22-25 Mai 2018". In : Université de Bordeaux, France.
- MØHL, B., M. WAHLBERG, P. T. MADSEN, L. A. MILLER et A. SURLYKKE (2000). "Sperm whale clicks : Directionality and source level revisited". In : *The journal of the Acoustical Society of America* 107.1, p. 638-648.
- MONTGOMERY, J. C., A. JEFFS, S. D. SIMPSON, M. MEEKAN et C. TINDLE (2006). "Sound as an orientation cue for the pelagic larvae of reef fishes and decapod crustaceans". In : *Advances in Marine Biology* 51, p. 143-196.
- MOONEY, T. A., R. T. HANLON, J. CHRISTENSEN-DALSGAARD, P. T. MADSEN, D. R. KETTEN et P. E. NACHTIGALL (2010). "Sound detection by the longfin squid *Loligo pealeii* studied with auditory evoked potentials : sensitivity to low-frequency particle motion and not pressure". In : *Journal of Experimental Biology* 213.21, p. 3748-3759.
- MORTON, A. B. et H. K. SYMONDS (2002). "Displacement of *Orcinus orca* (L.) by high amplitude sound in British Columbia, Canada". In : *ICES Journal of Marine Science* 59.1, p. 71-80.
- MORTON, B. (1985). "Statocyst structure in the Anomalodesmata (Bivalvia)". In : *Journal of Zoology* 206.1, p. 23-34.
- MORTON, B. (1977). "The tidal rhythm of feeding and digestion in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg)". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 26.2, p. 135-151.
- MOSHER, J. (1972). "The responses of *Macoma balthica* (Bivalvia) to vibrations". In : *Journal of Molluscan Studies* 40.2, p. 125-131.

- MYRBERG JR, A. A. (1990). "The effects of man-made noise on the behavior of marine animals". In : *Environment International* 16.4-6, p. 575-586.
- MYRBERG JR, A. A., M. MOHLER et J. D. CATALA (1986). "Sound production by males of a coral reef fish *Pomacentrus partitus* : its significance to females". In : *Animal Behaviour* 34.3, p. 913-923.
- NAVY, D. of (2014). "Naval Base Kitsap at Bangor Test Pile Program Final Marine Mammal Monitoring Report". In : *Prepared by Hart Crowser, Inc. for Naval Facilities Engineering Northwest, Silverdale, WA.*
- NEDELEC, S. L., A. N. RADFORD, S. D. SIMPSON, B. NEDELEC, D. LECCHINI et S. C. MILLS (2014). "Anthropogenic noise playback impairs embryonic development and increases mortality in a marine invertebrate". In : *Scientific Reports* 4, p. 5891.
- NEDELEC, S. L., J. CAMPBELL, A. N. RADFORD, S. D. SIMPSON et N. D. MERCHANT (2016). "Particle motion : the missing link in underwater acoustic ecology". In : *Methods in Ecology and Evolution* 7.7, p. 836-842.
- NEDWELL, J, J LANGWORTHY et D HOWELL (2003a). "Assessment of sub-sea acoustic noise and vibration from offshore wind turbines and its impact on marine wildlife; initial measurements of underwater noise during construction of offshore windfarms, and comparison with background noise". In : *Subacoustech Report ref: 544R0423, published by COWRIE.*
- NEDWELL, J., A. TURNPENNY, J LANGWORTHY et B EDWARDS (2003b). "Measurements of underwater noise during piling at the Red Funnel Terminal, Southampton, and observations of its effect on caged fish". In : *Subacoustics LTD. Report* 558.
- NEDWELL, J. et B EDWARDS (2004). "A review of measurements of underwater man-made noise carried out by Subacoustech Ltd, 1993–2003". In : *Subacoustech Ltd, UK.*
- NEDWELL, J., A. TURNPENNY, J LOVELL, S. PARVIN, R WORKMAN, J. SPINKS et D HOWELL (2007). "A validation of the dBht as a measure of the behavioural and auditory effects of underwater noise". In : *Subacoustech Report Reference : 534R1231, Published by Department for Business, Enterprise and Regulatory Reform.*
- NEUMANN, D. (1978). "Entrainment of a semilunar rhythm by simulated tidal cycles of mechanical disturbance". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 35.1, p. 73-85.
- NEUMEISTER, H. et B. BUDELMANN (1997). "Structure and function of the Nautilus statocyst". In : *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B : Biological Sciences* 352.1361, p. 1565-1588.
- NEW, L. F., J. S. CLARK, D. P. COSTA, E. FLEISHMAN, M. HINDELL, T. KLANJŠČEK, D LUSSEAU, S KRAUS, C. MCMAHON, P. ROBINSON et al. (2014). "Using short-term measures of behaviour to estimate long-term fitness of southern elephant seals". In : *Marine Ecology Progress Series* 496, p. 99-108.
- NIEUKIRK, S. L., K. M. STAFFORD, D. K. MELLINGER, R. P. DZIAK et C. G. FOX (2004). "Low-frequency whale and seismic airgun sounds recorded in the mid-Atlantic Ocean". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 115.4, p. 1832-1843.

- NORMANDEAU (2012). *Effects of noise on fish, fisheries, and invertebrates in the US Atlantic and Arctic from energy industry sound-generating activities*. Rapp. tech. US Dept of the Interior, Bureau of Ocean Energy Management.
- NYSTUEN, J. A. et D. M. FARMER (1987). "The influence of wind on the underwater sound generated by light rain". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 82.1, p. 270-274.
- ODIETE, W. (1978). "The cruciform muscle and its associated sense organ in *Scrobicularia plana* (da Costa)". In : *Journal of Molluscan Studies* 44.2, p. 180-189.
- OECD/ITF (2017). *ITF Transport Outlook 2017*.
- ONDIVIELA, B., A. G. GÓMEZ, A. PUENTE et J. A. JUANES (2013). "A pragmatic approach to define the ecological potential of water bodies heavily modified by the presence of ports". In : *Environmental Science & Policy* 33, p. 320-331.
- PACKARD, A, H. KARLSEN et O SAND (1990). "Low frequency hearing in cephalopods". In : *Journal of Comparative Physiology A* 166.4, p. 501-505.
- PALACE, V., H. MAJEWSKI et J. KLAVERKAMP (1993). "Interactions among antioxidant defenses in liver of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to cadmium". In : *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50.1, p. 156-162.
- PAN, K. et W.-X. WANG (2008). "The subcellular fate of cadmium and zinc in the scallop *Chlamys nobilis* during waterborne and dietary metal exposure". In : *Aquatic Toxicology* 90.4, p. 253-260.
- PARK, K., R. KIM, J. J. PARK, H. C. SHIN, J. S. LEE, H. S. CHO, Y. G. LEE, J. KIM et I.-S. KWAK (2012). "Ecotoxicological evaluation of tributyltin toxicity to the equilateral venus clam, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia : Veneridae)". In : *Fish & Shellfish Immunology* 32.3, p. 426-433.
- PATEK, S. et R. CALDWELL (2006). "The stomatopod rumble : Low frequency sound production in *Hemisquilla californiensis*". In : *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 39.2, p. 99-111.
- PAYNE, R. et D. WEBB (1971). "Orientation by means of long range acoustic signaling in baleen whales". In : *Annals of the New York Academy of Sciences* 188.1, p. 110-141.
- PAYTON, L., M. SOW, J.-C. MASSABUAU, P. CIRET et D. TRAN (2017a). "How annual course of photoperiod shapes seasonal behavior of diploid and triploid oysters, *Crassostrea gigas*". In : *PloS One* 12.10, e0185918.
- PAYTON, L., M. PERRIGAULT, J.-P. BOURDINEAUD, A. MARCEL, J.-C. MASSABUAU et D. TRAN (2017b). "Trojan Horse Strategy for Non-invasive Interference of Clock Gene in the Oyster *Crassostrea gigas*". In : *Marine Biotechnology* 19.4, p. 361-371.
- PENG, C., X. ZHAO et G. LIU (2015). "Noise in the sea and its impacts on marine organisms". In : *International Journal of Environmental Research and Public Health* 12.10, p. 12304-12323.
- PENG, C., X. ZHAO, S. LIU, W. SHI, Y. HAN, C. GUO, J. JIANG, H. WAN, T. SHEN et G. LIU (2016). "Effects of anthropogenic sound on digging behavior, metabolism, Ca

- 2+/Mg 2+ ATPase activity, and metabolism-related gene expression of the bivalve *Sinonovacula constricta*". In : *Scientific Reports* 6, p. 24266.
- PETERS, B. (2018). "Marine Environmental Protection and Climate Change". In : *Handbook on Marine Environment Protection*. Springer, p. 891-904.
- PETROVIC, S, E DALBERG, R. LENNARTSSON et L PERSSON (2008). "Analysis of underwater acoustic and electric noise in the port of Gothenburg". In : *OCEANS 2008*. IEEE, p. 1-5.
- PICCIULIN, M., L. SEBASTIANUTTO, A. CODARIN, A. FARINA et E. A. FERRERO (2010). "In situ behavioural responses to boat noise exposure of *Gobius cruentatus* (Gmelin, 1789; fam. Gobiidae) and *Chromis chromis* (Linnaeus, 1758; fam. Pomacentridae) living in a Marine Protected Area". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 386.1-2, p. 125-132.
- PIERRON, F., M. BAUDRIMONT, A. BOUDOU et J.-C. MASSABUAU (2007). "Effects of salinity and hypoxia on cadmium bioaccumulation in the shrimp *Palaemon longirostris*". In : *Environmental Toxicology and Chemistry* 26.5, p. 1010-1017.
- POPPER, A. et D. M. HIGGS (2009). "Fish : hearing, lateral lines (Mechanisms, role in behavior, adaptations to life underwater)". In : *Elements of Physical Oceanography : A derivative of the Encyclopedia of Ocean Sciences*, p. 372.
- POPPER, A. N. et R. R. FAY (2011). "Rethinking sound detection by fishes". In : *Hearing Research* 273.1-2, p. 25-36.
- POPPER, A. N. et M. HASTINGS (2009). "The effects of anthropogenic sources of sound on fishes". In : *Journal of Fish Biology* 75.3, p. 455-489.
- POPPER, A. N. et A. D. HAWKINS (2018). "The importance of particle motion to fishes and invertebrates". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 143.1, p. 470-488.
- POPPER, A. N., M. SALMON et K. W. HORCH (2001). "Acoustic detection and communication by decapod crustaceans". In : *Journal of Comparative Physiology A* 187.2, p. 83-89.
- POPPER, A. N., R. R. FAY, C. PLATT et O. SAND (2003). "Sound detection mechanisms and capabilities of teleost fishes". In : *Sensory processing in aquatic environments*. Springer, p. 3-38.
- POPPER, A. N., M. E. SMITH, P. A. COTT, B. W. HANNA, A. O. MACGILLIVRAY, M. E. AUSTIN et D. A. MANN (2005). "Effects of exposure to seismic airgun use on hearing of three fish species". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 117.6, p. 3958-3971.
- POPPER, A. N., A. D. HAWKINS, R. R. FAY, D. A. MANN, S. BARTOL, T. J. CARLSON, S. COOMBS, W. T. ELLISON, R. L. GENTRY, M. B. HALVORSEN et al. (2014). *ASA S3/SC1. 4 TR-2014 Sound exposure guidelines for fishes and sea turtles : A technical report prepared by ANSI-Accredited standards committee S3/SC1 and registered with ANSI*. Springer.
- POTTER, J. et E. DELORY (1998). "Noise sources in the sea and the impact for those who live there". In : *Acoustics and Vibrations, Asia* 98.

- PUMPHREY, R. (1950). "Hearing". In : *Symposia of the Society for Experimental Biology*. T. 4. Compagny Biologists LTD Univ Cambridge Dept Zoology, Downing St, Cambridge CB2 3EJ, Cambs, England, p. 3-18.
- PURSER, J. et A. N. RADFORD (2011). "Acoustic noise induces attention shifts and reduces foraging performance in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*)". In : *PLoS One* 6.2, e17478.
- RADFORD, A. N., L. LÈBRE, G. LECAILLON, S. L. NEDELEC et S. D. SIMPSON (2016). "Repeated exposure reduces the response to impulsive noise in European seabass". In : *Global Change Biology* 22.10, p. 3349-3360.
- RADFORD, C. A., J. C. MONTGOMERY, P. CAIGER et D. M. HIGGS (2012). "Pressure and particle motion detection thresholds in fish : a re-examination of salient auditory cues in teleosts". In : *Journal of Experimental Biology* 215.19, p. 3429-3435.
- RAMCHARITAR, J. et A. N. POPPER (2004). "Masked auditory thresholds in sciaenid fishes : a comparative study". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 116.3, p. 1687-1691.
- RANDALL, D, H LIN et P. WRIGHT (1991). "Gill water flow and the chemistry of the boundary layer". In : *Physiological Zoology* 64.1, p. 26-38.
- RIAL, D., V. M. LEÓN et J. BELLAS (2017). "Integrative assessment of coastal marine pollution in the Bay of Santander and the Upper Galician Rias". In : *Journal of Sea Research* 130, p. 239-247.
- RICHARDSON, W. J., C. R. GREENE JR, C. I. MALME et D. H. THOMSON (2013). *Marine mammals and noise*. Academic press.
- ROBERTS, L., S. CHEESMAN, T. BREITHAUPT et M. ELLIOTT (2015). "Sensitivity of the mussel *Mytilus edulis* to substrate-borne vibration in relation to anthropogenically generated noise". In : *Marine Ecology Progress Series* 538, p. 185-195.
- ROBERTS, L., S. CHEESMAN, M. ELLIOTT et T. BREITHAUPT (2016). "Sensitivity of *Pagurus bernhardus* (L.) to substrate-borne vibration and anthropogenic noise". In : *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 474, p. 185-194.
- ROBINSON, S., P. LEPPER et R. HAZELWOOD (2014). "Good practice guide for underwater noise measurement". In : *NPL Good Practice Guide* 133.
- ROGERS, P. H. et M. COX (1988). "Underwater sound as a biological stimulus". In : *Sensory biology of aquatic animals*. Springer, p. 131-149.
- ROGERS, P. H., A. D. HAWKINS, A. N. POPPER, R. R. FAY et M. D. GRAY (2016). "Parvulescu revisited : small tank acoustics for bioacousticians". In : *The effects of noise on aquatic life II*. Springer, p. 933-941.
- ROLLAND, R. M., S. E. PARKS, K. E. HUNT, M. CASTELLOTE, P. J. CORKERON, D. P. NOWACEK, S. K. WASSER et S. D. KRAUS (2012). "Evidence that ship noise increases stress in right whales". In : *Proceedings of the Royal Society of London B : Biological Sciences* 279.1737, p. 2363-2368.
- ROMANO, T., M. KEOGH, C KELLY, P FENG, L BERK, C. SCHLUNDT, D. CARDER et J. FINNERAN (2004). "Anthropogenic sound and marine mammal health : measures

- of the nervous and immune systems before and after intense sound exposure". In : *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61.7, p. 1124-1134.
- ROMEO, M, N BENNANI, M GNASSIA-BARELLI, M LAFaurIE et J. GIRARD (2000). "Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*". In : *Aquatic Toxicology* 48.2-3, p. 185-194.
- Ross, D. (1993). "On Ocean Ambient Noise". In : *Acoustics Bulletin* 18, p. 5-5.
- (2005). "Ship sources of ambient noise". In : *IEEE Journal of Oceanic Engineering* 30.2, p. 257-261.
- (2013). *Mechanics of underwater noise*. Elsevier.
- RUESINK, J., B. E. FEIST, C. HARVEY, J. HONG, A. TRIMBLE et L. WISEHART (2006). "Changes in productivity associated with four introduced species : ecosystem transformation of a 'pristine' estuary". In : *Marine Ecology Progress Series* 311, p. 203-216.
- RUIZ, J. M., B. CARRO, N. ALBAINA, R. BARREIRO, D. RIAL et J. BELLAS (2018). "Extended imposex monitoring in N Atlantic Spain confirms punctual attainment of European environmental objectives for TBT". In : *Marine Pollution Bulletin* 126, p. 462-466.
- SAAVEDRA, Y., A. GONZÁLEZ et J. BLANCO (2008). "Anatomical distribution of heavy metals in the scallop *Pecten maximus*". In : *Food Additives and Contaminants* 25.11, p. 1339-1344.
- SALMON, M. (1971). "Signal characteristics and acoustic detection by the fiddler crabs, *Uca rapax* and *Uca pugilator*". In : *Physiological Zoology* 44.4, p. 210-224.
- SALMON, M. et S. P. ATSAIDES (1969). "Sensitivity to substrate vibration in the fiddler crab, *Uca pugilator* Bosc". In : *Animal Behaviour* 17, p. 68-76.
- SALMON, M. et K. HORCH (1973). "Vibration reception by the fiddler crab, *Uca minax*". In : *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Physiology* 44.2, p. 527-541.
- SALMON, M. et K. W. HORCH (1972). "Acoustic signalling and detection by semiterrestrial crabs of the family Ocypodidae". In : *Behavior of marine animals*. Springer, p. 60-96.
- SAMSON, J, R. S. DEVI, R RAVINDRAN et M SENTHILVELAN (2005). "Effect of noise stress on free radical scavenging enzymes in brain". In : *Environmental Toxicology and Pharmacology* 20.1, p. 142-148.
- SAMSON, J. E., T. A. MOONEY, S. W. GUSSEKLOO et R. T. HANLON (2014). "Graded behavioral responses and habituation to sound in the common cuttlefish *Sepia officinalis*". In : *Journal of Experimental Biology* 217.24, p. 4347-4355.
- SAND, O. et H. E. KARLSEN (1986). "Detection of infrasound by the Atlantic cod". In : *Journal of Experimental Biology* 125.1, p. 197-204.
- SAND, O., P. S. ENGER, H. E. KARLSEN, F. KNUDSEN et T. KVERNSTUEN (2000). "Avoidance responses to infrasound in downstream migrating European silver eels, *Anguilla anguilla*". In : *Environmental Biology of Fishes* 57.3, p. 327-336.
- SARÀ, G, J. DEAN, D D'AMATO, G BUSCAINO, A OLIVERI, S GENOVESE, S FERRO, G BUFFA, M LO MARTIRE et S MAZZOLA (2007). "Effect of shipping traffic on

- behaviour of bluefin tuna *Thunnus thynnus*". In : *Marine Ecology Progress Series* 331, p. 243-253.
- SCARGLE, J. D. (1982). "Studies in astronomical time series analysis. II-Statistical aspects of spectral analysis of unevenly spaced data". In : *The Astrophysical Journal* 263, p. 835-853.
- SCHOLIK, A. R. et H. Y. YAN (2001). "Effects of underwater noise on auditory sensitivity of a cyprinid fish". In : *Hearing Research* 152.1-2, p. 17-24.
- SCHWARTZMANN, C., G. DURRIEU, M. SOW, P. CIRET, C. E. LAZARETH et J.-C. MASSABUAU (2011). "In situ giant clam growth rate behavior in relation to temperature : A one-year coupled study of high-frequency noninvasive valvometry and sclerochronology". In : *Limnology and Oceanography* 56.5, p. 1940-1951.
- SHI, Q. et G. E. GIBSON (2011). "Up-regulation of the mitochondrial malate dehydrogenase by oxidative stress is mediated by miR-743a". In : *Journal of Neurochemistry* 118.3, p. 440-448.
- SHOOTER, J. A., T. E. DEMARY et R. A. KOCH (1982). *Ambient Noise in the Western Gulf of Mexico*. Rapp. tech. Texas univ at Austin applied research labs.
- SIGRAY, P. et M. H. ANDERSSON (2011). "Particle motion measured at an operational wind turbine in relation to hearing sensitivity in fish". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 130.1, p. 200-207.
- SISNEROS, J. A., A. N. POPPER, A. D. HAWKINS et R. R. FAY (2016). "Auditory evoked potential audiograms compared with behavioral audiograms in aquatic animals". In : *The Effects of Noise on Aquatic Life II*. Springer, p. 1049-1056.
- SLABBEKOORN, H., N. BOUTON, I. van OPZEELAND, A. COERS, C. ten CATE et A. N. POPPER (2010). "A noisy spring : the impact of globally rising underwater sound levels on fish". In : *Trends in Ecology & Evolution* 25.7, p. 419-427.
- SOLAN, M. et N. WHITELEY (2016). *Stressors in the Marine Environment : Physiological and ecological responses ; societal implications*. Oxford University Press.
- SOLAN, M., C. HAUTON, J. A. GODBOLD, C. L. WOOD, T. G. LEIGHTON et P. WHITE (2016). "Anthropogenic sources of underwater sound can modify how sediment dwelling invertebrates mediate ecosystem properties". In : *Scientific Reports* 6, p. 20540.
- SOTO, N. A. de (2016). "Peer-reviewed studies on the effects of anthropogenic noise on marine invertebrates : from scallop larvae to giant squid". In : *The Effects of Noise on Aquatic Life II*. Springer, p. 17-26.
- SOUTHALL, B. L., A. E. BOWLES, W. T. ELLISON, J. J. FINNERAN, R. L. GENTRY, C. R. GREENE JR, D. KASTAK, D. R. KETTEN, J. H. MILLER, P. E. NACHTIGALL et al. (2008). "Marine mammal noise-exposure criteria : initial scientific recommendations". In : *Bioacoustics* 17.1-3, p. 273-275.
- SOW, M., G. DURRIEU, L. BRIOLLAIS, P. CIRET et J.-C. MASSABUAU (2011). "Water quality assessment by means of HFNI valvometry and high-frequency data modeling". In : *Environmental Monitoring and Assessment* 182.1-4, p. 155-170.

- SPIGA, I., S. CHEESMAN, A. HAWKINGS, R. PEREZ-DOMINGUEZ, L. ROBERTS, D. HUGHES, M. ELLIOTT, J. NEDWELL et M. BENTLEY (2012). *Understanding the Scale and Impacts of Anthropogenic Noise upon Fish and Invertebrates in the Marine Environment*. Rapp. tech. Soundwaves consortium.
- STUDDS, G. E. et A. J. WRIGHT (2007). "A brief review of anthropogenic sound in the oceans". In : *International Journal of Comparative Psychology* 20.2.
- SUEUR, J., T. AUBIN, C. SIMONIS, L. LELLOUCH, E. C. BROWN, M. DEPRAETERE, C. DESJONQUERES, F. FABIANEK, A. GASC, E. KASTEN et al. (2018). "Package 'seawa-ve'". In : *Cran R Project*.
- SUN, Y., Y. SONG, J. ZHAO, J. CHEN, Y. YUAN, S. JIANG et D. ZHANG (2001). "Effect of drilling noise and vibration on growth of carp (*Cyprinus carpio*) by cut-fin marking method." In : *Marine Fisheries Research/Haiyang Shuichan Yanjiu*. Qingdao 22.1, p. 62-68.
- TAMAYO, D., I. IBARROLA, I. URRUTXURTU et E. NAVARRO (2014). "Physiological basis of extreme growth rate differences in the spat of oyster (*Crassostrea gigas*)". In : *Marine Biology* 161.7, p. 1627-1637.
- TASKER, M., M AMUNDIN, M ANDRE, A HAWKINS, W LANG, T MERCK, A SCHOLIK-SCHLOMER, J TEILMANN, F THOMSEN, S WERNER et al. (2010). "Marine Strategy Framework Directive Task Group 11 Report Underwater noise and other forms of energy". In : *Report No. EUR 24341*.
- TAUTZ, J (1987). "Water vibration elicits active antennal movements in the crayfish, *Orconectes limosus*". In : *Animal Behaviour* 35.3, p. 748-754.
- TAVOLGA, W. N. (1971). "Sound Production and Detection". In : *Fish physiology*. T. 5. Elsevier, p. 135-205.
- TAVOLGA, W. N., A. N. POPPER et R. R. FAY (2012). *Hearing and sound communication in fishes*. Springer Science & Business Media.
- TAYLOR, J. et S. PATEK (2010). "Crustacean seismic communication : heard but not present". In : *The use of vibrations in communication : properties, mechanisms and function across taxa*. Research Signpost, Trivandrum, Kerala.
- TEAM, R. C. (2017). *R : A language and environment for statistical computing [Internet]*. Vienna, Austria : R Foundation for Statistical Computing.
- THÉVENOD, F. (2009). "Cadmium and cellular signaling cascades : to be or not to be?" In : *Toxicology and Applied Pharmacology* 238.3, p. 221-239.
- THOMAS, J. A., R. A. KASTELEIN et F. T. AWBREY (1990). "Behavior and blood catecholamines of captive belugas during playbacks of noise from an oil drilling platform". In : *Zoo Biology* 9.5, p. 393-402.
- THOMPSON, P. M., D. LUSSEAU, T. BARTON, D. SIMMONS, J. RUSIN et H. BAILEY (2010). "Assessing the responses of coastal cetaceans to the construction of offshore wind turbines". In : *Marine Pollution Bulletin* 60.8, p. 1200-1208.

- THOMSEN, F., K. LÜDEMANN, R. KAFEMANN et W. PIPER (2006). "Effects of offshore wind farm noise on marine mammals and fish". In : *Biola, Hamburg, Germany on behalf of COWRIE Ltd* 62.
- TONOLLA, D., M. S. LORANG, K. HEUTSCHI et K. TOCKNER (2009). "A flume experiment to examine underwater sound generation by flowing water". In : *Aquatic Sciences* 71.4, p. 449-462.
- TRAN, D., A. BOUDOU et J.-C. MASSABUAU (2001). "How water oxygenation level influences cadmium accumulation pattern in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* : a laboratory and field study". In : *Environmental Toxicology and Chemistry* 20.9, p. 2073-2080.
- (2002). "Relationship between feeding-induced ventilatory activity and bioaccumulation of dissolved and algal-bound cadmium in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*". In : *Environmental Toxicology and Chemistry* 21.2, p. 327-333.
- TRAN, D., P. CIRET, A. CIUTAT, G. DURRIEU et J.-C. MASSABUAU (2003). "Estimation of potential and limits of bivalve closure response to detect contaminants : application to cadmium". In : *Environmental Toxicology and Chemistry* 22.4, p. 914-920.
- TRAN, D., H. HABERKORN, P. SOUDANT, P. CIRET et J.-C. MASSABUAU (2010). "Behavioral responses of *Crassostrea gigas* exposed to the harmful algae *Alexandrium minutum*". In : *Aquaculture* 298.3-4, p. 338-345.
- TRAN, D., A. NADAU, G. DURRIEU, P. CIRET, J.-P. PARISOT et J.-C. MASSABUAU (2011). "Field chronobiology of a molluscan bivalve : how the moon and sun cycles interact to drive oyster activity rhythms". In : *Chronobiology International* 28.4, p. 307-317.
- TRAN, D., A. CIUTAT, A. MAT, J.-C. MASSABUAU, H. HÉGARET, C. LAMBERT, N. LE GOIC et P. SOUDANT (2015). "The toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* disrupts daily rhythmic activities at gene transcription, physiological and behavioral levels in the oyster *Crassostrea gigas*". In : *Aquatic Toxicology* 158, p. 41-49.
- TRAN, D., M. SOW, L. CAMUS, P. CIRET, J. BERGE et J.-C. MASSABUAU (2016). "In the darkness of the polar night, scallops keep on a steady rhythm". In : *Scientific Reports* 6, p. 32435.
- TSIRULIS, T. (1981). "The ultrastructural organization of statocysts of some bivalvia mollusks (*Ostrea edulis*, *Mytilus edulis*, *Anodonta cygnea*)". In : *Tsitologiya* 23.6, p. 631.
- TYACK, P. (1981). "Interactions between singing Hawaiian humpback whales and conspecifics nearby". In : *Behavioral Ecology and Sociobiology* 8.2, p. 105-116.
- TYACK, P. L., W. M. ZIMMER, D. MORETTI, B. L. SOUTHALL, D. E. CLARIDGE, J. W. DURBAN, C. W. CLARK, A. D'AMICO, N. DIMARZIO, S. JARVIS et al. (2011). "Beaked whales respond to simulated and actual navy sonar". In : *PloS One* 6.3, e17009.
- UBERTINI, M., F. LAGARDE, S. MORTREUX, P. LE GALL, C. CHIANTELLA, A. FIANDRINO, I. BERNARD, S. POUVREAU et E. R. D'ORBCASTEL (2017). "Gametogenesis, spawning behavior and larval abundance of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in the Thau lagoon : Evidence of an environment-dependent strategy". In : *Aquaculture* 473, p. 51-61.

- UNCTAD (2016). *Review of Maritime Transport 2016*.
- URICK, R. J. (1984). *Ambient noise in the sea*. Rapp. tech. Catholic univ of America Washington DC.
- VABØ, R., K. OLSEN et I. HUSE (2002). "The effect of vessel avoidance of wintering Norwegian spring spawning herring". In : *Fisheries Research* 58.1, p. 59-77.
- VASCONCELOS, R. O., M. C. P. AMORIM et F. LADICH (2007). "Effects of ship noise on the detectability of communication signals in the Lusitanian toadfish". In : *Journal of Experimental Biology* 210.12, p. 2104-2112.
- VAZZANA, M., M. CELI, G. MARICCHIOLO, L. GENOVESE, V. CORRIAS, E. M. QUINCI, G. de VINCENZI, V. MACCARRONE, G. CAMMILLERI, S. MAZZOLA et al. (2016). "Are mussels able to distinguish underwater sounds? Assessment of the reactions of *Mytilus galloprovincialis* after exposure to lab-generated acoustic signals". In : *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Molecular & Integrative Physiology* 201, p. 61-70.
- VERMEIJ, G. J. (2010). "Sound reasons for silence : why do molluscs not communicate acoustically?" In : *Biological Journal of the Linnean Society* 100.3, p. 485-493.
- WAHLBERG, M. et H. WESTERBERG (2005). "Hearing in fish and their reactions to sounds from offshore wind farms". In : *Marine Ecology Progress Series* 288, p. 295-309.
- WALE, M. A., S. D. SIMPSON et A. N. RADFORD (2013a). "Noise negatively affects foraging and antipredator behaviour in shore crabs". In : *Animal Behaviour* 86.1, p. 111-118.
- (2013b). "Size-dependent physiological responses of shore crabs to single and repeated playback of ship noise". In : *Biology Letters* 9.2, p. 20121194.
- WATKINS, W. A. (1980). "Acoustics and the behavior of sperm whales". In : *Animal sonar systems*. Springer, p. 283-290.
- WEILGART, L. S. (2007). "The impacts of anthropogenic ocean noise on cetaceans and implications for management". In : *Canadian Journal of Zoology* 85.11, p. 1091-1116.
- WENZ, G. M. (1961). "Some Periodic Variations in Low-Frequency Acoustic Ambient Noise Levels in the Ocean". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 33.1, p. 64-74.
- (1962). "Acoustic ambient noise in the ocean : spectra and sources". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 34.12, p. 1936-1956.
- WILLE, P (1986). "3.2. 6.3-4 Shallow-water transmission loss, Fluctuation of transmitted sound". In : *Subvolume A*. Springer, p. 338-348.
- WILLIAMS, R., A. J. WRIGHT, E. ASHE, L. BLIGHT, R. BRUINTJES, R. CANESSA, C. CLARK, S. CULLIS-SUZUKI, D. DAKIN, C. ERBE et al. (2015). "Impacts of anthropogenic noise on marine life : publication patterns, new discoveries, and future directions in research and management". In : *Ocean & Coastal Management* 115, p. 17-24.
- WILLIAMSON, R (1988). "Vibration sensitivity in the statocyst of the northern octopus, *Eledone cirrosa*". In : *Journal of Experimental Biology* 134.1, p. 451-454.

- WILSON, B., R. S. BATTY et L. M. DILL (2004). "Pacific and Atlantic herring produce burst pulse sounds". In : *Proceedings of the Royal Society of London B : Biological Sciences* 271.Suppl 3, S95-S97.
- WILSON JR, O., S. N. WOLF et F. INGENITO (1985). "Measurements of acoustic ambient noise in shallow water due to breaking surf". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 78.1, p. 190-195.
- WYSOCKI, L. E., J. P. DITTAMI et F. LADICH (2006). "Ship noise and cortisol secretion in European freshwater fishes". In : *Biological Conservation* 128.4, p. 501-508.
- ZEDDIES, D. G., R. R. FAY, P. W. ALDERKS, K. S. SHAUB et J. A. SISNEROS (2010). "Sound source localization by the plainfin midshipman fish, *Porichthys notatus*". In : *The Journal of the Acoustical Society of America* 127.5, p. 3104-3113.
- ZEDDIES, D. G., R. R. FAY, M. D. GRAY, P. W. ALDERKS, A. ACOB et J. A. SISNEROS (2012). "Local acoustic particle motion guides sound-source localization behavior in the plainfin midshipman fish, *Porichthys notatus*". In : *Journal of Experimental Biology* 215.1, p. 152-160.
- ZELICK, R., D. A. MANN et A. N. POPPER (1999). "Acoustic communication in fishes and frogs". In : *Comparative hearing : fish and amphibians*. Springer, p. 363-411.
- ZHADAN, P. (2005). "Directional sensitivity of the Japanese scallop *Mizuhopecten yessoensis* and Swift scallop *Chlamys swifti* to water-borne vibrations". In : *Russian Journal of Marine Biology* 31.1, p. 28-35.
- ZHADAN, P. et P. SEMEN'KOV (1984). "An electrophysiological study of the mechanoreceptory function of abdominal sense organ of the scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay)". In : *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Physiology* 78.4, p. 865-870.