

Moyens de luttres et valorisation des bigorneaux perceurs en secteur mytilicole



*Basuyaux O., V. Lefebvre, T. Gauquelin,
N. Laisney, D. Roussel, B. Auger & M.
Guibergia, 2015*

Convention 2013PCM15

Avec la participation technique de

Comité régional de la conchyliculture

Normandie Mer du Nord

LABEO Franck Duncombe

Université de Caen – Corrodys

CNAM-INTECHMER

AQUACAEN

CRITAL TECH

Lycée Hôtelier Maurice Marland Granville

Restaurant L'escapade Luc sur mer

Benjamin Auger

Marine Guibergia & Déborah Roussel



Avec la participation financière de :

Conseil Régional de Basse-Normandie



Fond Européen FEP-CPER



Conseil départemental de la Manche



Synergie Mer et Littoral



Table des matières

Avec la participation technique de.....	1
Avec la participation financière de :.....	2
Introduction.....	4
1-Moyens de lutte	7
1.1-Destruction des capsules	7
1.1.1-Evaluation de la durée d'incubation des capsules	7
1.1.2-Utilisation de la chaleur pour la destruction des capsules	8
1.2-Actions sur les juvéniles : Balnéation dans la saumure	11
1.3-Ramassage des adultes	13
1.3.1- Ramassage dans les concessions mytilicoles	13
1.3.2- Ramassage hors concession	15
1.3.3- Techniques de ramassage	20
2-Valorisation des nuelles.....	23
2.1- Alimentation humaine	23
2.1.1- Fraicheur des nuelles.....	23
2.1.2- Elaboration de recettes.....	24
2.1.3- Etude auprès des consommateurs.....	26
2.2- Production de teinture	29
2.2.1- L'utilisation du pourpre dans la littérature	29
2.2.2- techniques d'extractions des teintures.....	33
2.2.3- Essais d'extraction de teinture	34
2.3- Autres pistes : molécules d'intérêts pharmaceutiques.....	40
Conclusion	42
La lutte contre les perceurs.....	42
La valorisation des nuelles.....	42

Introduction

Parmi les prédateurs et parasites que sont les vers trématodes, les copépodes, les étoiles de mer ou encore les oiseaux marins, les bigorneaux perceurs sont présents en masse sur les zones d'élevage. Ils appartiennent tous à la famille des Muricidés, cependant on rencontre plusieurs espèces sur les concessions, lesquelles ont chacune leurs particularités. *Ocenebra erinacea*, espèce indigène et *Ocenebra inornata*, espèce exotique récemment introduite sont des consommateurs privilégiés des huîtres et posent donc problème sur les concessions ostréicoles (Basuyaux & Brunet, 2007). *Nucella lapillus*, lui, consomme des moules et balanes. Il est la cause de réels ravages au sein des parcs à moules (Basuyaux & Jahier, 2001, Basuyaux, 2002, Basuyaux & Lelievre, 2003). Tous sont communément appelés "bigorneaux perceurs" par les professionnels.



Photo 1 & 2 : *Ocenebra erinacea* et *ocenebrelus inornata*



Photo 3 : *Nucella lapillus*

Une étude réalisée en 2012 a permis d'évaluer l'impact de la prédation des Muricidés sur deux espèces de bivalves aquacultivées, l'huître *Crassostrea gigas* dont le grossissement se déroule dans des poches placées sur des tables dans les zones de parcs, et la moule *Mytilus edulis* qui croît sur des pieux appelés bouchot, ou préalablement fixés sur des cordes (Basuyaux *et al.*, 2012). Depuis quelques années, les pertes liées à ces perceurs s'amplifient en particulier pour les mytiliculteurs qui peuvent

enregistrer plusieurs kilogrammes de perte par bouchot, voir la totalité du pieu (photos 4 & 5). Sur certains bouchots, il a été dénombré plus de 100 perceurs provoquant la perte de plusieurs dizaines de kilogrammes de moules sur chaque pieu.



*Photo 4 & 5 : Pieux à moules infestés
par les perceurs*

Les mytiliculteurs ramassent ces perceurs sur leurs concessions pour limiter les pertes mais de nombreux secteurs non concessionnés ne font pas l'objet de nettoyage et servent de zone de reproduction permettant d'amplifier ce phénomène. La valorisation de ces produits pourrait permettre de stimuler ce ramassage, notamment par des pêcheurs à pied professionnels.

Les qualités gustatives des nuelles, et surtout d'*Ocenebra sp.*, apparaissent très limitées. Une consommation des nuelles est toutefois possible. Il semble que ce produit était vendu sur certains marchés de Basse-Normandie, il y a encore quelques années.

En revanche, le nuelle appelé « pourpre » était utilisé pour produire un colorant rouge foncé. En effet, la glande tinctoriale est une caractéristique majeure des muricidés. Cette glande extrêmement fragile offre une substance jaunâtre qui exposée à la lumière devient verte, puis violacée avant de prendre une couleur rouge pourpre (d'où le nom commun des nuelles). Ce colorant naturel était utilisé pour teindre les tissus ou les peaux mais également pour décorer les murs des villas gallo-romaines, certains indices laissent à penser que ce colorant était utilisé dès le paléolithique (Cocaign, 1997).

L'objectif de cette étude est double :

- Evaluer les moyens de lutte contre les nuelles aux différents stades de leur vie (œufs, juvéniles, adultes).

Des ramassages ont été effectués massivement d'une part par les mytiliculteurs eux-mêmes sur leur concession et par une action collective sur les secteurs rocheux non concessionnés. Ces ramassages sont intervenus avant la période de ponte (janvier/mars) pour éviter la multiplication des perceurs et durant la période de ponte où les perceurs se regroupent. Les œufs pondus ont été détruits.

La dynamique de reproduction des perceurs permettra de connaître les moments clefs pour intervenir sur ce prédateur. Un suivi des pontes (mise en capsule) et d'éclosion (après environ 2 mois) sera réalisé durant la période hivernale, afin de mieux cerner les périodes à risque.

- Evaluer les pistes de valorisation des nuelles.

Plusieurs pistes de valorisation ont été évaluées. Deux d'entre elle ont particulièrement été explorée. D'une par la valorisation du colorant pourpre et d'autre part pour la consommation humaine. Des collaborations ont été développées avec différents partenaires (Lycée hôtelier de Granville, restaurateurs, Laboratoire suisse Cristal Tech...).

1-Moyens de lutte

1.1-Destruction des capsules

1.1.1-Evaluation de la durée d'incubation des capsules

Matériel et méthode

Des nuelles adultes ont été prélevés à la pointe d'Agon (Agon Coutainville, 50, France) au mois de février et stockées dans un bassin aéré à la même température que l'eau de mer. Les premières pontes sont récupérées sur des supports et placés dans 5 bacs à différentes températures entre 8 et 18°C. Un enregistreur de température permet de réaliser automatiquement une mesure horaire. Les éclosions sont observées afin d'identifier la durée d'incubation à chaque température.

Résultats

Les éclosions interviennent après 44 jours à 18.1°C et 116 jours à 8.7°C. La figure ci-dessous montre une bonne corrélation entre la température et le nombre de jour d'incubation ($r^2 > 0.99$)

Température moyenne (°C)	Nombre de jour d'incubation
18,1	44
12,9	69
10,8	86
9,6	109
8,7	116

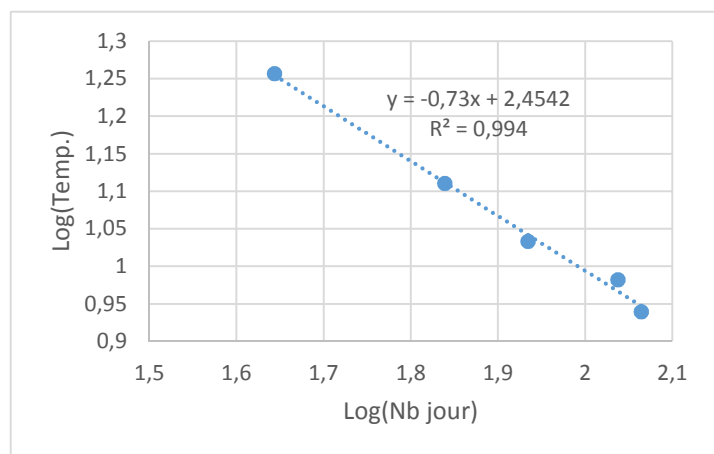


Figure 1 : Relation entre la température et le nombre de jours d'incubation nécessaire pour l'éclosion des capsules de nuelles

Ces données laissent supposer que la durée d'incubation des œufs de nuelles suit un modèle en degrés jour avec une température minimale de développement de 3.46°C et une accumulation de 640°C.

$$680 = \sum_{k=0}^n (T - 3.46)$$



Photo 6 : Juvéniles de nuelles en cour d'éclosion

Discussion

Cette expérimentation permet d'indiquer que les capsules ont besoin de près de 3 mois de maturation pour que l'éclosion se réalise. Cette durée suffisamment longue permet d'intervenir durant une période assez longue afin de détruire les œufs avant éclosion. Toutefois, cette expérimentation a été réalisée avec des capsules en permanences immergés or la déshydratation peut accélérer l'ouverture des capsules et donc diminuer la durée d'incubation. Cette expérimentation a permis également de constater que lors de l'éclosion dans les bassins les juvéniles flottaient à la surface de l'eau durant plusieurs heures, alors que ces juvéniles sont « rampant ». Ce phénomène va accentuer la dispersion des nuelles. Les conditions météorologiques et la courantologie au niveau des secteurs de ponte pourraient entraîner une dispersion dans les secteurs d'élevage mytilicole, contaminant ainsi les cordes supportant les juvéniles de moules.

1.1.2-Utilisation de la chaleur pour la destruction des capsules

Matériel et méthode

Des désherbeurs thermiques au propane sont utilisés afin de détruire les œufs sur les sites de ponte. La bouteille de propane est fixée à l'arrière d'un quad, un tuyau de 5 à 20 m permet de relier la bouteille au brûleur et d'atteindre ainsi les secteurs difficiles d'accès dans les rochers.

La flamme est appliquée quelques secondes sur chaque accumulation de capsule. Une seconde visite quelques jours plus tard permet de visualiser le résultat. Cette action a été réalisée à plusieurs reprises entre le mois de janvier (début de pontes massives) et le mois de mai (pose des cordes mytilicoles)



Photo 7 & 8: Utilisation de la flamme pour détruire les capsules de nuelles

Résultats

Le brulage des capsules est une technique très rapide et très efficace. En quelques secondes, les capsules sont détruites. Le regroupement observé sur la photo 11, comprend environ 500 capsules (8.5 capsules/cm² en moyenne) donnant naissance à environ 15 000 juvéniles peut être détruit en 2 secondes d'application de la flamme. Par contre, les capsules situées dans l'eau ne sont pas atteintes (photo 12).



Photo 9 & 10: La flamme permet une destruction rapide des capsules, y compris dans des endroits d'accès difficile.



Photo 11 & 12: Capsule avant et après brulage, les capsule situé dans l'eau ne sont pas détruites, les autres prennent une couleur rosâtre

Cette technique peut également être applicable sur les pieux mytilicoles vides ou les chantiers exempts de plastique (tahitienne, filet...).

Discussion

Bien que cette technique soit très efficace, elle doit être appliquée avec précision pour ne pas endommager la faune et la flore à proximité immédiate des capsules. La photo 13 montre clairement la destruction des capsules mais également l'impact sur les balanes avoisinantes.



Photo 13 : Effet de la flamme sur les capsules et la faune environnante

L'application de la flamme sur les animaux adultes entraîne une mortalité importante des perceurs mais la durée d'application doit être un peu plus longue que pour les capsules et les dégâts provoqués plus importants.

Le grattage des capsules est parfois utilisé mais les capsules entières poursuivent leur développement et donneront naissance à des perceurs. Pour être efficace, il est indispensable que les capsules soient percées.

D'autres tests ont été réalisés pour tenter de détruire les capsules. Le traitement par pulvérisation d'acide chlorhydrique à différentes concentrations (pur, dilution au 10^{ième}, 100^{ième} et 1000^{ième})

Ce procédé ne permet pas de détruire les capsules même aux concentrations les plus élevées. Afin de préserver l'environnement l'utilisation de l'eau de Javel n'a pas été testée.

1.2-Actions sur les juvéniles : Balnéation dans la saumure

Matériel et méthode

Dix nuelles juvéniles (8-15 mm) ont été placés dans différentes conditions de salinité (0, 34, 63, 140, 241 & 318‰) avec des durées de traitement différentes (10 minutes, 30 min, 1 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15h, 18h, 21h, 24). Après le traitement, les perceurs sont placés dans une eau de mer aérée durant au moins 12 heures avant de compter le nombre de survivant pour chaque situation.

La température de l'eau est de 15.5°C.

Dans un second temps les morceaux de cordes supportant environ 300 moules seront testés dans les conditions qui ont permis de faire mourir les perceurs.

Résultats

Le témoin eau de mer ainsi que la balnéation dans l'eau douce n'ont provoqué aucune mortalité chez les nuelles. Pour une salinité de 63‰, quelques nuelles meurent après 24 heures de traitement (10%).

Les salinités plus élevées provoquent des mortalités plus rapides pouvant atteindre 100% des perceurs. C'est ainsi qu'un traitement minimum de 12 heures à 318‰, 15 heures à 241‰ ou 21 heures à 140‰ induit une mortalité totale du lot.

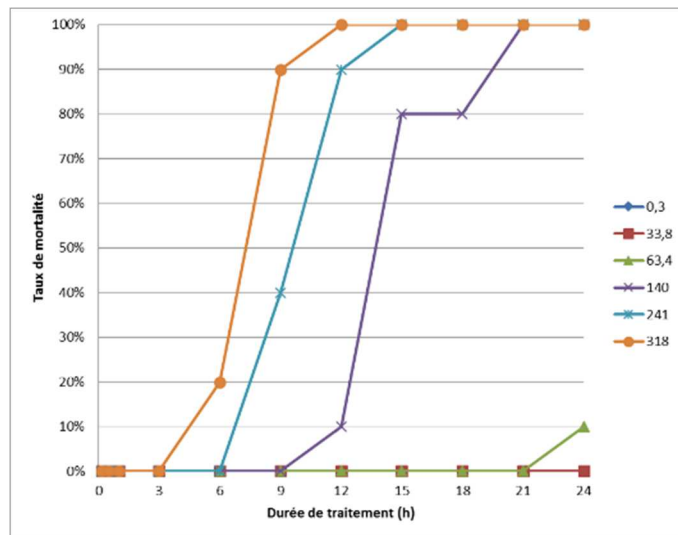


Figure 2 : Taux de mortalité des nuelles en fonction de la durée d'immersion dans la saumure

Durée (h)	Salinité (g/kg)			
	35	140	240	320
12				63.4%
15			36.9%	66.9%
18			36.7%	
21		0.4%		
24	0.0%	0.4%		

Tableau 1 : Taux de mortalité des moules en fonction de la durée d'immersion dans la saumure

Les essais réalisés avec des moules montrent une forte mortalité (env.65% après 6 jours) lorsque la salinité est de 320‰. Pour une salinité de 240‰, le taux de mortalité diminue sensiblement mais reste encore élevée de l'ordre de 36%. Très peu de mortalité est observée pour un traitement à 140‰. Aucune mortalité de moules n'est observée sur le témoin placé dans l'eau de mer.

Discussion

La baignade dans une eau de mer sur-salée apparaît comme très prometteuse. En effet, les expérimentations ont montré que tous les perceurs placés à 140‰ durant 21 heures minimum mourraient, d'un autre côté les moules placées dans ces mêmes conditions résistaient au traitement.

Cette technique semble adaptée à la zootechnie puisque des cordes remontées des chantiers le jour J peuvent être traitées et replacées sur les pieux le lendemain. D'autre part, la technique est simple et relativement peu coûteuse. Il suffit d'ajouter 110 grammes de sel par litre d'eau de mer (soit 110 kg/m³) dans un bassin possédant de préférence une agitation et de laisser y séjourner les cordes

durant 21 h. Ces résultats rejoignent partiellement ceux de Le Dantec (1960) qui mettait en avant l'utilisation de saumure à 360‰ durant 30 minutes pour traiter les huîtres infestées. Dans cette même étude, l'auteur indique qu'une immersion de 5 minutes des perceurs tue ces derniers même s'ils sont remis dans l'eau de mer. Les essais réalisés dans notre étude ne montrent pas de résultats aussi spectaculaires. Toutefois, il ne s'agit pas de la même espèce de perceurs et il est possible que ce type de traitement soit dépendant d'autres facteurs tels que la saison. La faisabilité d'utiliser des saumures directement sur l'estran pour tuer les larves dans les capsules pourrait être testée.

Appliqué chez un professionnel en 2013 puis 2014, ce traitement a montré sa grande efficacité. Les retours d'expérience des professionnels indiquent clairement que les cordes traitées avec ce procédé permettent d'éliminer les perceurs au cœur des bouchots et évitent ainsi toute déstructuration du pieu. Certains mytiliculteurs indiquent même que les perceurs « ne sont plus un problème » alors que d'autres n'ayant pas utilisé cette technique continuent à avoir une infestation massive dans les pieux.

1.3-Ramassage des adultes

1.3.1- Ramassage dans les concessions mytilicoles

1.3.1.1- Matériel et méthode

Infestation des bas de pieux

Les objectifs de cette expérimentation sont multiples :

- Avoir une idée de l'abondance relative de reproducteurs sur la zone
- Recueillir des données dans l'optique d'un ramassage généralisé organisé par la profession
- Estimer la vitesse de recolonisation des pieux nettoyés

Après recherche d'une ligne de bouchots visiblement très colonisée par des nuelles adultes, un nettoyage méticuleux de la base des 30 premiers pieux est réalisé. Les nuelles présents dans les premiers centimètres de sédiment, sous les tahitiennes ainsi que sur les pieux jusqu'à hauteur des moules sont ramassées. Le temps de ramassage est relevé. La récolte est ensuite pesée au laboratoire et le nombre de nuelles total estimé. Une moyenne par pieu peut ensuite être déduite.

Lors d'une seconde récolte à deux semaines d'intervalle, le nombre d'individus retrouvé sur chacun des pieux est identifié. Les deux pieux contigus sont également nettoyés.

Infestation au cœur des pieux

La totalité d'une rangée de pieux a été ouverte. L'ensemble des perceurs ont été récoltés avant de refermer chaque bouchot.

La population totale est séparée en quatre classes de taille à l'aide de tamis en mailles de poches ostréicoles de calibre 14, 9 et 6mm. Quatre sous-échantillonnages sont faits pour chaque classe

de taille. Pour la plus petite classe, l'ensemble des individus est pris en compte. A l'aide d'un pied à coulisse numérique relié à un tableur informatique, la longueur totale (de l'apex à l'extrémité du canal siphonal) de chaque individu échantillonné est relevée. Elle est arrondie au millimètre inférieur. La masse des quatre échantillons est réalisée. Les effectifs sont ensuite recalculés pour avoir une image de la population totale.

1.3.1.2- Résultats

Infestation des bas de pieux

Lors du premier ramassage 7,7 kg de gastéropodes a été récolté ce qui représente environ 1800 individus. La moyenne se situe à 59 perceurs par pieu. Une durée d'une heure a été nécessaire pour effectuer ce travail soit un potentiel d'un peu plus de 4 heures pour nettoyer une ligne entière (135 pieux).

Le second ramassage a permis de récolter 2,75 kg de nouveaux individus pour un total de 501 gastéropodes. La moyenne est ici de $16,7 \pm 9,8$ nuelles par pieu.

Les deux pieux suivants (numéros 31 et 32), non nettoyés ont montré une colonisation respectivement de 53 et 72 nuelles adultes.

La représentation graphique des résultats (Fig.3) montre une forte hétérogénéité de la recolonisation des 30 pieux par les nuelles adultes.

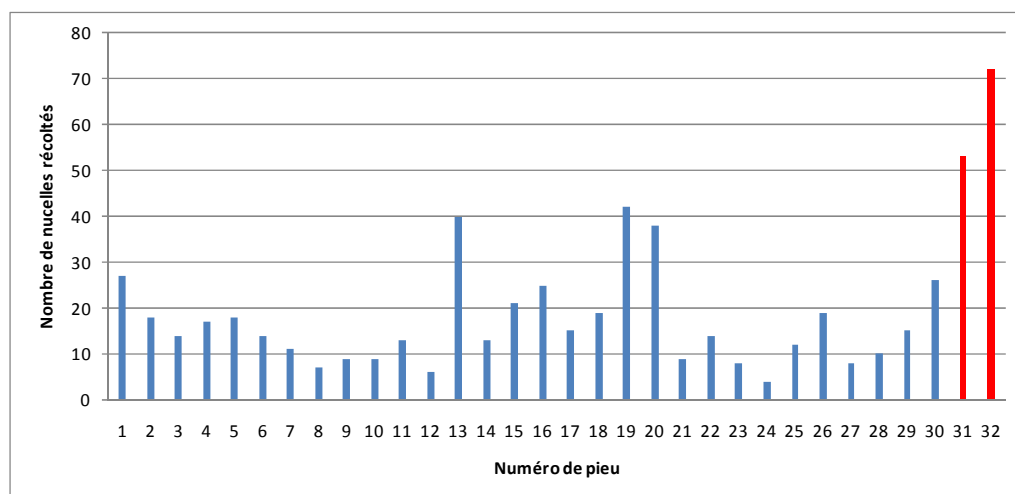


Figure 3 : Effectifs de nuelles adultes récoltés deux semaines après le nettoyage des pieux. En rouge des pieux non nettoyés.

Le nombre de nuelles sur les pieux 31 et 32 se situe autour de la valeur moyenne de 59 perceurs par pieu observée lors du nettoyage initial des 30 premiers pieux. La migration éventuelle des nuelles présents sur les pieux contigus n'est donc pas flagrante. La recolonisation se fait d'une manière aléatoire par les nuelles présents sur la zone.

Infestation au cœur des pieux

Un total de 135 pieux soit une ligne de 100 mètres a été nettoyés en deux marées et à deux. Le temps de travail est estimé à environ 15 heures. Cette donnée prend en compte la remise en place et la refixation des moules sur le pieu.

Environ 4900 gastéropodes ont été récoltés soit en moyenne 36 nuelles dans chaque bouchot. Un ensemble de 737 mesures permet d'observer des longueurs comprises entre 8 et 37 mm, avec un mode à 25 mm (Fig.4).

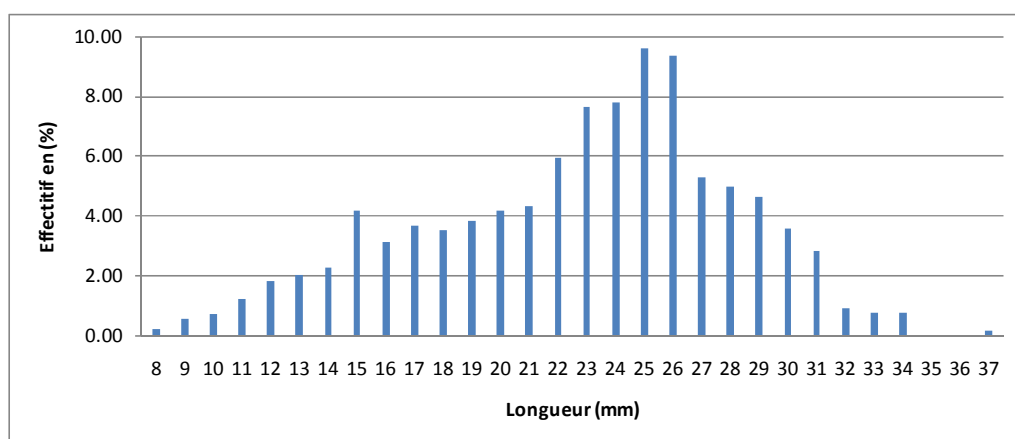


Figure 4: Effectifs de nuelles présents dans les bouchots selon leur longueur

1.3.2- Ramassage hors concession

1.3.2.1- Ramassage collectif

Deux ramassages collectifs ont été prévus sur le secteur de la pointe d'Agon en janvier et mars 2013. L'objectif est de ramasser le maximum de perceur avant qu'ils ne pontent leurs capsules afin de minimiser l'apport de juvéniles dans les concessions situées à proximité.



Figure 5 : Zone de ramassage collectif hors concession à la pointe d'Agon

Le secteur de ramassage est subdivisé en 7 zones distinctes allant de la cote vers le large. Sur chaque zone, la biomasse ramassée est pesée, un échantillonnage est réalisé afin de connaître le poids moyen des perceurs et la quantité des autres espèces.

Le Comité Régional de la Conchyliculture (CRC) à inviter l'ensemble des concessionnaires du secteur à participer à cette action.

Ramassage du mois de janvier 2013

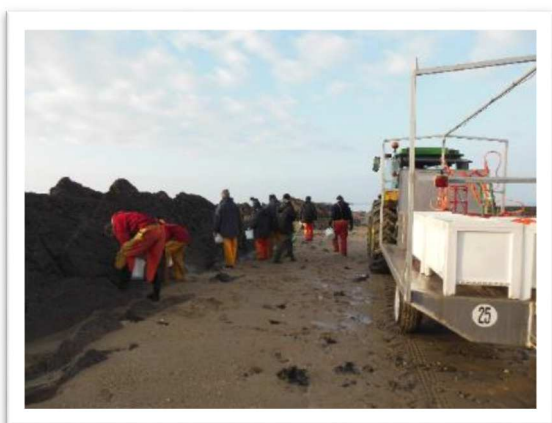
Le ramassage a été réalisé le 25 janvier 2013. Une quarantaine de personnes ont été mobilisées pour cette occasion.

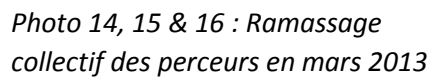
Au total ce sont près de 400 kg de perceur qui ont été ramassés, soit environ 115 000 individus. Le poids moyen des perceurs varie de 2.8 à 3.6 g selon les zones. Cela ne reflète sans doute pas une réalité de terrain mais sans doute une méthode de ramassage qui a évolué. En effet, le ramassage était plutôt systématique sur les premières zones alors que seul les gros amas d'individu (en cours de ponte) ont été ramassés sur les zones 6 & 7.

Zone	Poids brut récolté	Nombre	Nb /kg
1	71,85	23 841	351
2	70,6	20 531	344
3	79,1	21 932	311
4	22,25	7 723	358
5	26,8	9 302	358
6	35,45	9 407	292
7	82,45	21 558	277
Total	388,5	114 294	327

*Tableau 2 :
Quantité de
nucelles récoltées
sur chaque zone*

Les espèces associées représentent moins de 5% du poids ramassé. Deux espèces principales sont observées : *gibbula sp.* & *littorina sp.* (bigorneau), ainsi que quelques nasses, porcelaines et anémones.





Ramassage du mois de mars 2013

Malgré les relances ; les professionnels n'ont pas souhaité participer à ce ramassage. L'opération a donc été annulée.

1.3.2.2- Impact du ramassage régulier

Afin d'évaluer l'impact du ramassage, un ramassage régulier a été réalisé sur deux petites zones (A & B) bien distinctes à la pointe d'Agon (zone A : 49°00.728N/1°35.549W – env. 375m² ; zone B : 49°00.745N/1°35.516W – env. 84m²). Ces zones sont constituées de blocs de roche entourés de sable. A chaque visite, l'intégralité des perceurs est retirée et pesée. Le temps de ramassage est comptabilisé. Quinze ramassages totaux ont été réalisés sur 24 mois (janvier 2013 - janvier 2015).



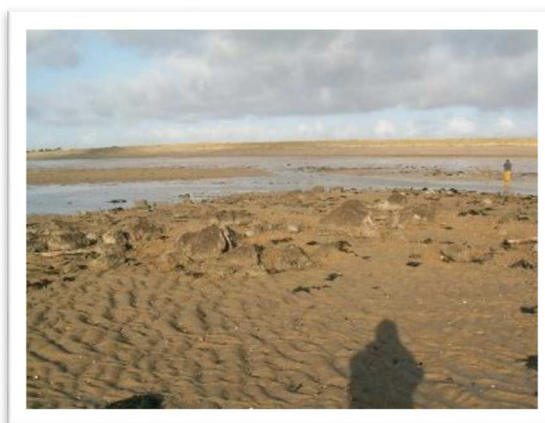


Photo 17 & 18 : Zones de suivi mensuel des perceurs à la pointe d'Agon

Le poids total ramassé au premier passage est de plus de 40 kg (12 000 perceurs) sur la zone A et 6.25 kg (2 000 perceurs) sur la zone B. Les quantités sont ensuite plus faibles à chaque passage mais de nombreux perceurs reviennent une fois sur l'autre, sans pour autant avoir de corrélation marquée avec la saison. Parfois certains professionnels remettent sur l'estran des moules sous tailles, débris coquillés...il est possible qu'une partie de ces nuelles proviennent de ces pratiques. Parfois, des « amas » de perceurs sont retrouvés en bas de cale démontrant des pratiques abusives. Le rendement moyen est de 4 kg de perceurs /heure / personne mais cette valeur est variable en fonction de la quantité de perceurs présents ; plus la quantité est importante, plus le rendement est important.

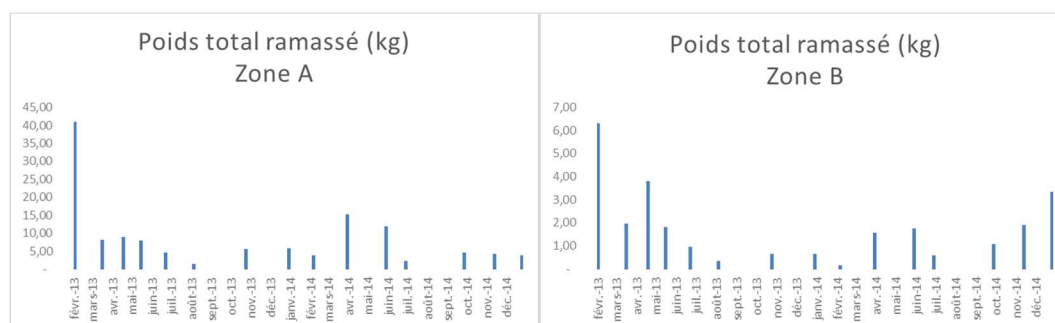


Figure 7 : Quantité de perceurs ramassés sur les 2 sites suivis

Date	Poids total (kg)	Poids moy. Ind (g)	Nb /kg	Nb total	Rendement (kg/h/pers)
févr.-13	40,65	3,1	319	12153	5,5
mars-13	7,70	2,9	345	2575	2,2
avr.-13	8,45	2,6	391	3148	2,4
mai-13	7,60	2,7	370	2661	3,0
juil.-13	4,15	3,1	323	1279	5,0
août-13	1,00	3,1	318	305	3,0
nov.-13	5,24	3,6	282	1397	4,4
janv.-14	5,40	3,2	312	1620	4,1
févr.-14	3,36	3,0	336	1027	2,9
avr.-14	14,80	3,0	339	4948	6,3
juin-14	11,45	3,0	330	3479	4,6
juil.-14	1,83	3,0	337	534	2,2
oct.-14	4,22	2,7	370	1263	3,0
nov.-14	3,87	3,3	304	1111	7,9
janv.-15	3,33	3,3	299	962	4,0
Total	123,06	3,0	332	38 460	4,03

Tableau 3 : Quantité de nuelles récoltés au cours du temps sur la zone A

Dès le mois de novembre, des capsules sont observées sur les rochers mais les quantités sont plus importantes de janvier à avril. De nombreux juvéniles sont observés au printemps et en début d'été.

Date	Poids total (kg)	Poids moy. Ind (g)	Nb /kg	Nb total	Rendement (kg/h/pers)
févr.-13	6,25	3,1	318	1954	5,2
mars-13	1,90	2,7	372	621	3,2
avr.-13	3,75	2,7	365	1338	5,0
mai-13	1,75	2,6	386	634	3,5
juil.-13	0,90	4,0	247	219	5,6
août-13	0,27	3,9	254	66	3,3
nov.-13	0,59	3,1	323	186	3,5
janv.-14	0,57	3,5	286	159	3,4
févr.-14	0,09	3,0	333	29	0,9
avr.-14	1,51	2,9	345	509	4,5
juin-14	1,69	3,1	327	470	5,6
juil.-14	0,52	3,3	305	116	3,1
oct.-14	1,00	2,8	364	324	2,1
nov.-14	1,84	2,8	356	530	3,9
janv.-15	3,29	3,0	338	1027	6,6
Total	25,92	3,1	328	8 182	3,95

Tableau 4 : Quantité de nuelles récoltés au cours du temps sur la zone B

1.3.3- Techniques de ramassage

Matériel et méthode

Quatre méthodes de ramassage sont testées sur le site de la pointe d'Agon.

- A la main de façon méthodique : tous les perceurs sont ramassés manuellement, un petit crochet permet de les faire tomber ou de les prélever dans les endroits inaccessibles.
- A la main de façon méthodique comme précédemment mais à l'aide d'une écope afin de limiter les gestes inutiles.
- Avec un aspirateur de garage relié à un groupe électrogène (photo 21 et 22).
- A la main mais de façon non méthodique en ne sélectionnant uniquement les amas.

Les essais sont réalisés par 2 ou 3 ramasseurs durant une période de 15 minutes. Le rendement en nombre par heure et en biomasse par heure est ensuite évalué. Le pourcentage des autres espèces ramassées est également évalué.

Résultats

Le ramassage méthodique et systématique manuel permet de ramasser environ 4 kg de perceur par heure, mais ce rendement peut être augmenté à 6 kg en s'aidant d'une écope (ou pelle). Toutefois, le pourcentage des autres espèces ramassées augmente sensiblement, pouvant atteindre environ 12% contre 5% avec une méthode manuelle stricte.

Les essais réalisés avec un aspirateur permettent un gain important dans le ramassage sans augmenter le retrait des autres espèces (12%).

Les meilleurs rendements sont réalisés en pratiquant un ramassage rapide en se focalisant sur les amas de perceurs, dans ce cas les périodes de regroupement pour la ponte sont très favorables. Les rendements atteignent alors 17 kg heure.

Méthode	Rendement (Nb/h)	Rendement (kg/h)	% autres que perceurs
A la main méthodique	1296	4	5
A la main méthodique avec écope	2439	6	12
Avec aspirateur méthodique	3833	9	12
A la main rapide avec écope	7459	17	3

Tableau 5 : Rendement de ramassage en fonction de la méthode utilisée



Photo 19 & 20 : Ramassage des perceurs à l'aide d'une pelle et crochet



Photo 21 & 22 : Ramassage des perceurs assisté d'un aspirateur

Discussion

Les essais de ramassage réalisés avec différentes techniques permettent de montrer que le ramassage rapide avec une écope permet des rendements de l'ordre de 17 kg par heure et par personne, ce type de ramassage ne permet pas de récupérer l'intégralité des perceurs mais permet de faire un bon nettoyage de la zone. En revanche, l'utilisation d'un aspirateur va permettre d'être plus systématique mais la mise en œuvre est beaucoup plus lourde.

Les perceurs se regroupent afin de déposer leurs capsules de larves, cette étape de la vie des nuelles permet de réaliser des ramassages rapides afin de faire baisser la pression de prédation, par le retrait des géniteurs de façon massive. D'autre part, le ramassage des agrégats de perceurs permet également de limiter le ramassage des autres espèces à 3% contre plus de 10% lorsque le ramassage est plus systématique.

En cas de ramassage, il s'agira donc de se focaliser sur les amas durant les périodes de ponte afin d'être plus efficace et plus sélectif.

2-Valorisation des nuelles

2.1- Alimentation humaine

Il y a encore quelques années, les nuelles étaient commercialisés sur certains marchés (région cherbourgeoise), localement, certains consommateurs les ramassent sur l'estran pour leur usage personnel. Toutefois, en vue de la commercialisation de ce produit il est indispensable de proposer des recettes afin de guider les cuisiniers amateurs ou professionnels. Ainsi, une collaboration a été engagée avec le Lycée hôtelier Maurice Marland de Granville ainsi qu'un restaurateur (L'escapade, Luc sur mer) afin de concevoir des recettes. D'autre part la durée de conservation de ce produit est très importante à évaluer dans une optique de commercialisation.

2.1.1- Fraicheur des nuelles

La fraîcheur des produits de la mer en vue de leur consommation est un facteur très important. Mieux que la vente en frais, la vente en vivant permet de mieux valoriser les produits en étant certain de leur fraîcheur. Ainsi, une expérimentation est réalisée afin d'étudier la durée durant laquelle les nuelles restent vivantes en fonction de la température de stockage.

Matériel et méthode

Les animaux ont été ramassés en fin d'automne dans le secteur mytilicole de la pointe Agon (Agon-Coutainville, 50).

Les animaux (5250 nuelles soit environ 17 kg) sont stockés dans un bac de 450l avec de l'eau de mer à 17°C filtrée et aérée.

Trois températures sont testées : 4, 12 et 17°C. Sept cent individus sont placés « à sec » à chaque température. Chaque jour, 30 nuelles prises au hasard, sont remise en eau à 17°C afin de vérifier leur vivacité après 24h. Le taux de mortalité peut être calculé sur cette base.

Résultats

Les premiers morts interviennent au 4^{ième} jour à 17°C et au 5^{ième} jour à 12°C Par contre, il faut attendre le 11^{ième} jour lorsque les nuelles sont placés à 4°C. Cette durée est remarquable est permet de conserver les animaux vivant durant une très longue période, permettant le transport et le stockage à sec.

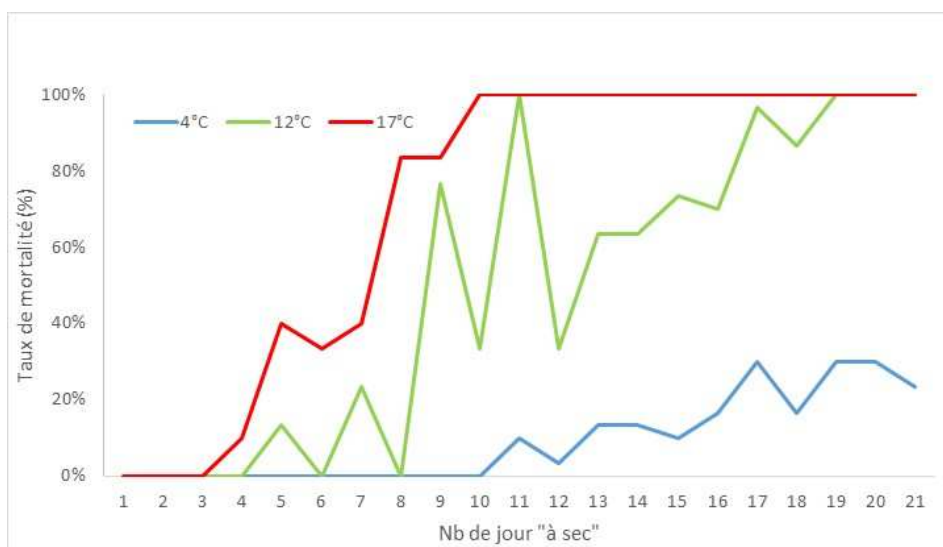
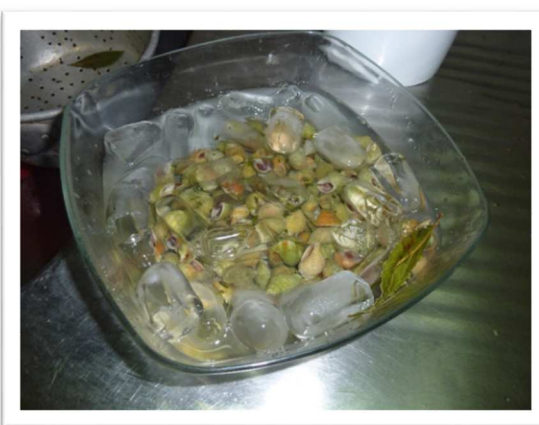


Figure 8 : Taux de survie des nuelles à différentes température en fonction de la durée de conservation

2.1.2- Elaboration de recettes

2.1.2.1- Recette de L'Escapade

Les nuelles ont été plongés dans de l'eau avec du gros sel afin de les faire dégorger quelques minutes. Puis, deux casseroles d'eau agrémentées d'un bouquet garni (herbes séchées : esturgeon, herbes de Provence et laurier) ont été portées à ébullition. Dans un premier temps, la cuisson a été de 3 minutes après la reprise de l'ébullition. Puis, la casserole a été sorti du feu avec les nuelles et laissée ainsi pendant 3 minutes pour que la cuisson se termine. Ensuite, les nuelles ont été égouttées et placées dans un bain de glace qui a permis de couper la cuisson parce qu'à l'intérieur de la coquille chaude, la nuelle peut continuer de cuire. Ce restaurateur nous a révélé que la cuisson de tous les fruits de mer est coupée ainsi. Dans un second temps, la recette a été testée avec une cuisson de 5 minutes après la reprise de l'ébullition, permettant de faire ressortir un goût plus prononcé mais avec une texture légèrement plus caoutchouteuse. Ce produit peut être conservé cuit 3-4 jours au réfrigérateur.



Photos 23 & 24 : Cuisson des nuelles et arrêt de la cuisson par bain de glace

2.1.2.2- Recettes élaborées au lycée hôtelier de Granville

Le Lycée hôtelier Maurice Marland de Granville a élaboré deux recettes à bases de nuelles ; un feuilleté aux nuelles et des ravioles de nuelles.

Selon monsieur David Laurent professeur de cuisine « *La Nuelle est un produit plutôt adressé aux restaurants gastronomiques car beaucoup de travail de préparation (décoquillage) plus long que le bulot mais plus fin au gout. La cuisson est plus courte et la texture plus souple également* »

Ravioles de nuelles

Pour 8 personnes : 400 g de nuelles, 1 livarot, 100g de farine, 1 œufs, sel, 200 g de crème fraîche, 100 ml d'eau, 1 blanc d'œuf, 25 g de sucre glace, 16 g d'encre de seiche, 10 g de beurre, salicorne, zeste d'orange.

- 1- Confectionner la pâte à raviole: mélanger ensemble la farine, le sel, l'huile et réserver au frais 20 minutes. Abaisser la pâte a nouille et détailler en cercle ou rectangle.
- 2- Confectionner tuile en encre de seiche. Chauffer l'eau avec l'encre de seiche, le beurre et le sel. Ajouter farine, sucre glace et blanc d'œuf. Cuire 35 minutes à 160 °C.
- 3- Réaliser la mousseline de nuelles. Mixer les nuelles, ajouter le blanc d'œuf et la crème. Réserver au frais dans une poche a douille.
- 4- réaliser la crème de livarot au siphon. Chauffer la crème et le livarot, mixer. Blanchir les zestes Montage raviole.
- 5- Disposer la mousseline dans les ravioles et pocher dans de l'eau bouillante quelques minutes.



Photos 25 & 26 : Ravioles de nuelles

Feuilleté aux nuelles

Pour 8 personnes : De base : 400 g de pâte feuilletée P.A.I., 500 g de Nuelles, Pour le velouté de poisson : 500 ml de fumet de poissons, 50 g de beurre, 50 g de farine, 250 ml de crème épaisse, pour la finition : 1 jaune d'œuf, de l'eau, sel, poivre.

- 1- Mettre en place le poste de travail.
- 2- Cuire les Nuelles à l'eau salée 10Mn à l'ébullition, dé coquiller et réserver au frais.
- 3- Détailler la pâte feuilletée en bouchée à la reine et ajouter de la dorure d'œuf.
- 4- Marquer en cuisson les feuilletés. Cuire environ 20 minutes dans un four à 180° C.
- 5- Réaliser un velouté de poisson: Réaliser un roux blanc puis mouiller au fumet de poisson et crémier.
- 6- Monter les feuilletés de Nuelles.
- 7- Dresser.



Photo 27 : Feuilleté aux nuelles

2.1.3- Etude auprès des consommateurs

2.1.3.1- Dégustation de nuelles cuites sur les marchés

A deux reprises, des dégustations ont été réalisées sur un marché hebdomadaire et un marché de Noël à Luc sur mer. Les nuelles ont été cuites selon deux modes de préparation : à l'eau salée ou en persillade.

Trois questions ont été posées à chaque dégustation : donner une note pour la qualité gustative (0 à 10), est ce qu'il en mangerait une autre fois ? et proposer un prix d'achat comparativement aux autres produits de la mer.



Photos 28 & 29 : Cuisson des nuelles pour les essais de dégustation

Quarante-sept personnes ont dégusté au moins l'une des deux recettes ; la majorité d'entre elles ont aimé les nuelles cuisinées, la seconde recette a été un peu plus appréciée que la première.

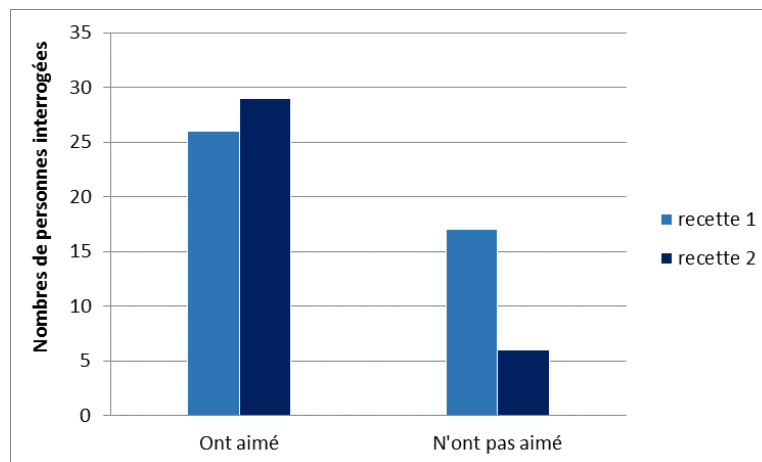


Figure 9 : Avis des consommateurs après la dégustation de nuelles

Le prix d'achat proposé par les personnes ayant dégusté est très variable entre 2 et 18€/kg, avec 8 et 10 € proposés par 5 et 7 personnes. Ce sont les personnes ramassant eux même les nuelles sur la plage qui ont proposé les prix les plus faibles. La moyenne est d'environ 8€/kg.

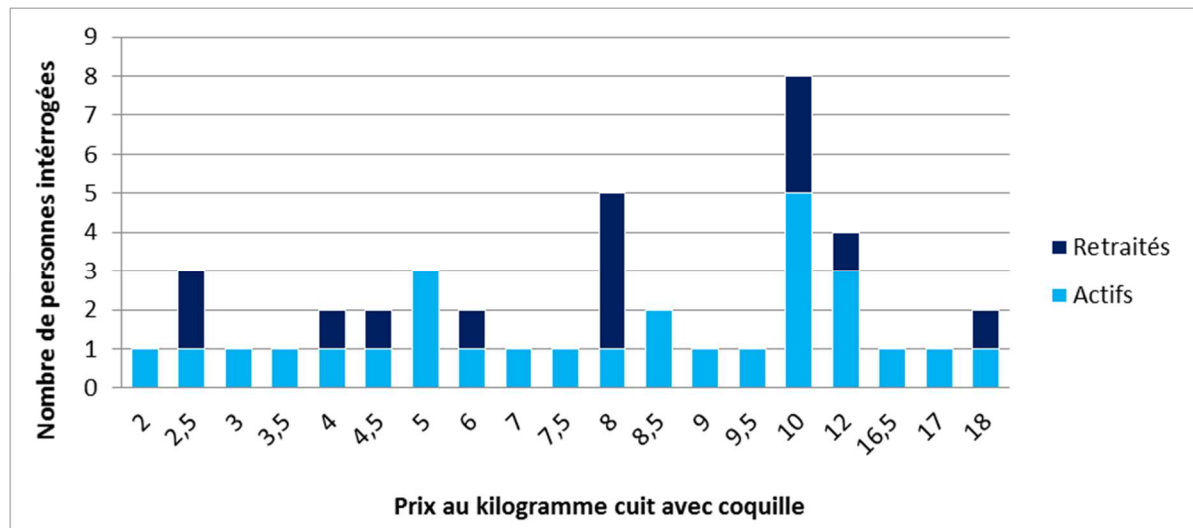


Figure 10 : Avis des consommateurs sur le prix des nuelles cuites

2.1.3.2- Proposition de nuelles crues

Par le biais d'un mareyeur commercialisant des produits de la mer sur le marché du Havre, des nuelles crues ont été fournies à une dizaine de consommateurs. A charge pour ces derniers de les préparer selon leur goût. Un questionnaire leur a été fourni afin de faire part de leurs remarques et de leur intérêt vis-à-vis du produit.

Les réponses sont assez mitigées. Certaines personnes ont eu des difficultés à extraire la chair de la coquille. D'autres ont trouvé le produit assez médiocre et parfois caoutchouteux.

Cette expérimentation montre la nécessité de fournir des recettes précises avec ce produit méconnu des consommateurs, certains les faisant plutôt comme des bulots, d'autres comme des bigorneaux, alors qu'elle nécessite un mode de cuisson spécifique afin d'être apprécié.

Ce même test devra être réalisé en fournissant une recette adaptée aux nuelles.

2.1.3.3- Dégustation auprès de restaurateurs

Deux restaurateurs, spécialisés dans les produits de la mer, ont accepté de tester le produit.

Mr Philippe Lefevre de l'établissement le Beau Rivage au 1 rue Dr Charcot à Luc-sur-mer a fait part de son avis professionnel. Il a cuit les nuelles dans l'eau bouillante après les avoir fait dégorgées. Le produit a été accommodé d'une mayonnaise maison comme pour un bulot classique. Après la dégustation, ce restaurateur a confié que ce produit n'avait pas retenu son attention sur le plan gustatif.

Mr François Corrochem de l'établissement L'escapade au 16 rue du Dr Charcot, spécialisé dans les fruits de mer, nous a gentiment accueilli dans sa cuisine pour une dégustation de nuelles. Son idée était de cuire les nuelles suivant la recette des bulots mais avec un temps de cuisson similaire à celle

des bigorneaux (3 minutes) [voir recette ci-dessus]. Après dégustation, le restaurateur a trouvé que le produit avait un bon goût bien parfumé et que la texture n'était pas caoutchouteuse ni élastique. Selon lui, les nuelles qui ont été cuites après 5 minutes ont un meilleur goût malgré que la texture soit légèrement plus caoutchouteuse. Gustativement, il a trouvé que ce produit était plus fin qu'un bulot. Il serait prêt à le proposer à sa carte au même titre qu'un bulot ou un bigorneau. Mr Corrocem mettrait le même prix au kilogramme de produits frais qu'un bulot soit 2,3 à 2,5 € (prix d'achat auprès des fournisseurs).

2.2- Production de teinture

2.2.1- L'utilisation du pourpre dans la littérature

De nombreux mollusques de la famille des Muricidae sécrètent un mucus qui paraît incolore à première vue et qui prend dans certaines conditions une teinte violacée. Sous l'action de l'intensité lumineuse et à l'air libre une coloration apparaît. Cette couleur est connue sous le nom de pourpre.

Il y a 4000 ans, la plus ancienne teinture pourpre a été retrouvée en Crète où des amas de coquilles de murex ont été découverts. Ils étaient également utilisés dans la production du pigment royal du pourpre. Toutefois, ces amas retrouvés lors de fouilles archéologiques ne sont pas des indicateurs directs de la fabrication de teinture. Ces mollusques ont pu servir à d'autres activités telles que la production de chaux, la fabrication d'ornement, des utilisations médicinales ou pour la nourriture. En 1700 avant Jésus-Christ, Pline l'ancien utilisait déjà ces mollusques qui appartiennent à l'ordre des Néogastéropodes pour produire de la teinture pourpre (Koren, 2005). Seul 3 espèces de mollusques sur 700 recensées étaient associées à des colorations pourpres méditerranéennes *Murex trunculus*, *Murex brandaris*, *Purpura haemastoma* (Linnaeus, 1758). D'après des analyses chimiques récentes, ces mollusques étaient utilisés par les teinturiers à une période plus ancienne que celle rapportée dans la littérature. Le pigment pourpre a été utilisé pur pour la peinture occasionnellement. Le plus ancien des exemples date de l'âge de Bronze (-2200 à -800) où des fresques ont été découvertes à Santorin en Grèce (Koren, 2012). Le pourpre a souvent été réservé aux membres les plus influents de l'empire romain. D'après les écrits, la teinture de pourpre à partir du murex s'est achevée à la fin de l'empire byzantin.

Une utilisation des coquillages de pourpre liée à sa production a été suggérée vers -1200 suite à la découverte de millions de coquillages cassés sur l'île de Khor dans le golfe Persique. Des dépôts coquillés ont également été retrouvés au-delà du pourtour Méditerranéen, notamment au Japon. L'analyse de fragments de tissus datant de -100, provenant de Yoshinogari, sur l'île de Kyushu, était aussi une preuve de l'utilisation de la pourpre.

L'espèce *Plicopurpura patula pansa* a été mentionnée pour teindre des fils de coton au Nicaragua au XVII^e siècle mais également en Amérique du sud pour le commerce florissant du pourpre en 1804. Au VIII^e siècle, l'exploitation de *Nucella lapillus* a été observée par Bède le Vénérable, sur les côtes européennes de l'Atlantique (Haubrichs, 2005). Au Pérou préhispanique, l'espèce *Concholepas concholepas* a été décrite dans l'alimentation humaine.

En 1685, Cole donne une description de *Nucella lapillus* qui explique que le liquide fournissant la teinture prélevé sur un pinceau et appliqué sur une toile se colore en vert clair. Une fois exposé au soleil, il se teint en vert-brun, vert-de-gris et bleu avant de virer au rouge et terminer par une couleur pourpre.

La répartition de *Nucella lapillus* montre aujourd'hui que nous sommes en présence d'une activité qui s'intègre dans l'histoire des populations littorales de la péninsule armoricaine (Cocaign, 1997). En 1992, un important dépôt coquillé de *Nucella lapillus* a été découvert au niveau de l'estuaire de Gouessant (22), avec un mode de cassure particulier, laissant penser à une production de colorant datant de la période gallo-romaine. Mais Gruet (1993) découvre également que le colorant avait été fabriqué à partir de *Nucella lapillus* (nucelle) et d'*Ocenebra erinacea* (cormaillet) sur un site du Haut Moyen-Age. Ces deux sites laissaient penser à une production régionale de ce colorant de la préhistoire au Moyen-Age. Les deux espèces exploitées sur ce site présentent le même mode de cassure et ont des propriétés tinctoriales, ce qui confirme l'utilisation comme teinture de ces colorants. Cependant, *Nucella lapillus* est en plus grande quantité qu'*Ocenebra erinacea*. L'explication vient de leur répartition bathymétrique. En effet, la nucelle est plus accessible que le cormaillet puisqu'il est possible de la retrouver du supra au médiolittoral alors que la deuxième espèce est plutôt présente au niveau médiolittoral et infralittoral (Dupont, 2011). Taborin (1993) signale que 105 spécimens de *Nucella lapillus* sont retrouvés en France sur des sites paléolithiques supérieurs dont 60 sont cassés à la dernière suture révélant une extraction de la chair animal. Les échanges restaient très localisés dus à la faible quantité de pigment extraite de ces animaux et de leur apparition ponctuelle due à la saisonnalité. Ainsi, l'expansion de ce colorant était limitée. Une étude de 2007 confirme qu'il y a eu une exploitation de ces coquillages le long de la côte atlantique française pour l'alimentation, l'outillage et l'ornementation datant du mésolithique (Dupont, 2007). Les nuelles retrouvées intactes dans les débris archéologiques sont les plus petites puisqu'elles étaient jetées lors de l'extraction (Dupont, 2011).

L'utilisation des gastéropodes appartenant à la famille des Muricidae s'est établie sur une vaste aire géographique mais aussi sur une longue période temporelle. En effet, elle s'étend de l'âge de Fer voire Bronze ancien jusqu'au XIII^{ième} et XIV^{ième} siècle.

De nos jours, l'emploi de la pourpre à des fins artistiques reste d'actualité dans le monde. Les artistes I. Boesken Kanold en France et T. Terada à Nagasaki au Japon s'en servent pour l'élaboration de leurs peintures. Cependant, selon les pays, les Muricidae sélectionnés n'appartiennent pas aux mêmes espèces. Les quantités de colorant produites par *Nucella lapillus* et d'*Ocenebra erinacea* restent faibles par comparaison avec les murex utilisés en Méditerranée (Cocaign, 1997). La pêche de *Concholepas concholepas* constitue encore une importante source de revenus pour les communautés locales du Pérou.

2.2.1.1- Les mollusques à pourpre

Actuellement, les recherches des malacologues indiquent que de nombreux mollusques sont susceptibles de fournir de la pourpre. Il s'agit d'une caractéristique des espèces de la famille des Muricidae, qui sont des coquillages d'une étonnante diversité de formes et de couleurs et ainsi que d'une large répartition dans tous les océans et les mers de la Planète.

Ils sont carnivores et se nourrissent de chair morte ou vivante. La glande hypobranchiale qui est cachée sous la coquille contient le pigment pourpre (Haubrichs, 2005). Elle se distingue facilement des autres chairs de l'animal et se présente comme un ruban de dimensions variables (de l'ordre du millimètre au centimètre) selon l'espèce et l'âge du mollusque. Elle possède des cellules qui produisent les substances chromatogènes appelées aussi précurseurs qui fourniront le pourpre. En effet, cette couleur n'est jamais observée dans le mollusque vivant. Elle préexiste sous forme de substances incolores et en cassant la coquille, il est possible d'accéder facilement à cette glande située à proximité de l'ouverture. Plusieurs auteurs suggèrent que les composants chimiques relatifs au pourpre ont différentes utilités. Par exemple selon Cole (1685), il s'agirait du sperme de l'animal, et selon Letellier (1890) se serait des phéromones liées à la reproduction. En 1925, Fischer a observé un milieu riche en substances purpurigènes au cours du développement des œufs qui pourraient être protecteurs contre les prédateurs ou bactéricide pour les œufs et les larves. Cependant, Dubois (1909) avait émis l'hypothèse selon laquelle, ils serviraient d'agents paralysant sur leurs proies, qui fut démentie en prouvant que c'est la murexine qui joue ce rôle. Ainsi, l'utilité de ces composants chimiques reste à définir.

2.2.1.2- Structure chimique et caractéristiques de la pourpre

En 1909, Friedlander identifie la structure chimique de la pourpre. Il avait synthétisé un dérivé soufré de l'indigo qu'il appela thioindigo, et qui sans le savoir correspondait au « pourpre de Tyr ». La pourpre contient du carbone, de l'hydrogène, de l'azote, de l'oxygène, du soufre et une forte quantité de brome (37%). Il détermine, après de nombreuses réactions chimiques, que cette molécule contient deux atomes de brome et cette configuration permet la formation de 22 isomères. Son raisonnement l'a conduit à écarter les structures asymétriques (peu probable lors d'une dimérisation) réduisant les possibilités à seulement 4 isomères. En 1922, ce chercheur démontre qu'un seul des isomères obtient la couleur proche de celle du pourpre. Il s'agit du 6,6'-dibromoindigo qui a été confirmé par spectrométrie.

Lors de la dimérisation, un radical soufré se détache de la structure indigoïde libérant des mercaptans nauséabonds. Cependant, après teinture, les tissus gardent cette forte odeur. En 1859, Lacaze-Duthiers a décrit la stabilité des substances chromogènes chez *Nucella lapillus*. Des sécrétions fraîches et incolores ont été déposées sur un papier à l'obscurité pendant 37 ans, puis humidifiées avec de l'eau de mer. Après une exposition à la lumière, la coloration pourpre est apparue. En 1902, Dubois découvre l'enzyme purpurase intervenant dans le mécanisme de la formation de la couleur pourpre chez *Bolinus brandaris*.

2.2.1.3- Détection du pigment pourpre grâce à des techniques modernes

La fluorescence par rayons X a permis d'obtenir une teneur de 1,5% de 6,6'-dibromoindigo à partir d'une poudre fine en Grèce. Au XIII^{ème} siècle avec J-C, le pigment pourpre a été détecté sur des matériaux céramiques (Liban) par des techniques spectroscopiques modernes.

Le pourpre a également été identifié sur des figurines crétoises et des vases polychromes (Italie) par spectroscopie infrarouge datant III^{ème} siècle avant J-C. La première identification de la pourpre sur des fibres textiles datant de l'I-II^{ème} siècle après J-C (Syrie), a été réalisée par Pfister en 1934 à l'aide de réactions colorimétriques (Haubrichs, 2005).

2.2.1.4- Les différents procédés de teintures

Afin de valoriser le suc de la glande hypobranchiale, Pline définit au début de l'ère chrétienne un procédé d'extraction par addition de différents adjuvants et concentré par chauffage indirect dans des récipients en plomb ou étain. Deux techniques d'extraction du pigment pourpre existaient à cette période, une technique traditionnelle avec de petite quantité de pourpre extraite dont l'origine n'avait pas d'influence extérieure et apparaissait spontanément quelle que soit la saison. La deuxième technique « industrielle » avait une forte influence méditerranéenne et répondait à un marché régional (Cocaign, 1997).

Plusieurs procédés de teinture existent :

- Le plus simple est la teinture directe, par un liquide incolore émis spontanément par *Placopurpura patula pansa* (Mexique) qui colore de façon irréversible après exposition à la lumière. Ainsi un litre de liquide sécrété permet de teindre 200 grammes de coton (Naegel et Cooksey, 2002).
- Une autre méthode consiste à appliquer directement la glande entière ou broyée de *Phyllonotus regius* sur les tissus à l'abri de la lumière pour éviter le début de la réaction de photosensibilisation (Cocaign, 1997). Une fois exposée sa teinte est également irréversible.
- Une dernière méthode de teinture peut être réalisée dans une cuve soit avec des substances chromogènes solubles soit avec la pourpre sous forme de pigment. Ces deux techniques peuvent être réalisées loin du gisement de mollusques. Pour la méthode soluble, les glandes hypobranchiales sont déposées dans une cuve avec de l'eau de mer (40 grammes/litre) à un pH alcalin maintenue par ajout de la potasse. Le principe est de faire varier le pH, la température et le temps afin d'obtenir la coloration pourpre. Pour la méthode sèche, les glandes hypobranchiales sont asséchées au soleil, puis mises en cuve dans une eau alcaline (potasse). Le bain est prêt après avoir passé 10 jours à 50°C. Aujourd'hui, cette teinture est obtenue en ajoutant un agent réducteur synthétique, l'hydrosulfite de sodium, qui réduit le pigment pourpre en quelques minutes en milieu basique.

2.2.2- techniques d'extractions des teintures

Les indirubines sont contenus dans le pigment pourpre de mollusques appartenant aux familles de Muricidés et de Thaisidés. Il a été le premier composé à être synthétisé chimiquement par Adolf von Bayer en 1881. Peu de temps après, il a également réussi la synthèse chimique de l'indigo, ce qui lui a valu le prix nobel de Chimie en 1905.

Le pigment pourpre n'existe pas dans le mollusque mais est généré à partir de précurseurs, souvent appelés chromogènes et sont contenus dans la glande hypobranchiale. Lorsque cette dernière est sectionnée, l'enzyme entre en contact avec ses précurseurs et les hydrolyse. Le pigment est obtenu après plusieurs séries de réactions enzymatiques et chimiques sous l'action de la lumière et de l'oxygène. La composition du pigment dépend des espèces de mollusques et des conditions sous lesquelles il a été produit (Cooksey, 2006).

Les premières analyses de la composition chimique du pigment pourpre datent de 1909 à partir de la glande hypobranchiale de *Murex brandaris*. Dès 1992, des analyses en chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ont été réalisées à partir de teintures textiles retrouvées sur des sites archéologiques dont la composition moléculaire était inconnue. D'après cette étude du docteur Jan Wouters, certaines molécules entrant dans la composition du pigment pourpre étaient déjà connues telles que l'indigotine (IND), l'indirubine (INR), le 6-bromoindigotine (MBI) et le 6,6'-dibromoindigotine (DBI). Il a démontré que le composé principal du pigment pourpre était le 6-bromoindigo (MBI) et que les autres étaient des composés mineurs. En 2012, Koren a également démontré que chez l'espèce *Murex trunculus*, le MBI est le composé principal du pigment pourpre qui a été étudié en chromatographie et spectroscopie dont la structure exacte n'avait pas été établie. (Koren et al., 2012).

Wooters atteste que la composition du pigment pouvait varier en fonction de l'intensité de certains paramètres comme la température, l'irradiation ou l'alcalinité et des espèces étudiées. Cependant, à cette époque la séparation des indigoïdes en chromatographie et l'identification des molécules n'étaient pas totalement maîtrisées dû à leur solubilité limitée dans de nombreux solvants organiques.

Plus récemment, l'ensemble des molécules et leurs structures chimiques ont été caractérisées. Il a été démontré que le pigment pourpre est composé essentiellement de trois molécules : le 6-bromoindigo (MBI : $C_{16}H_9BrN_2O_2$), l'indigotine (IND : $C_{16}H_{10}O_2N_2$) et le 6,6'-dibromoindigoïde (DBI : $C_{16}H_8Br_2N_2O_2$). Le mélange de ces trois molécules donne sa couleur finale au pigment pourpre et aux teintures faites à partir de celui-ci.

Il est possible d'obtenir artificiellement les molécules composant le pigment pourpre. Par exemple, pour élaborer le MBI expérimentalement, Mantzouris *et al.*, en 2013 ont préparé, en chauffant, un mélange de 6-bromoindoline (5g, 22 mmol) et de pentachlorure (5g, 24 mmol) dans du chlorobenzène (150 mmol) sous azote pendant environ 4 heures. Cela va donner du 6-bromo-2-chloroindole qui n'a pas été isolé mais après refroidissement, il a été traité avec 3-acétoxyindole (3.58 g, 21 mmol). Puis, le mélange réactionnel a été laissé reposer toute la nuit. Un solide bleu foncé s'est formé. Celui-ci a été lavé avec de l'éthanol et recristallisé avec du benzoate d'éthyle pour former le MBI (341,16 g/mol).

Par ailleurs, grâce à des analyses chimiques plus pointues (HPLC à 540 nm), un chromatogramme a été obtenu à partir de la glande hypobranchiale de *Murex brandaris* et met en évidence un pic d'absorbance plus important pour le 6,6'-dibromoindigoïde (DBI) par rapport à l'IND et MBI. C'est cette molécule qui est retrouvée en plus grande quantité dans le pigment de cette espèce (Mantzouris et Karapanagiotis, 2014).

Aujourd'hui, il a été démontré que le DBI est le composé principal du pigment pourpre de la majorité des espèces de *Murex* sauf *Murex trunculus*. La composition chimique du pigment pourpre de nombreuses espèces de mollusques a été établie à l'aide d'une chromatographie liquide à haute performance.

Le DBI n'est pas retrouvé directement sous cette forme dans la glande hypobranchiale. Il est obtenu après une série de réactions enzymatiques et chimiques. D'après une étude menée par Cooksey en 2006 sur *Murex brandaris*, il a été démontré que les précurseurs du DBI sont le tyrindoxyle de sulfate qui se transforme sous l'action de la lumière et de l'oxygène en tyrindoxyle puis en tyrindoleninone et ensuite en tyriverdine avant de donner le composé final : le 6'6' dibromoindigo.

L'espèce *Nucella lapillus* a été analysée pour connaître la composition chimique du pigment par HPLC en comparaison avec un chromatogramme de référence. D'après l'analyse, le pigment pourpre de *Nucella lapillus* est composé uniquement du 6-6'dibromoindirubine.

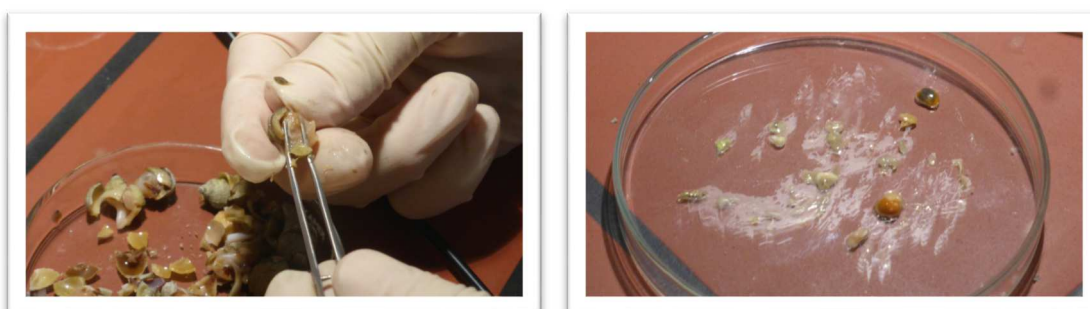
2.2.3- Essais d'extraction de teinture

2.2.3.1- Essai préliminaire

Ces essais préliminaires sont réalisés en collaboration avec monsieur R. Haubrichs de la société suisse CristalTech.

Matériel et méthode

Des perceurs sont prélevés sur le secteur de la pointe d'Agon au mois de mars. Leurs poids moyens est de 2.6 g. Une cinquantaine de perceurs sont disséqués après avoir brisé la coquille à l'aide d'un étau (ce qui permet de ne pas écraser la chair). L'extraction de la glande se fait à l'aide d'une pincette à pointe recourbée, la pointe passant sous l'emplacement de la glande qui se repère par une ligne généralement noire parallèle à la glande. La chair est ensuite arrachée et placée dans une boîte de Pétri.



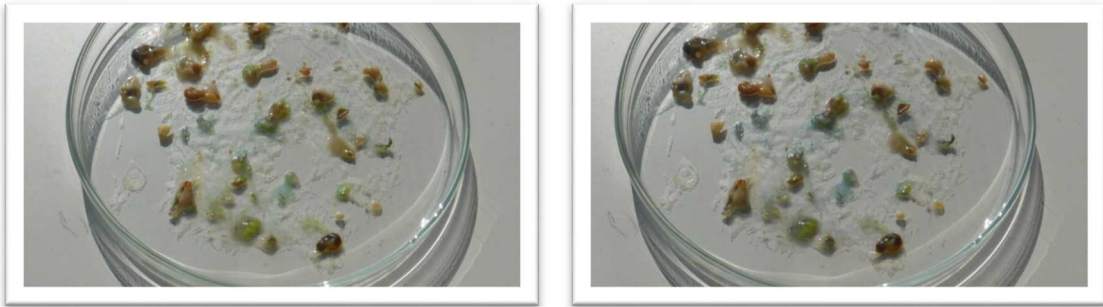
Photos 30 & 31 : Extraction de la glande des nucelles

Pour ces premiers essais préliminaires, les glandes ont été exposées dans la boîte de Pétri au soleil.

L'évolution de la glande est observée.

Résultats

Une coloration verte est très rapidement visible qui vire au bleu puis au violacé en quelques minutes. La dessiccation rapide des glandes au soleil interrompe la formation des indigoïdes



Photos 32 & 33 : Formation des indigoïdes : après 0 min et 30 secondes d'exposition au soleil



Photos 34 & 35 : Formation des indigoïdes : après 1 et 5 minutes d'exposition au soleil



Photo 36 : Formation des indigoïdes : après 30 minutes d'exposition au soleil

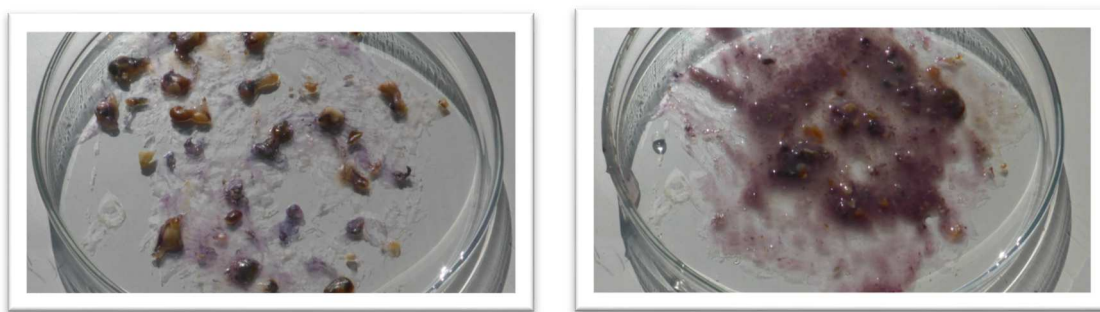


Photo 37 & 38 : Formation des indigoïdes : après 2 heures d'exposition au soleil et mélange des glandes après mouillage

Conclusion

Cette expérimentation préliminaire permet de constater la présence du pigment dans les nuelles. Par contre, le travail fastidieux d'extraction de la glande est incompatible avec un développement industriel du procédé.

2.2.3.2- Essais préliminaires d'extraction chimique

Les expérimentations d'extraction en collaboration avec C. Caplat de l'Université de Caen (CORRODYS - Cherbourg).

Matériel et méthode

Une étape préliminaire consiste à décoquiller les nuelles une à une à la main afin d'extraire le corps de l'animal. Le premier test a été réalisé à partir de nuelles fraîches (vivantes) alors que pour le second ce sont des nuelles décongelés.

1ere expérimentation : 300g de chaires fraîches réparties dans dix barquettes en aluminium ont été placés à l'étuve à 60°C pendant 60 heures. Cette matière sèche a ensuite été broyée, le poids varie de 8,5g à 10g par sachet.

2^{nde} expérimentation : 50g de nuelles décongelées et décortiquées ont été utilisés par échantillons. Cette fois-ci, elles ont été broyées puis réparties dans dix barquettes en aluminium que nous avons placé à l'extérieur afin que les précurseurs du pigment pourpre s'oxydent avec la lumière du jour. Après les avoir placés à l'étuve, nous avons récupéré des « pâtes » compacts séchés que nous avons découpé et préservé dans des sachets de 16 à 22,5g.

Le premier protocole d'extraction du pigment pourpre qui a été mis en place est le suivant :

- Etape 1 : 5g de poudre et 0,5g d'hydrosulfite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) (soit 1g d'hydrosulfite pour 10g de nuelles) ont été pesé à l'aide d'une balance de précision et ajouté dans une solution de 100 mL à pH alcalin. Trois tampons avec des pH différents 7,4 ; 8 et 8,4 ont été testés.

- Etape 2 : les flacons ont été déposés sur une table d'agitation horizontale (Gerhardt RS-485 type LS 2) à 80 tours/min pendant 30 minutes afin que la réaction d'oxydo-réduction entre l'hydrosulfite et la solution ait lieu.
- Etape 3 : Après homogénéisation, une centrifugation de 15 minutes à une vitesse de 55 000 tours/min a été réalisée avec une centrifugeuse Sigma 3K15 Bioblock Scientific. Le surnageant liquide de couleur jaune est alors prélevé avec une seringue en plastique dans de nouveaux flacons et le culot contenant les débris (coquilles, chair) est jeté.
- Etape 4 : les flacons laissés ouverts sont mis à agiter sur la table d'agitation horizontale pendant 15 minutes à une vitesse de 45 tours/min afin de réaliser un brassage à l'air libre pour permettre l'oxydation des précurseurs du pigment.

Le même jour, une seconde expérience a été réalisée avec le même protocole mais en mettant 10 g de poudre pour 1 g d'hydrosulfite dans 100 mL de solution alcaline. Nous avons testé 4 pH différents de 7,4 ; 8 ; 8,4 et 9 et laissé agiter les flacons ouverts toute une nuit sur la table d'agitation à une vitesse de 45 tours/min.

Les échantillons ont été traités par le LABEO de Caen (14). Dans un premier temps, ils ont été testés à l'aide d'une chaîne analytique HPLC-UV-DAD Agilent 1100 qui comporte une colonne analytique appelée Phenomenex - LUNA C18(2) (250x4,6 - 5µm). Le volume injecté est de 20 µl et chaque échantillon a été analysé à différentes longueurs d'onde 286, 303, 570, 600 et 615 nm. L'analyse a duré 35 minutes ce qui est comparable au temps de référence de 32 minutes pour le chromatogramme de *Nucella lapillus* présenté précédemment.

Résultats

L'hydrosulfite était nécessaire pour l'extraction puisqu'il élimine les différentes protéines qui dégradent le pigment et en s'oxydant, il réduit les indigoïdes alors devenus solubles. Cependant, la coloration bleu-violacée attendue n'a pas été observée même après 24 heures de réaction avec l'hydrosulfite.

La seconde expérimentation un changement de couleur a été observé lorsque les barquettes ont été placées à l'extérieur, à l'air ambiant.



Photo 39 : Visualisation de l'oxydation des précurseurs du pigment pourpre (avant/après)

D'après les chromatogrammes obtenus, il n'y a aucune acquisition du spectre UV-Visible- DAD de 190 à 700 nm qui puisse être caractéristique du MBI ou du DBI. Pour avoir confirmation, les échantillons ont été analysés en LC-Q-tof avec recherche des formules brutes du MBI et DBI. Ainsi, d'après le chromatogramme de référence de *Nucella lapillus* vu précédemment, un seul pic est détecté à 22 minutes lors d'une HPLC à 590 nm correspondant au DBI tandis que ce pic n'apparaît pas sur le chromatogramme obtenu en HPLC à 590 nm pour l'échantillon 5 contenant une masse sèche d'environ

20g dans une solution alcaline à pH 8. Sur ce dernier, deux pics sont détectés à 4 et 6 minutes ne sont la signature chimique d'aucune molécule connue du pigment pourpre. Ce qui nous laisse supposer que ces deux pics correspondent à d'autres molécules qui ne se situe pas dans la glande hypobranchiale.

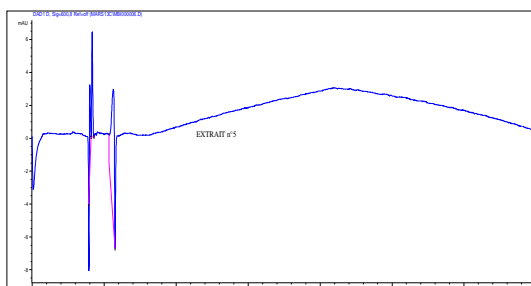


Figure 11 : Chromatogramme de l'extrait N° 5 par une acquisition à 600 nm en HPLC. (LABEO Caen)

2.2.3.3- Extraction des précurseurs sur des mollusques simplement cassés

Afin de répondre la problématique industrielle, il est indispensable de pouvoir travailler sur des broyages complets des perceurs plutôt que sur les glandes difficilement extractibles.

Matériel et méthode

Les nuelles sont prélevés au moins de mars, ils sont stockés sous vide afin de conserver leur qualité avant l'expérimentation.



Photos 40 & 41 : Perceur stockés sous vide en attente d'analyse – Lyophilisation pour stockage de longue durée

Les perceurs sont ensuite broyés grossièrement puis placé dans 150 ml de solvant. Trois types de solvants sont testés :

- Extraction avec de l'acide acétique glacial
- Extraction avec de l'acétone
- Extraction avec de l'isopropanol



Photos 42 & 43 : Extraction de la teinture avec différents solvants

Une hydrolyse alcaline (environ 50 ml de KOH 50% pour 50 glandes extraite) permet de récupérer la teinture.

Résultats

Les premiers résultats obtenus semblent prometteurs car cette méthode permet l'extraction des teintures après l'hydrolyse alcaline (photo 39). Toutefois, de nombreux essais devront encore être réalisés en collaboration avec des industriels afin de mettre au point une technique pouvant être utilisée à grande échelle.

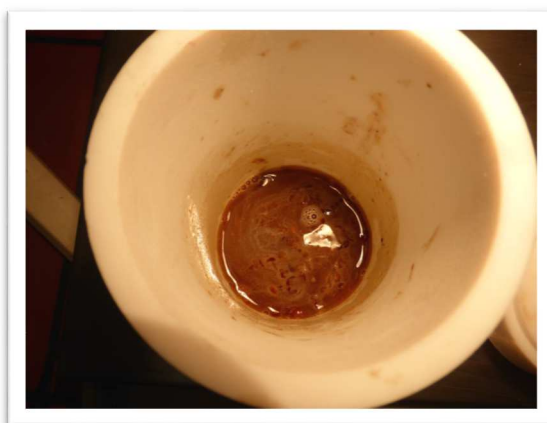


Photo 44 : Hydrolyse alcaline (environ 50 ml de KOH 50% pour 50 glandes extraite, après 1 heure)

2.3- Autres pistes : molécules d'intérêts pharmaceutiques

Outre la présence de la molécule colorée principale, la 6,6'dibromoindigo, la pourpre possède aussi un autre composé : la 6,6'dibromoindirubine ; une molécule possédant des vertus médicales inattendues.

En 1960, l'Académie de Médecine Chinoise étudiait un mélange de plantes reconnues comme étant efficaces au traitement de diverses infections, comme la leucémie myéloïde chronique, dont ils cherchaient son principe actif. En isolant chacun des différents constituants et réalisant différents tests directs sur l'Homme, ils parvinrent à démontrer que le seul ingrédient portant l'activité thérapeutique était une poudre bleue extraite de plantes produisant de l'indigo. Les chercheurs se rendirent très vite compte que l'indigo, en lui-même, était inactif et que seul un contaminant mineur avait l'activité anti-leucémique : l'indirubine (Fig 12) (MEIJER, 2004)

Malheureusement, le composé étant peu soluble et son mécanisme d'action inconnue, peu de composés dérivés furent appliqués en pharmacologie dans le monde. Cependant, en 1999, il a été découvert que l'indirubine et ses dérivés étaient des inhibiteurs de certaines kinases directement impliquées dans la division cellulaire, donc possédant un effet antiprolifératif (HOESSEL et al, 1999 ; DAMIENS et al, 2001 in MEIJER, 2004). En la liant avec d'autres composés (CDK2,CDK2/cycline A,...etc), elle peut s'insérer dans le site actif de l'ATP des kinases, bloquant ainsi leur activité catalytique.

En 2001 fût constaté que l'indirubine était aussi un puissant inhibiteur de la glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) (LECLERC et al, 2001 in MEIJER, 2004), kinase intervenant dans la mort cellulaire ou encore la maladie d'Alzheimer (fig 12).

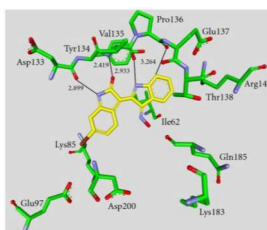


Figure 12 : Inhibition des liaisons ATP de la GSK-3 par l'indirubine

En recueillant de l'indirubine de mollusques marins et en la complétant : 6-bromoindirubine- 3'-oxime (BIO). Cette modification permet une sélectivité plus poussée vis à vis de GSK-3 et donc améliore considérablement son inhibition (MEIJER et al, 2003 ; POLYCHRONOPOULOS et al, 2004 in MEIJER, 2004). Mais l'indirubine possède aussi d'autres effets médicaux. Il semblerait en effet que la BIO soit capable de maintenir les cellules souches embryonnaires à leur état indifférencié, sans en empêcher leur multiplication (SATO et al, 2004 in MEIJER, 2004)

Grâce à ce produit simple à synthétiser, il serait possible, via un seul échantillon de cellules souches embryonnaires, de produire un stock quasi-illimité de cellules souches à l'état indifférencié permanent. Cela pourrait donc permettre de passer outre le problème éthique posé par l'utilisation d'embryons humains dans la production de cellules souches.

Actuellement, les recherches sur d'autres applications de l'indirubine sont encore en cours (MEIJER, 2004)

Une étude menée sur des extraits de masse d'œufs chez les *Dicathais orbita* témoigna de la présence d'indoles bromés ayant une activité anti-cancéreuse. Cependant, aucun effet ne fût constaté lors des tests, juste une légère réduction pour un cancer du système lymphatique (lymphomes d'une seule lignée cellulaire : U937) de 35 %. Par conséquent, les applications anti-cancéreuses n'ont pu être justifiées par l'étude menée. Malgré tout, la réduction significative sur les lymphomes suppose la possibilité d'optimisation du remède afin de le rendre efficace. La plus grande viabilité cellulaire des indoles bromés a été constatée pour le cancer du côlon (80%). Cette sélectivité a beaucoup d'intérêt étant donné que le *Dicathais orbita* est comestible (d'ailleurs exploité comme source de protéines dans certaines cultures notamment l'Asie) et que les indoles bromés sont conservés lors de l'ébullition du mollusque.

Ainsi, il est suggéré que ce murex serait un aliment médicamenteux. Par ailleurs, d'autres études sont nécessaires afin de déterminer si tous les composés bioactifs présents sont non-toxiques et bio-disponibles après ingestion du mollusque. Les extraits de Muricidés pourraient donc, à l'avenir, devenir un médicament de substitution pour traiter le cancer (BENKENDORFF et al., 2011)

Depuis son déclin jusqu'à aujourd'hui, les recherches scientifiques n'ont cessé d'élucider les mystères de la pourpre tels son histoire, sa biochimie ou encore l'intérêt que celle-ci peut nous apporter. Malgré sa disparition durant le Moyen-Age et celle du savoir-faire de son extraction, on a pu révéler tout son fonctionnement biochimique et petit à petit réinventer son procédé de fabrication. Même si son intérêt reste faible comparé à l'époque de son apogée, elle reste malgré tout disponible dans le marché. Bien sûr, de par la mondialisation, l'ancienne méthode d'extraction est mise de côté au profit de la synthèse biochimique, bien moins contraignante, coûteuse et n'implique pas la mort des muricidés.

Son rôle pour l'animal a été longtemps sujet à divers hypothèses, sans jamais en être totalement démontré. Aujourd'hui, il est devenu évident que la pourpre joue un rôle important dans la vie des muricidés. Grâce aux méthodes chromatographiques et spectrophotométries, on a pu attester de la présence du pourpre dans les œufs et donc démontrer son rôle protecteur (antibactérien, antiviral et anticancéreux).

Son potentiel médical est par conséquent très intéressant, il pourrait apporter à la fois un moyen de lutte contre diverses maladies dégénératives tel Alzheimer, mais aussi une alternative à l'utilisation d'embryons humains dans l'étude et l'exploitation des cellules souches.

Malgré toutes les découvertes réalisées sur la pourpre, celle-ci garde encore beaucoup d'interrogations et d'intérêts pour le monde scientifique.

Conclusion

La lutte contre les perceurs

La présence des perceurs dans les parcs d'élevage mytilicole engendre des pertes de production importantes. La recolonisation des espaces nettoyés se faisant très rapidement, la lutte contre ce prédateur doit se faire aux différentes phases de la vie du perceur.

- 1- Décembre-mars : Ramassage collectif des géniteurs en amas sur les secteurs de ponte, notamment en dehors de concessions mytilicoles (rendement env. 17kg par heure et par personne)
- 2- Février-Avril : Brulage des œufs
- 3- Avril-Juillet : Traitement des cordes par sursalure (23 h à 140 ‰)
- 4- Toute l'année : ramassage individuel manuel en bas des pieux (4 heures par ligne)
- 5- Toute l'année : ramassage individuel manuel à l'intérieur du pieu (15 heures par ligne)

La valorisation des nuelles

Deux pistes de valorisation des perceurs ont été particulièrement exploitées et semblent avoir un intérêt :

- L'alimentation humaine : ce volet paraît particulièrement intéressant et peut être facilement mis en application. Consommée depuis l'antiquité, encore commercialisée localement et pêchée par quelques connaisseurs, cette espèce peut être consommée. L'une des difficultés de ce gastéropode est la méthode de cuisson qui doit être adaptée aux nuelles, elle est différente des bulots et des bigorneaux. Une fois bien cuisinée, sa qualité n'a rien à envier aux autres gastéropodes consommés traditionnellement (bulots, bigorneaux) et les nuelles pourraient trouver leur place sur les plateaux de fruits de mer, notamment en été où les colorations assez vives de leur coquille apporteront des touches de couleurs intéressantes
- L'extraction de teinture : Le pourpre est extrait des nuelles depuis très longtemps afin de teindre les vêtements, objet religieux...L'extraction chimique de cette teinture est faisable mais le procédé industriel n'est pas encore au point et nécessite une étape de recherche et développement. Toutefois, une entreprise suisse (Cristal Tech) souhaite développer le marché de cette teinture et est extrêmement intéressée par les stocks présents sur le littoral bas normand. Cette entreprise souhaite donc poursuivre ses études sur cette extraction industrielle.

Bibliographie

- BASUYAUX O., 2002. Facteurs influençant la densité de perceurs sur les parcs mytilicoles : recrutement, température, salinité. Rapport SMEL - SMEL/CE-prod/2002.03. 21 pp
- BASUYAUX O., et JAHIER, A., 2001. Evaluation de la prédation des perceurs dans les bassins ostréicoles en Basse-Normandie. Rapport SMEL. 35p.
- BASUYAUX O., et LELIEVRE, Y., 2003. Infestation des cordes mytilicoles et optimisation de la collecte des perceurs. Rapport SMEL – SMEL/CE-prod/2003-02. 26 pp.
- BASUYAUX O., BRUNET, 2007. Evaluation de l'impact de la prédation des huîtres en Basse Normandie. Rapport SMEL – SMEL/CE-prod/2007-05. 33pp.
- BASUYAUX O., R. BURET, N. LAISNEY & J-M JACQUETTE, 2012. Prédation par les perceurs dans le secteur conchylicole de la pointe d'Agon à Gouville sur mer. SMEL/ CE - Prod / 2012 – 02. 37p.
- BENKENDORFF K., C.M. MCIVER, C.A. ABBOTT (2011), Bioactivity of the Murex Homeopathic Remedy and of Extracts from an Australian Muricid Mollusc against Human Cancer Cells, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Volume 2011.
- COCAIGN J.Y. (1997), La pourpre (*Nucella lapillus*) et son utilisation comme teinture en Armorique, Annales de Bretagne et des pays de l'Ouest, tome 104, pp 7-22.
- COOKSEY C.J. (2001), Tyrian purple: 6,6'-dibromoindigo and related compounds, Molecules 6, pp 736-769.
- DUPONT C., 2011. The dog whelk *Nucella lapillus* and dye extraction activities from the Iron Age to the Middle Ages along the Atlantic coast of France. In: Journal of island & coastal archaeology. 2011. Vol. 6, n° 1, p. 3-23.
- DUPONT C., TRESSET A., SCHULTING, R., 2007 –Chapter 12, Prehistoric shell middens in France: investigations new and old. In: Milner N., Craig O.E., Bailey G.N. (eds.), Shell-Middens in Atlantic Europe. Oxford, Oxbow books, 123-135
- HAUBRICHS R., 2005 L'étude de la pourpre : histoire d'une couleur, chimie et expérimentations. ISSN 0393-0157 pp. 133-160
- KARAPANAGIOTIS I., MANTZOURIS D., COOKSEY C., MUBARAK M., et TSIAMYRTZIS P., 2013. An improved HPLC method coupled to PCA for the identification of Tyrian purple in archaeological and historical samples. In : Microchemical Journal. septembre 2013. Vol. 110, p. 70-80. DOI 10.1016/j.microc.2013.02.008.
- KOREN Z.C. 2005. 'The First Optimal All-Murex All-Natural Purple Dyeing in the Eastern Mediterranean in a Millennium and a Half', Dyes in History and Archaeology 20, pp. 136–149, Color Plates 15.1–15.5 (Archetype Publications, London).
- KOREN Zvi C., 2012. Chromatographic and colorimetric characterizations of brominated indigoid dyeings. In: Dyes and Pigments. décembre 2012. Vol. 95, n° 3, p. 491-501. DOI 10.1016/j.dyepig.2012.06.016.

LE DANTEC J., 1960. Les bigorneaux perceurs. Science et pêche Bulletin d'information et de documentation de l'ISTPM., 80. 3pp.

MANTZOURIS D., et KARAPANAGIOTIS I., 2014. Identification of indirubin and monobromoindirubins in *Murex brandaris*. In: Dyes and Pigments. mai 2014. Vol. 104, p. 194-196. DOI 10.1016/j.dyepig.2014.01.011.

MEIJER L. (2004), La pourpre de Méditerranée, une source inattendue d'inhibiteurs de GSK-3, Medecine sciences, vol. 20, pp 516-518.

NAEGEL L. C. A et COOKSEY, C. J, 2002. Tyrian purple from marine muricids, especially from *Plicopurpura pansa* (Gould, 1853). In: Journal of shellfish research. 2002. Vol. 21, p. 193-200.