

Rapports internes de la Direction des Ressources Vivantes
de l'IFREMER

PRODUCTION EN MASSE DE
Skeletonema costatum
EN BASSINS EXTERIEURS
PAR FERTILISATION MINERALE :
ETUDE D'UN CYCLE ESTIVAL

Dominique GAUTIER, Christophe LEDU, Jérôme HUSSENOT,
André GERARD



DRV-93.033-RA/CREMA-L'HOUMEAU / LA TREMBLADE

136
 INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER

Adresse :
 1) CREMA BP 5 17137 L'HOUMEAU
 2) URGE BP 133 17390 LA TREMBLADE

DIRECTION DES RESSOURCES VIVANTES
 DEPARTEMENT DES RESSOURCES AQUACOLES
 LABORATOIRE 1) CREMA L'HOUMEAU (CNRS-IFREMER)
 2) IFREMER- URGE LA TREMBLADE

AUTEUR (S) : Dominique GAUTIER (1), Christophe LEDU (2), Jérôme HUSSENOT (1) et André GERARD (2)		CODE : RI DRV 93.033
TITRE : Production en masse de <i>Skeletonema costatum</i> en bassins extérieurs par fertilisation minérale : étude d'un cycle estival		Date : avril 1993
		Tirage en nombre : 60
		Nb pages : 35 Nb figures : 15 Nb photos : 1
CONTRAT	La région POITOU-CHARENTES a contribué à cette étude en la personne de D. Gautier, recruté dans le cadre d'une collaboration de recherche avec l'Andalousie	DIFFUSION libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> confidentielle <input type="checkbox"/>

RESUME
<p>La production en masse de <i>Skeletonema costatum</i> par fertilisation minérale (N, P, Si) a été étudiée à l'écloserie IFREMER de Ronce-les-Bains, sur un bassin de 200 m³ à fond bâché pendant un cycle de 11 jours en juillet 1992. Les nutriments, la biomasse phytoplanctonique, ainsi que la température, la salinité, le pH et l'oxygène dissous ont été mesurés quotidiennement. Un "bloom" de <i>S. costatum</i> a atteint 190 µg/l de chlorophylle a (soit environ 500.000 cellules par ml) en 3 jours, puis a dégénéré rapidement, permettant le développement d'une population de flagellés. La disparition de <i>S. costatum</i> s'explique principalement par l'épuisement du milieu en azote et en silice. Une analyse du cycle de production étudié permet de proposer une amélioration de la méthode culturale en rééquilibrant les apports d'engrais et en augmentant les renouvellements d'eau.</p>
mots-clés : phytoplancton, nutriments, production en masse, <i>Skeletonema costatum</i> , diatomées
key words : phytoplankton, nutrients, mass culture, <i>Skeletonema costatum</i> , diatoms



PRODUCTION EN MASSE DE *Skeletonema costatum* EN BASSINS EXTERIEURS PAR FERTILISATION MINERALE: ETUDE D'UN CYCLE ESTIVAL.

Dominique GAUTIER¹, Christophe LEDU², Jérôme HUSSENOT¹ et André GERARD².

¹ Centre de Recherche en Ecologie Marine et Aquaculture (CNRS-IFREMER), BP5, 17137 L'HOUMEAU.

² Unité de Recherche en Génétique et Ecloserie (IFREMER RONCE-LES-BAINS), BP133,
17390 LA TREMBLADE.

SOMMAIRE

1-Introduction.....	03
2-Matériels et méthodes.....	06
2.1-Gestion de la culture.....	06
2.2-Analyses de l'eau.....	08
3-Résultats.....	10
3.1-Données météorologiques.....	10
3.2-Biomasse phytoplanctonique.....	10
3.3-Recherche de paramètres indicateurs de l'évolution de la culture.....	12
3.4-Evolution des nutriments.....	14
4-Discussion.....	20
5-Conclusion générale.....	27
6-Références bibliographiques.....	28
Annexes.....	32

1-INTRODUCTION

La production de microalgues d'intérêt aquacole en petits et moyens volumes est bien maîtrisée par les écloséries françaises de mollusques bivalves. Des techniques de cultures par ensemencements successifs de volumes croissants, jusqu'à plusieurs centaines de litres, sont pratiquées couramment en flacons de verre puis en bacs de résine synthétique ou en sacs polyéthylène (FLASSCH, 1978). Mais ces techniques de production en laboratoire sont d'un coût élevé, ce qui les rend non applicables au prégrossissement et au grossissement de mollusques filtreurs. C'est pourquoi ont été développées des techniques de production de phytoplancton naturel (DE PAUW & DE LEENHEER, 1980) par des fertilisations minérales, organo-minérales ou même organiques. Une autre alternative originale est l'utilisation d'eaux salées souterraines naturellement riches en sels nutritifs (BAUD & BACHER, 1990), mais cette technique n'est applicable qu'en certains sites particuliers. Dans tous les cas, deux stratégies de production phytoplanctonique sont envisageables (DE PAUW, 1981): la culture contrôlée d'une algue spécifique, ou bien l'induction d'un bloom de phytoplancton naturel.

L'écloserie d'IFREMER-Ronce-Les-Bains dispose de quatre bassins extérieurs à fond banché d'une capacité individuelle d'environ 200 m³ (pour trois d'entre eux) utilisés comme réserve et décanteur de l'eau de mer. Cette eau pompée dans la Seudre alimente les salles d'élevage de l'écloserie. L'équipe de l'URGE eut l'idée de produire la nourriture des mollusques filtreurs dans ces bassins extérieurs par apports d'engrais agricoles. Que ce soit avec un ensemencement à partir d'une culture en moyen volume (2x800l) ou sans, un développement massif de la diatomée *Skeletonema costatum* est obtenu. Cette espèce semble résistante aux variations physico-chimiques du milieu et donc relativement facile à produire si on la maintient dans des conditions de croissance optimales (DE PAUW, 1981; RIVA & LELONG, 1981; DE PAUW et al., 1983; RODEN & O'MAHONY, 1984; BAUD & BACHER, 1990) et cette diatomée en chaînes présente en outre l'avantage d'être d'une bonne valeur nutritive pour les huîtres (DE PAUW, 1981; RODHOUSE et al., 1983).

Les intérêts d'une telle technique de culture de microalgues en bassins extérieurs de grand volume sont la simplicité de production, le faible coût et la disponibilité en quantité toujours suffisante de la nourriture pour les mollusques en élevage. Les problèmes actuellement rencontrés sont les difficultés de contrôle de la production de *Skeletonema costatum* qui subit des chutes brutales après un premier pic de biomasse, notamment en période estivale. C'est pourquoi cette étude a été menée en juillet, dans le but d'identifier les causes véritables de ces incidents répétés. Les objectifs précis de notre étude sont d'analyser les conditions physico-chimiques durant le développement de la culture avec les pratiques actuelles de production issues d'une approche empirique et d'en déduire les paramètres à modifier pour une meilleure méthode culturale.

En s'associant avec l'équipe de l'URGE pour cette étude, le CREMA a été amené à compléter une recherche sur les techniques de stimulation de la productivité des marais dont la finalité est de proposer une méthode de production massive de phytoplancton pour l'élevage de mollusques filtreurs (HUSSENOT et al., 1992):

- en testant l'efficacité du métasilicate de sodium solide par rapport à la liqueur de silice employée par le CREMA,
- en comparant les résultats et les mécanismes, dans un bassin sans sédiment, à ceux observés en marais,
- en réfléchissant aux avantages possibles de ce type de bassin à fond bâché, étroit et profond, par rapport au marais naturel.

L'étude a porté principalement sur la mesure de la biomasse microalgale produite et sur l'analyse de la qualité physico-chimique de l'eau, en particulier sur le devenir des nutriments apportés par les engrais.

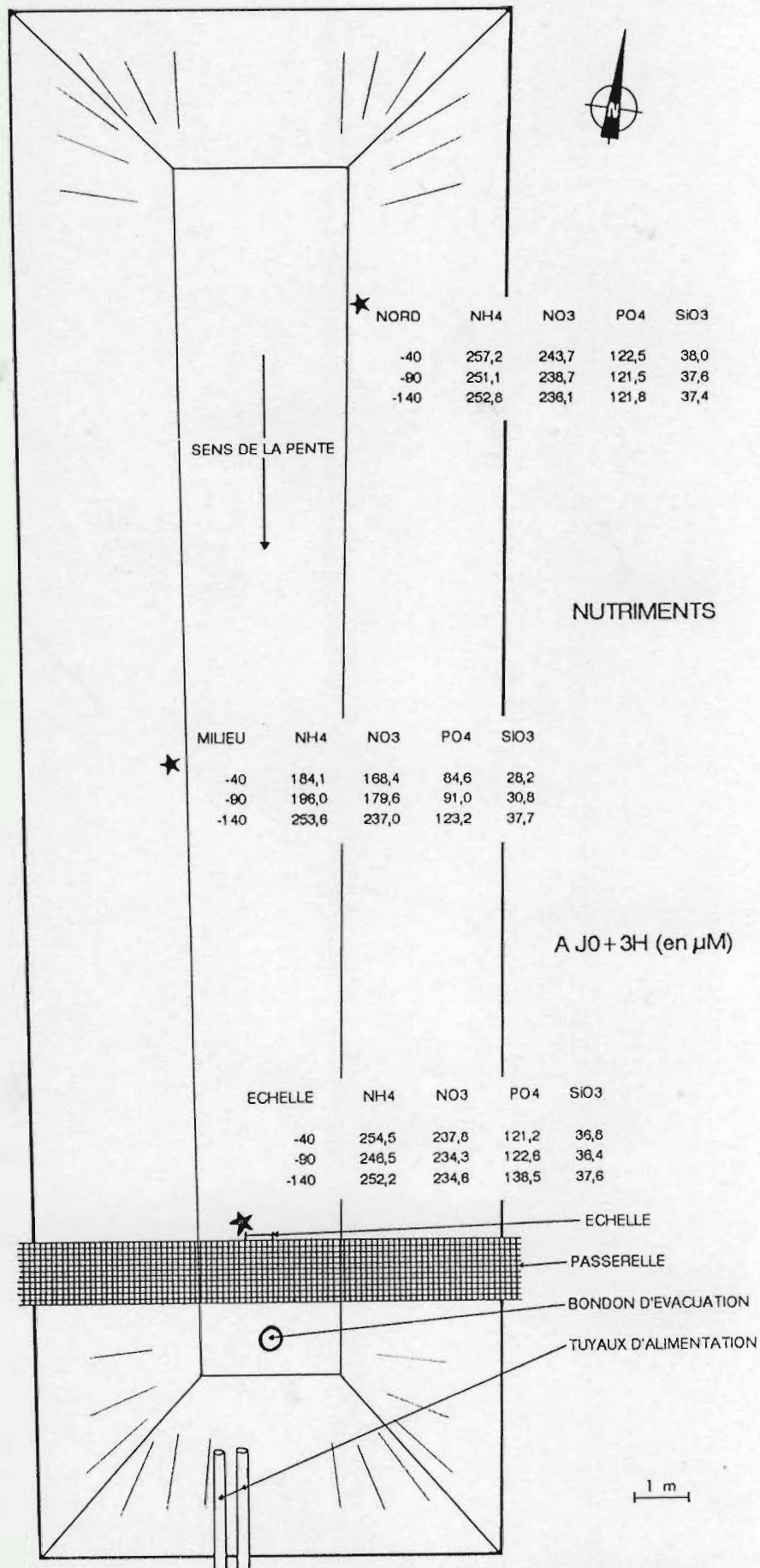


Figure 1: schéma du bassin étudié (en vue aérienne) et répartition des nutriments à J0+3h apportés par les engrais à J0+0h. Superficie= 242,7m². Hauteur= 2m à 2,3m.

2-MATERIELS ET METHODES

2.1-GESTION DE LA CULTURE

L'étude a été réalisée pendant 11 jours, du 23 juillet au 3 août 1992, sur un bassin de $219 \pm 8 \text{ m}^3$ (figure 1) géré selon les besoins et les habitudes de l'équipe de l'URGE, à savoir:

- **apport initial** d'engrais agricoles solides jetés dans le remou de l'eau de remplissage, pompée dans la Seudre (moment correspondant à l'origine de notre échelle de temps notée J0+0h):

- 5 kg d'ammonitrate 33,5% N ($16,75\% \text{ N-NH}_4 + 16,75\% \text{ N-NO}_3$)
- 5 kg de triple super phosphate 46% P_2O_5
- 1 kg de métasilicate de sodium pentahydraté 13,25% Si-SiO_3

soit pour 219 m^3 (voir méthode de calcul en annexe 1):

- 273 μM de N-NH_4
- 273 μM de N-NO_3
- 148 μM de P-HPO_4
- 22 μM de Si-SiO_3

- **apports d'entretien** effectués comme suit pendant le cycle étudié: 0,5 kg de métasilicate (soit 11 μM [Si]) à J3, J6 et J7; 2,5 kg d'ammonitrate (soit 137 μM [N-NO_3] et 137 μM [N-NH_4]) et de super phosphate (soit 74 μM [P-HPO_4]) à J6 et 1 kg des deux produits (soit 55 μM [N-NO_3], 55 μM [N-NH_4] et 30 μM [P-HPO_4]) à J7.

- **ensemencement** du bassin à partir d'une culture de *Skeletonema costatum* en intérieur (2 bacs de 800 litres à 300.000 cellules/ml), soit une concentration initiale d'environ 1.000 cellules/ml.

- **renouvellement** par vidange partielle du bassin pour distribution du phytoplancton produit vers les élevages en moyenne tous les 2 jours selon les besoins, en mélange avec l'eau naturelle de la Seudre. Il est à noter qu'en raison d'un problème technique, la distribution de la culture vers les élevages était le seul moyen de vidange partielle du bassin, ce qui explique la limitation en fréquence et en volume des renouvellements d'eau (figure 2),

- **durée** moyenne de la culture (fonction de son évolution, elle-même très variable selon la saison): 14 jours.

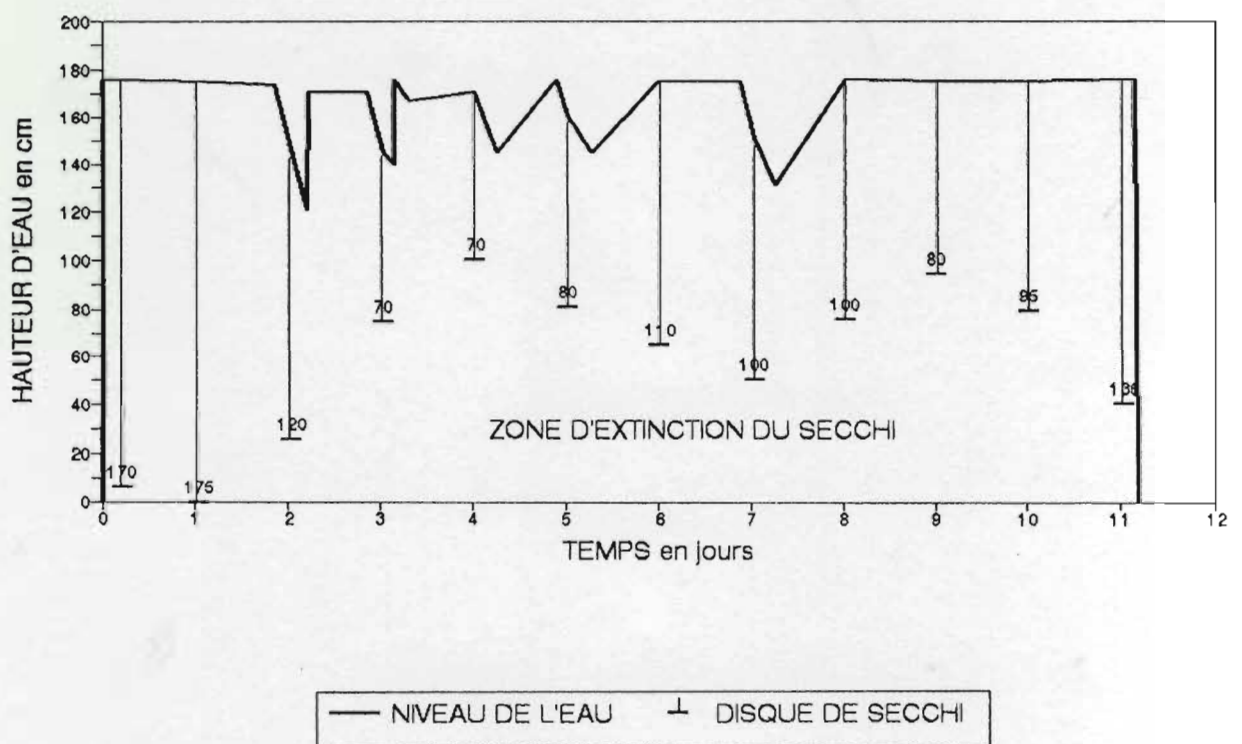


Figure 2: évolution de la hauteur d'eau (figurant les renouvellements) et mesure de la transparence de l'eau au disque de Secchi.

2.2-ANALYSES DE L'EAU

Les mesures et les prélèvements ont été réalisés quotidiennement entre 11h et 11h30 à 3 niveaux de la colonne d'eau (-40, -90 et -140 cm sous la surface) en une seule station située à côté de l'échelle de la passerelle (figure 1). Les apports d'engrais et d'eau neuve ont été systématiquement réalisés après les mesures, dans l'après-midi. Les paramètres étudiés et les techniques d'analyse employées sont décrits dans le tableau 1.

Tableau 1: analyses journalières de l'eau du milieu de culture.

PARAMETRE	TECHNIQUE-MATERIEL
mesures <i>in situ</i>	
échanges d'eau	échelle graduée dans le bassin
transparence	disque de Secchi
température	thermo-conductimètre WTW LF196
salinité	thermo-conductimètre WTW LF196
oxygène dissous	oxymètre WTW TriOxmatic 161TR
mesures au laboratoire sur prélèvement avec pompe immergée 12V	
pH	pHmètre Knick 651 + électrode gel
<i>fluorescence in vivo</i>	fluorimètre Turner 112
chlorophylle a	filtration Whatman GF/C 25mm fixation avec MgCO ₃ -congélation extraction au méthanol mesure au fluorimètre Turner 112
sels nutritifs	filtration Whatman GF/C 47mm congélation mesure à l'autoanalyseur Skalar
phytoplancton	comptage sur analyseur d'image ou fixation au formol(1%)+lugol(4%) examen au microscope optique

Un profil de lumière a été réalisé à J4 avec un capteur de quanta LICOR LI-190SA branché sur un lecteur-enregistreur Datalogger LI-1000.

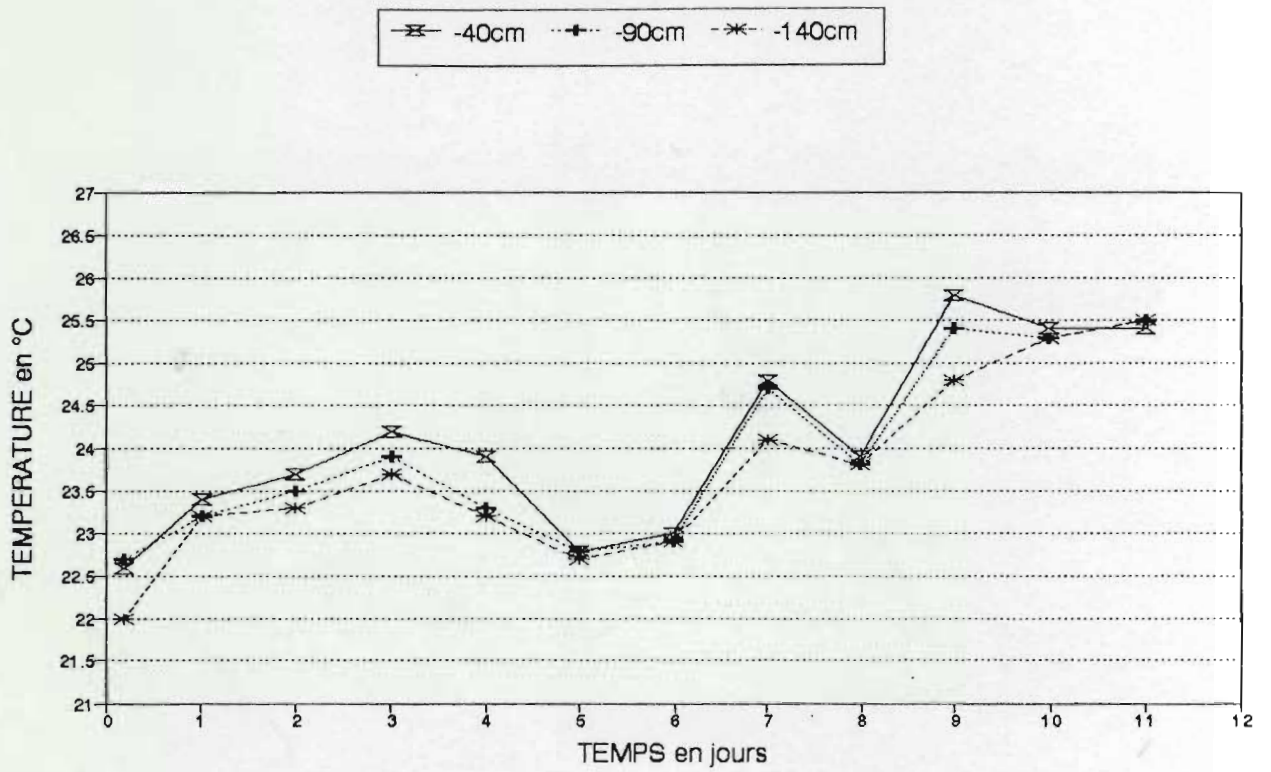


Figure 3: évolution de la température de l'eau mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau.

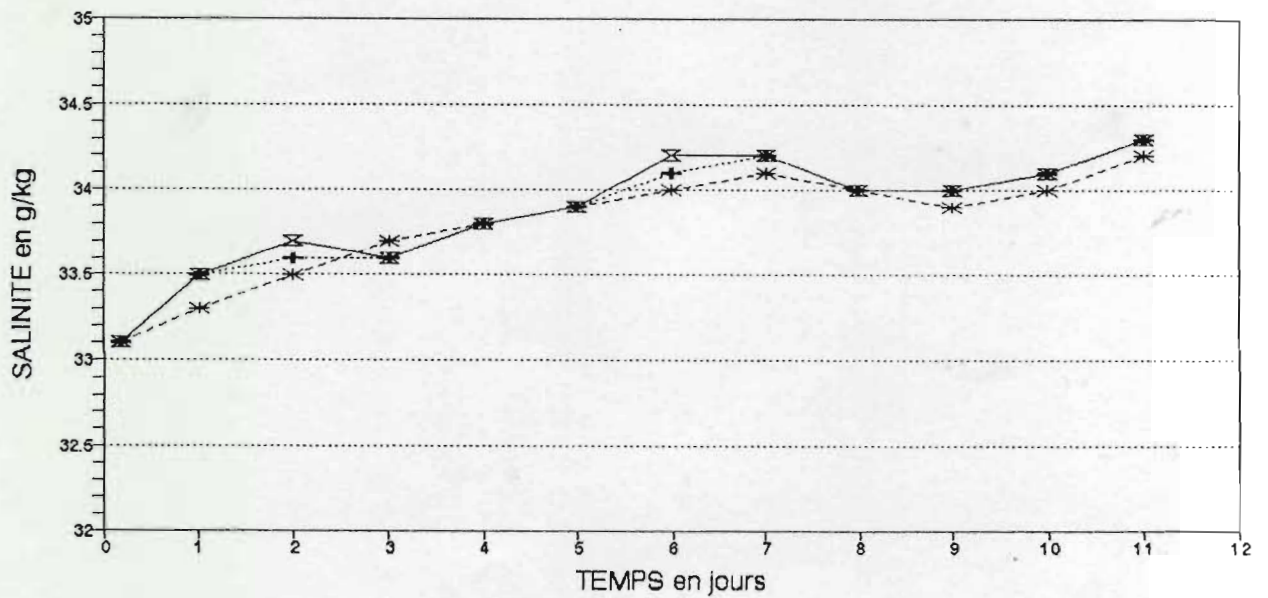


Figure 4: évolution de la salinité de l'eau mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau.

3-RESULTATS

3.1-DONNEES METEOROLOGIQUES

L'examen des données quotidiennes relevées par Météo-France à la station du Chateau d'Oléron montre que l'expérience s'est déroulée durant une période de forte chaleur. En effet, entre le 23 juillet et le 3 août, la température journalière moyenne de l'air a varié entre 19,5 à 25,8 °C (mini = 14,2 °C; maxi = 32,2 °C) avec une insolation de 7,2 à 13,6 h/jour (sauf le 30 juillet avec 3,2 h). La quasi absence de pluies (seulement 0,2 mm le 25 juillet) et la chaleur ont entraîné une chute de l'humidité relative de l'air pendant la période de l'expérience tombant à 31 % le 28 juillet. Ce même jour, du fait de ces conditions particulières, l'évapotranspiration potentielle a atteint la valeur record pour l'été 1992 de 7,4 mm.

Ces conditions de canicule font que l'on observe une augmentation globale de la température (figure 3) et de la salinité de l'eau (figure 4) pendant la durée du suivi et ce malgré 5 jours de renouvellements d'eau d'un volume moyen de 31 % du bassin sur les 11 jours de culture (figure 2).

3.2-BIOMASSE PHYTOPLANCTONIQUE

La biomasse maximale produite est relevée 67,5 h après l'ensemencement en *Skeletonema costatum*. Elle atteint 187 µg/l de chlorophylle a (de 172 à 201 µg/l selon le niveau dans la colonne d'eau), soit environ 500.000 cellules par ml. La biomasse est alors constituée essentiellement par *S. costatum* (tableau 2). Nous assistons ensuite, dès J4, à une dégénérescence rapide et régulière de la culture (figure 5) caractérisée par une mortalité massive des cellules de *S. costatum* que l'on observe jusqu'à J7, puis par la disparition quasi totale de la diatomée à J9 (tableau 2). Les renouvellements d'eau réguliers associés aux apports d'engrais à J3, J6 et J7 n'ont pas permis de relancer le développement de *S. costatum*.

La disparition de *S. costatum* est accompagnée puis suivie du développement de populations de flagellés, de ciliés et d'euglènes dans l'ordre de leur importance respective (tableau 2), qui succèdent à la diatomée pour ensuite régresser à leur tour à partir de J10 (figure 5). Nous remarquons par ailleurs sur la figure 5 que le rapport biomasse chlorophyllienne / densité de cellules témoigne bien de la succession des populations. Le rapport est proche de 1 µg chl.a / 3000 cellules avant J7 quand *S. costatum* est dominant, puis il diminue progressivement à partir de J7 (1/6000 à J7, 1/10000 à J9 et 1/14000 à J10) lorsque les flagellés (petites cellules de 10 à 12 µm) se développent.

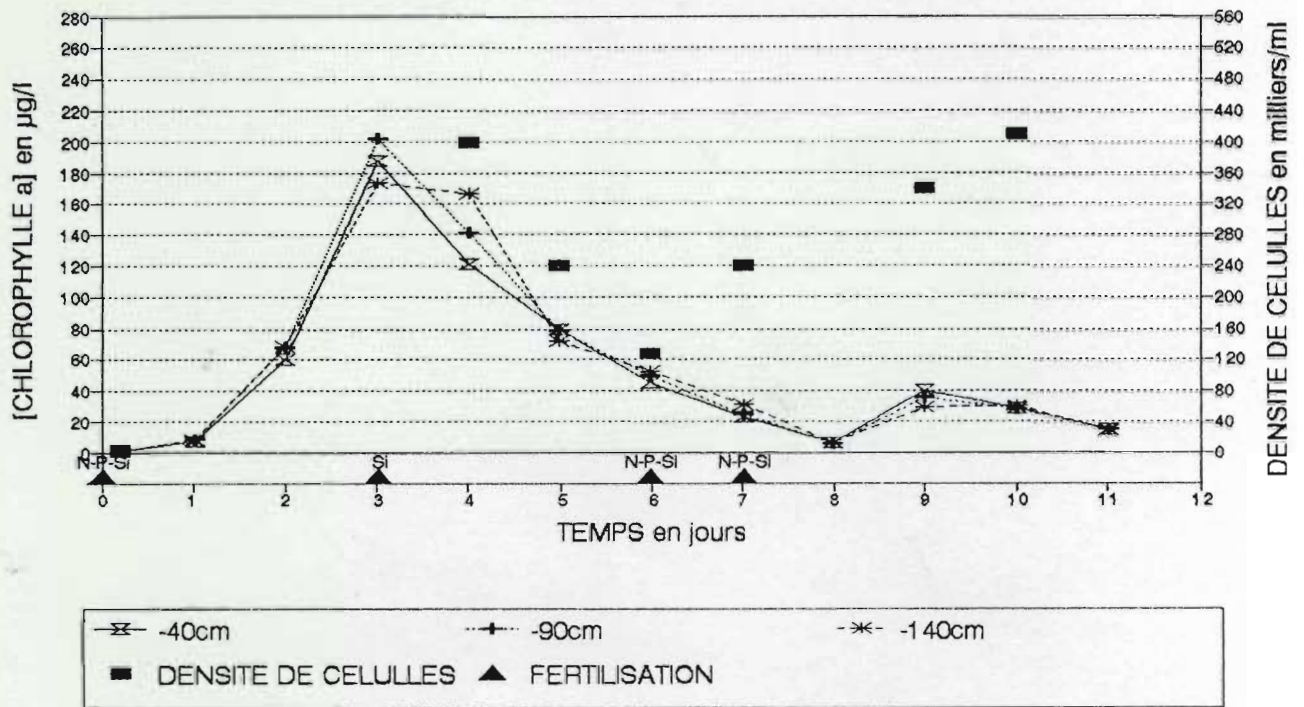


Figure 5: évolution de la concentration en chlorophylle a mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau et de la densité de cellules déterminée sur un prélèvement intégrant toute la colonne d'eau.

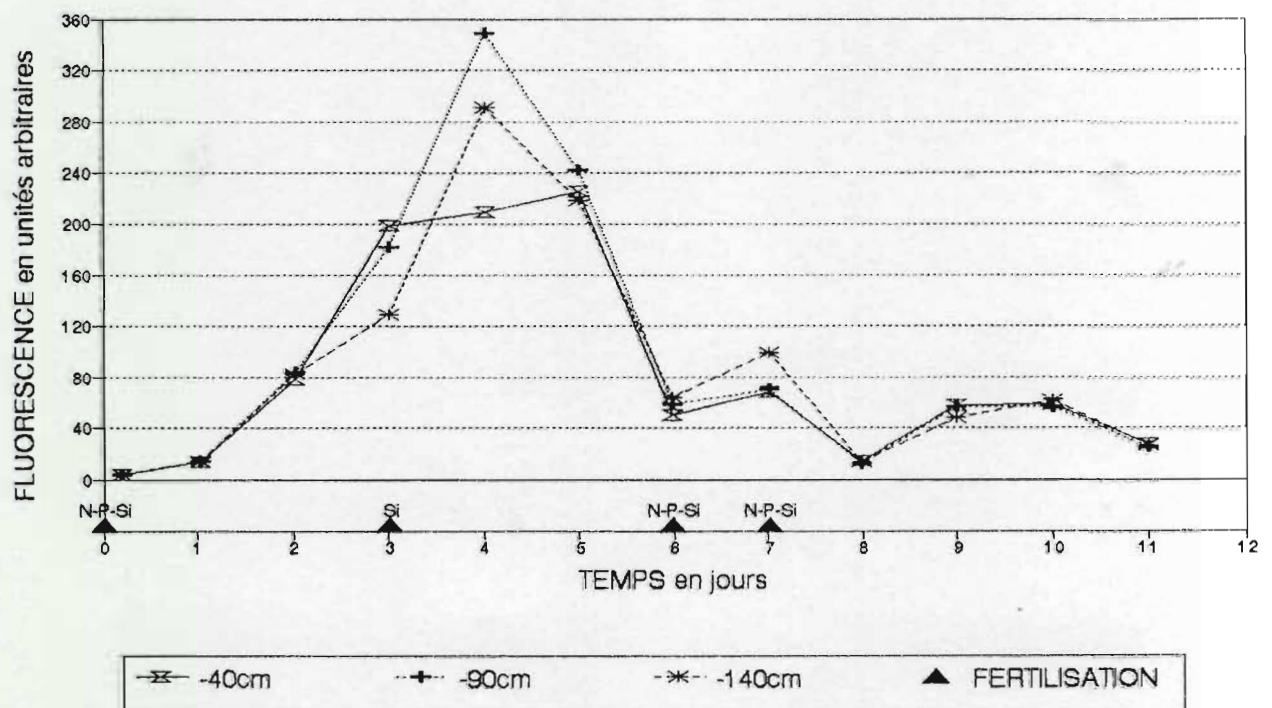


Figure 6: évolution de la fluorescence *in vivo* de l'eau mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau.

Nous observons sur la figure 5 l'absence quasi permanente de stratification verticale de la biomasse phytoplanctonique, ce qui est sans doute la conséquence de l'action du vent qui induit des mouvements d'eau dans ce bassin de grande profondeur. Une exception est relevée à J4 où la concentration de chlorophylle diminue en surface. Ceci pourrait être dû à la floculation des cellules de *S. costatum* qui disparaissent à raison d'environ 100.000 par jour à ce moment là. Le phénomène est également mis en évidence par la mesure de fluorescence *in vivo* (figure 6).

Tableau 2: évolution de la composition du peuplement phytoplanctonique observé (classement par ordre d'abondance) en fonction du temps.

JOUR	J0	J4	J7	J9
	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>	<i>S. costatum</i>	Flagellé
	<i>Nitzschia sp</i>	Flagellé	Flagellé	<i>Euglena sp</i>
	<i>Navicula sp</i>	<i>Euglena sp</i>	<i>Euglena sp</i>	<i>Nitzschia spp</i>
	<i>Rhizosolenia sp</i>		<i>Amphora sp</i>	<i>Navicula spp</i>
	Coccolithophoridés		<i>Cyclotella sp</i>	<i>S. costatum</i>
			<i>Prorocentrum sp</i>	<i>Gymnodinium sp</i>

Entre J4 et J9, on observe également un développement de ciliés (*Strombidium sp*) dont l'importance de la population apparait croissante, jusqu'à devenir la deuxième espèce en terme d'abondance.

3.3-RECHERCHE DE PARAMETRES DESCRIPTEURS DE L'EVOLUTION DE LA CULTURE

Nous remarquons que l'évolution de la courbe de fluorescence *in vivo* (figure 6) est globalement similaire à la courbe de chlorophylle a (figure 5), mais on ne peut pas déterminer de coefficient de proportionnalité entre les deux paramètres et surtout, le pic de fluorescence apparait un jour après le pic de chlorophylle. Dans ce cas, la mesure de la fluorescence *in vivo* ne peut donc pas servir à la gestion de la culture. Des difficultés de fonctionnement du fluorimètre utilisé pour les mesures de fluorescence *in vivo* pourraient expliquer ce "décalage" entre les deux variables qui habituellement sont bien corrélées (HUSSENOT & al., 1992).

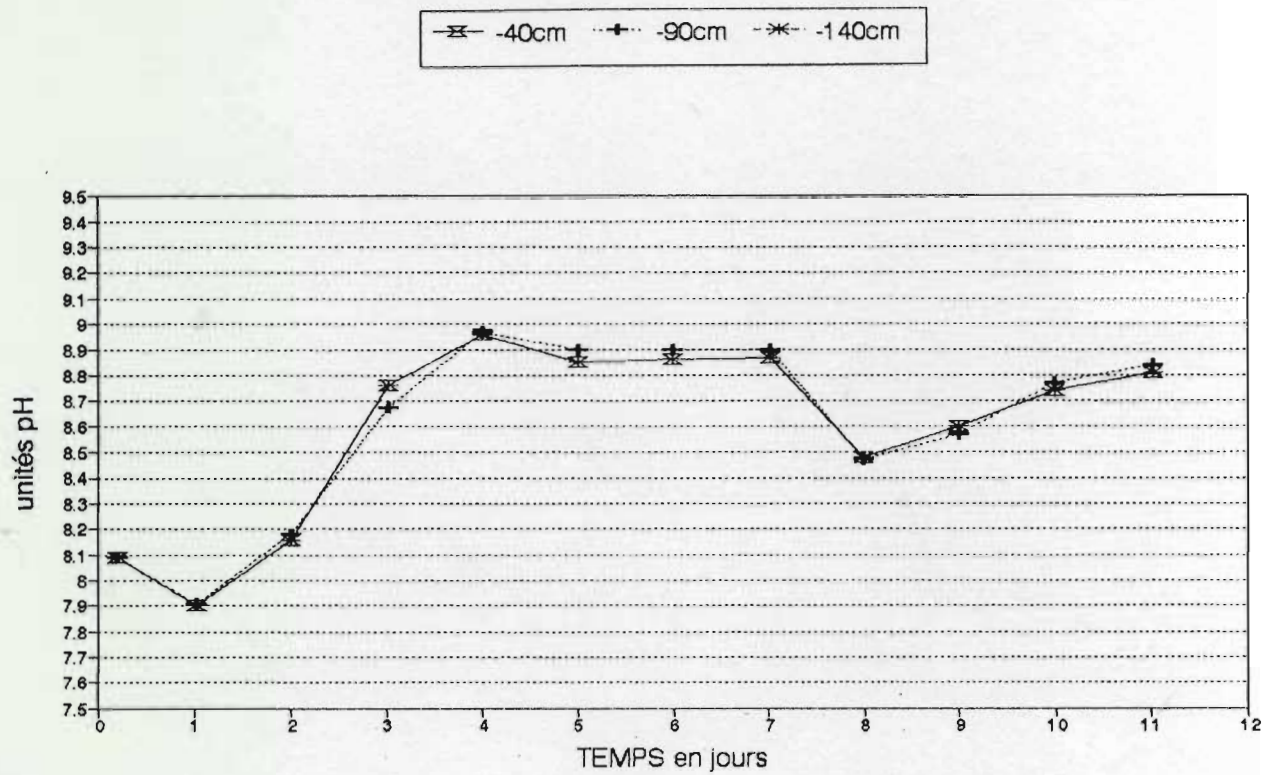


Figure 7: évolution du pH de l'eau mesuré entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau.

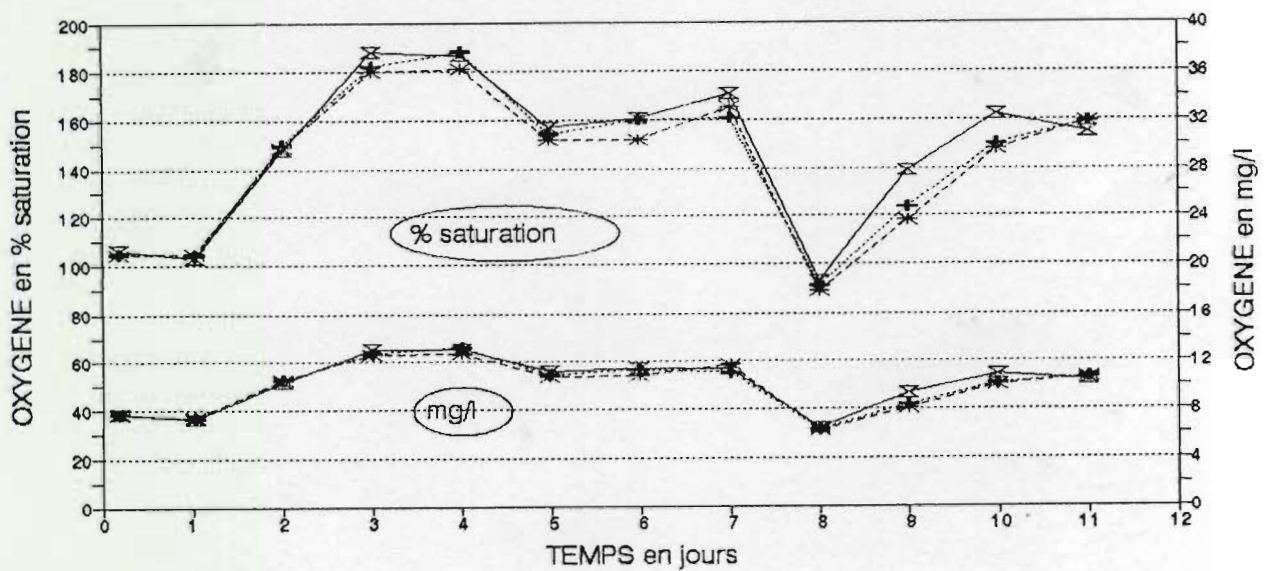


Figure 8: évolution de la concentration en oxygène dissous dans l'eau mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau.

La même difficulté d'utilisation pratique se présente pour la mesure du pH de l'eau (figure 7) dont l'augmentation du fait de l'accroissement de l'activité photosynthétique se poursuit jusqu'à J4. Mais par la suite, la phase de dégénérescence de la population de *Skeletonema costatum* est marquée par une stabilisation du pH à sa valeur maximale.

Pendant la phase initiale de production de *S. costatum*, les mesures d'oxygène dissous et de transparence de l'eau suivent bien l'évolution de la biomasse chlorophyllienne. L'oxygène dissous augmente (figure 8) et la transparence de l'eau diminue (figure 2) très fortement jusqu'à J3, puis on observe un plateau à J3-J4 et l'inversion de la tendance à J5. Les deux paramètres oxygène dissous et transparence ont donc été de bons descripteurs de l'évolution de la culture de *S. costatum* jusqu'à J5. Dès que le bloom s'écroule, l'accumulation de matière organique en suspension, le développement important de l'activité bactérienne et d'une production secondaire ont sans doute une trop grande influence sur les paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau pour que ceux-ci puissent servir à déterminer la dynamique de la culture.

En conclusion, il nous semble intéressant d'évaluer le développement du bloom par les mesures d'oxygène dissous et de transparence de l'eau, mais lorsque l'on observe le point de rupture de la culture, il est alors trop tard pour tenter d'inverser le processus de dégénérescence.

3.4-EVOLUTION DES NUTRIMENTS

Répartition spatiale des nutriments

L'examen de la répartition spatiale des nutriments à J0+3h (figure 1) montre une certaine hétérogénéité puisque l'on observe des valeurs plus faibles à mi-longueur du bassin (à -40 et -90 cm). Il semble donc que du fait de la méthode de remplissage et de fertilisation, une partie des granulés jetés sédimente avant d'être dissoute et que la morphologie du bassin et l'action du vent font que la diffusion des nutriments n'est pas similaire à tous les points du bassin. Il apparaît par contre que les valeurs mesurées à l'échelle peuvent être considérées comme homogènes, mais qu'elles surestiment sans doute la moyenne du bassin, tout du moins pour ce qui est du ou des premiers jours, le temps que les engrais soient totalement dissous. Nous remarquons cette même homogénéité des valeurs les jours suivant, à quelques exceptions près (figures 9 à 14) et globalement nous n'observons donc pas de stratification verticale des nutriments.

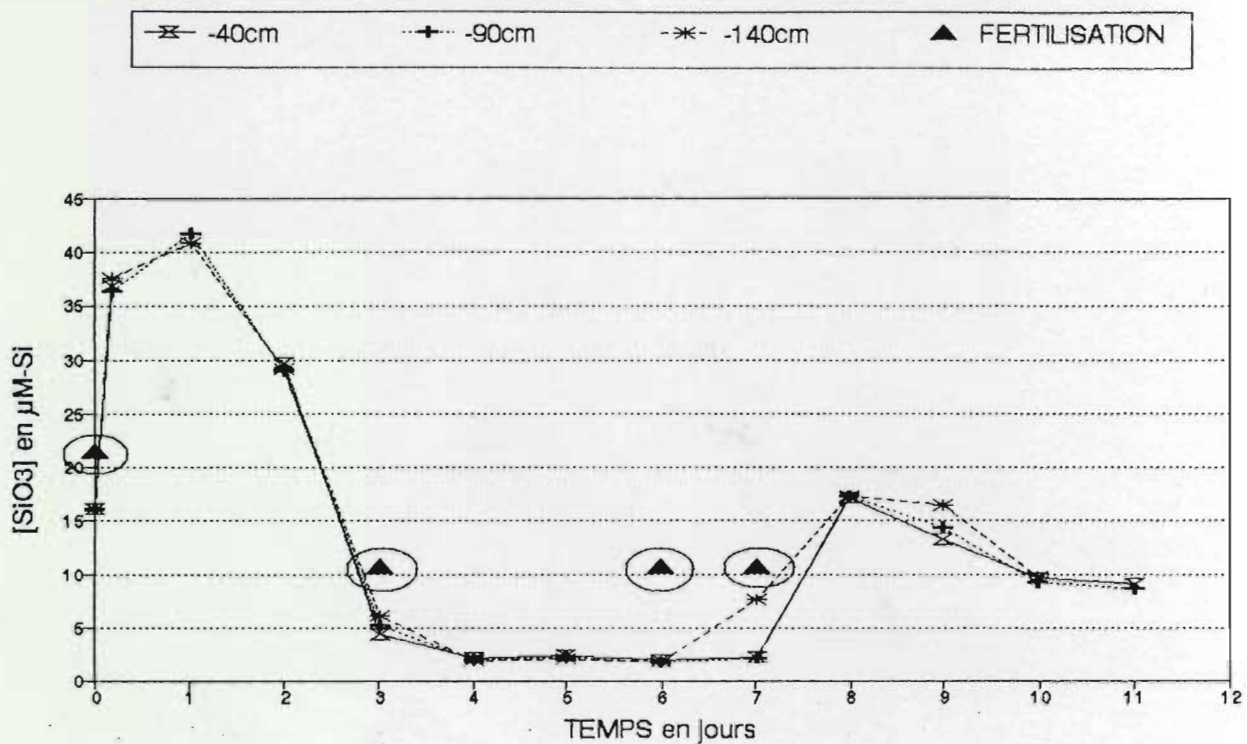


Figure 9: évolution de la concentration en silicates dissous dans l'eau (exprimée en $\mu moles/l$ de silice) mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau. On a également indiqué les apports théoriques par les engrais (toujours réalisés après les mesures du jour).

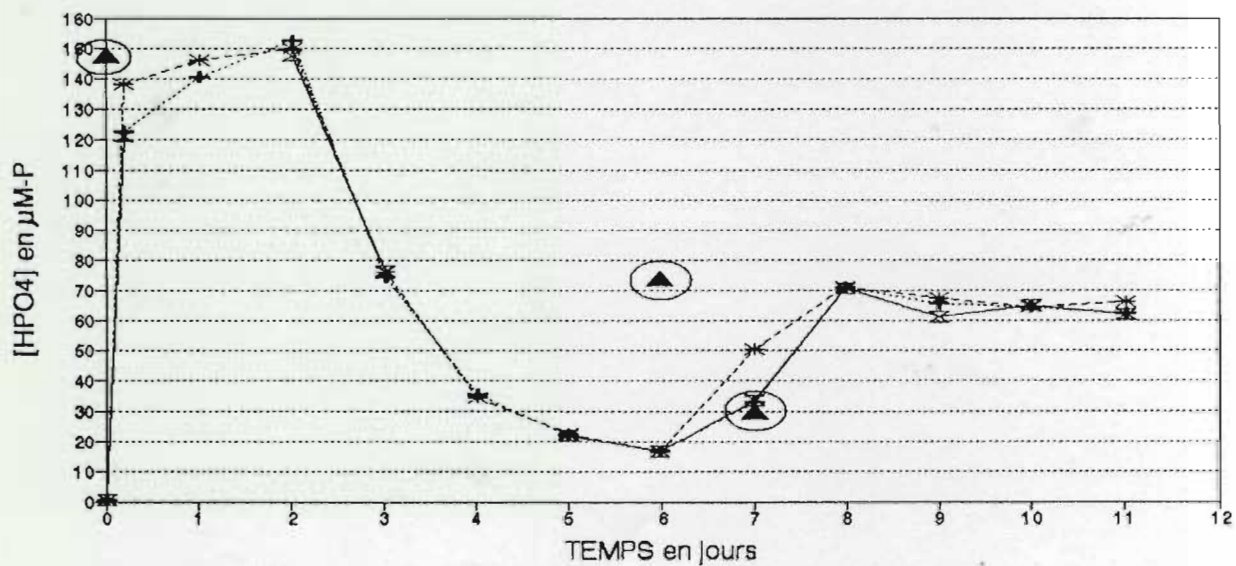


Figure 10: évolution de la concentration en phosphates dissous dans l'eau (exprimée en $\mu moles/l$ de phosphore) mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau. On a également indiqué les apports théoriques par les engrais (toujours réalisés après les mesures du jour).

Dissolution des engrais

Le taux de dissolution des engrais est très bon puisque nous retrouvons en solution dans l'eau à J0+3h 97,2% de la silice, 85,8% du phosphore, 91,2% de l'azote ammoniacal et 84,5% de l'azote nitrique ajoutés. La dissolution progressive des nutriments est observable pendant 24h (Si) à 48h (HPO_4 et NO_3). Le phénomène est en partie masqué par la consommation des sels nutritifs par les algues, notamment dans le cas du NH_4 . Le fait que nous observions un taux de dissolution de la silice et des phosphates qui dépasse 100% (figures 9 et 10) montre qu'une erreur dans notre calcul provient soit d'une mauvaise estimation du volume du bassin (bien qu'un métrage ait été refait pour corriger les données du plan de chantier), soit d'une teneur en silice et en phosphore des engrais ajoutés supérieure à ce que déclare le fabricant, ce qui a déjà été observé pour l'azote avec un autre engrais agricole (LEGRAND et al., 1990, non publié). Il est également possible que se pose un problème permanent de mauvaise répartition horizontale des nutriments du fait de la concentration de la biomasse phytoplanctonique dans une zone particulière du bassin sous l'effet du vent.

Consommation des nutriments

Nous observons que NH_4 est consommé dès J0 (figure 11) et qu'il disparaît plus rapidement que NO_3 , dont la consommation ne paraît débuter qu'entre J2 et J3 (figure 12). Nous remarquons que la chute du bloom à J4 coïncide avec un épuisement total en NH_4 et quasi total en Si. Le déficit en silice indique que l'apport initial a été trop faible proportionnellement aux autres sels nutritifs. Un apport de métasilicate à J3 n'empêche pas la concentration de Si de chuter à un niveau critique dès J4 (figure 9). Tous les nutriments sont d'ailleurs épuisés entre J4 et J6. Les nouveaux apports d'engrais à J6 et J7 semblent relancer un développement phytoplanctonique à partir de J8 avec toutefois une disparition assez lente des nutriments. L'augmentation des concentrations en urée et en nitrites à partir de J6 (figures 13 et 14), synonyme d'une intensification des processus d'excrétion, de dégradation et de reminéralisation de matières organiques, témoigne du développement important d'une activité hétérotrophe.

Il nous est difficile de calculer la quantité réelle de nutriments consommée puisque la dissolution des engrais se poursuit pendant plusieurs jours alors que leur assimilation par le phytoplancton a déjà débutée. De plus, les renouvellements d'eau effectués à partir de J2 induisent un risque d'erreur sur le calcul de la part respective de la dilution et de la consommation dans la baisse de concentration en nutriments. Il est néanmoins possible de faire une estimation des quantités de nutriments consommés entre J0 et J3 dans la phase de croissance exponentielle de la culture. Le calcul a été réalisé en tenant compte de la dilution par le renouvellement de 42 % du volume d'eau à J2 et en négligeant les apports de sels nutritifs par l'eau neuve (sauf bien sûr pour la silice supposée présente à hauteur de 16 μM , comme à J0). On

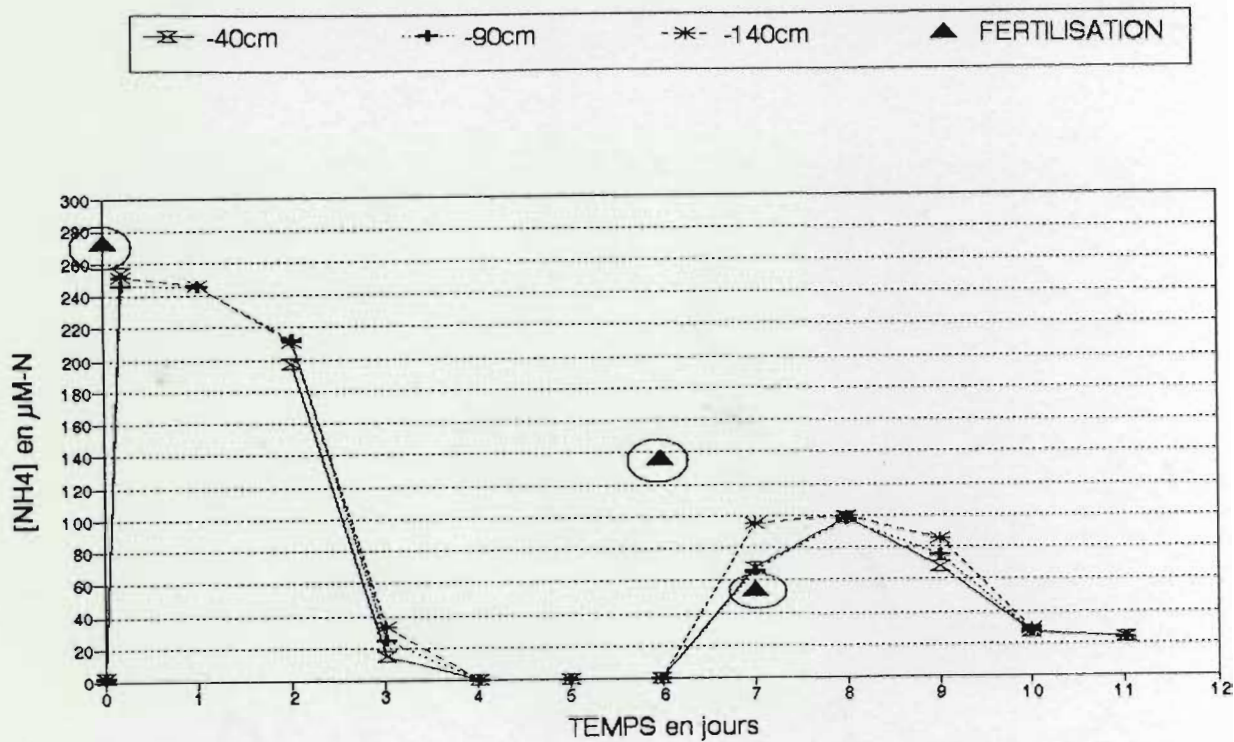


Figure 11: évolution de la concentration en ion ammoniacal dissous dans l'eau (exprimée en $\mu\text{moles/l}$ d'azote) mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau. On a également indiqué les apports théoriques par les engrais (toujours réalisés après les mesures du jour).

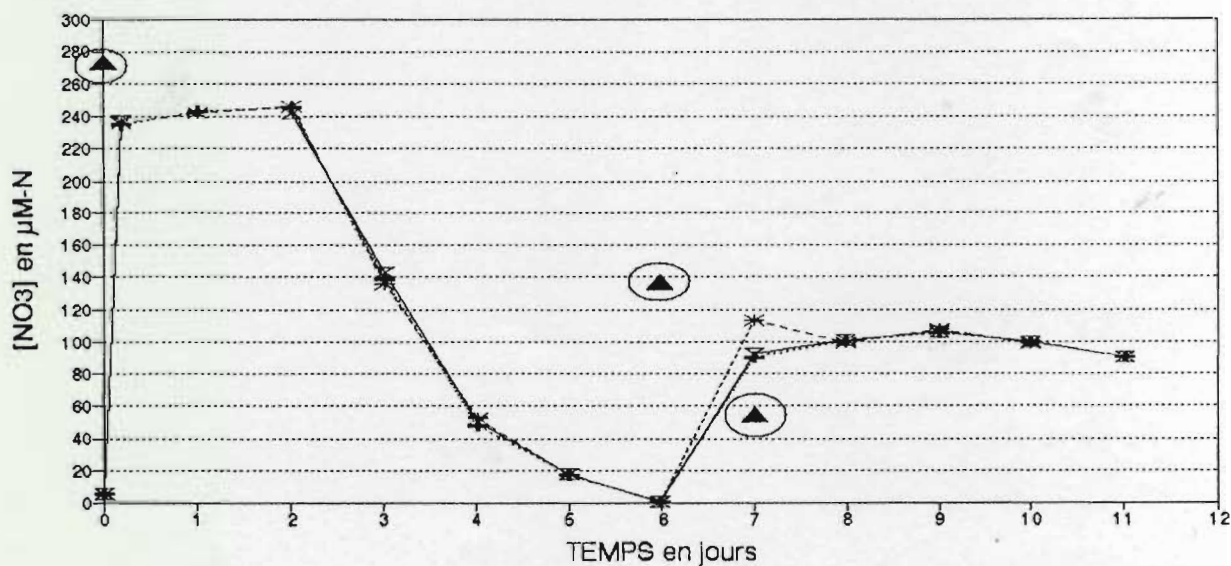


Figure 12: évolution de la concentration en nitrates dissous dans l'eau (exprimée en $\mu\text{moles/l}$ d'azote) mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau. On a également indiqué les apports théoriques par les engrais (toujours ajoutés après les mesures du jour).

calcule alors que pour une augmentation de biomasse de 213,8 $\mu\text{g/l}$ de chlorophylle a, il est consommé 0,96 μmole de N, 0,06 μmole de P et 0,14 μmole de Si par μg de chlorophylle a produit. Le rapport de consommation des nutriments N/Si/P est donc d'environ 16/2,4/1. Il est bien entendu que, compte tenu des approximations et des sources d'erreur exposées plus haut, notre calcul n'a qu'une valeur d'indication. Par ailleurs, le rapport de consommation N/Si de 6,7 obtenu ici n'exprime probablement pas le besoin réel de *S. costatum* en silice, dont on a pu observer le déficit dans le milieu de culture. Cette question des besoins en nutriments fera l'objet d'une analyse détaillée dans le chapitre suivant.

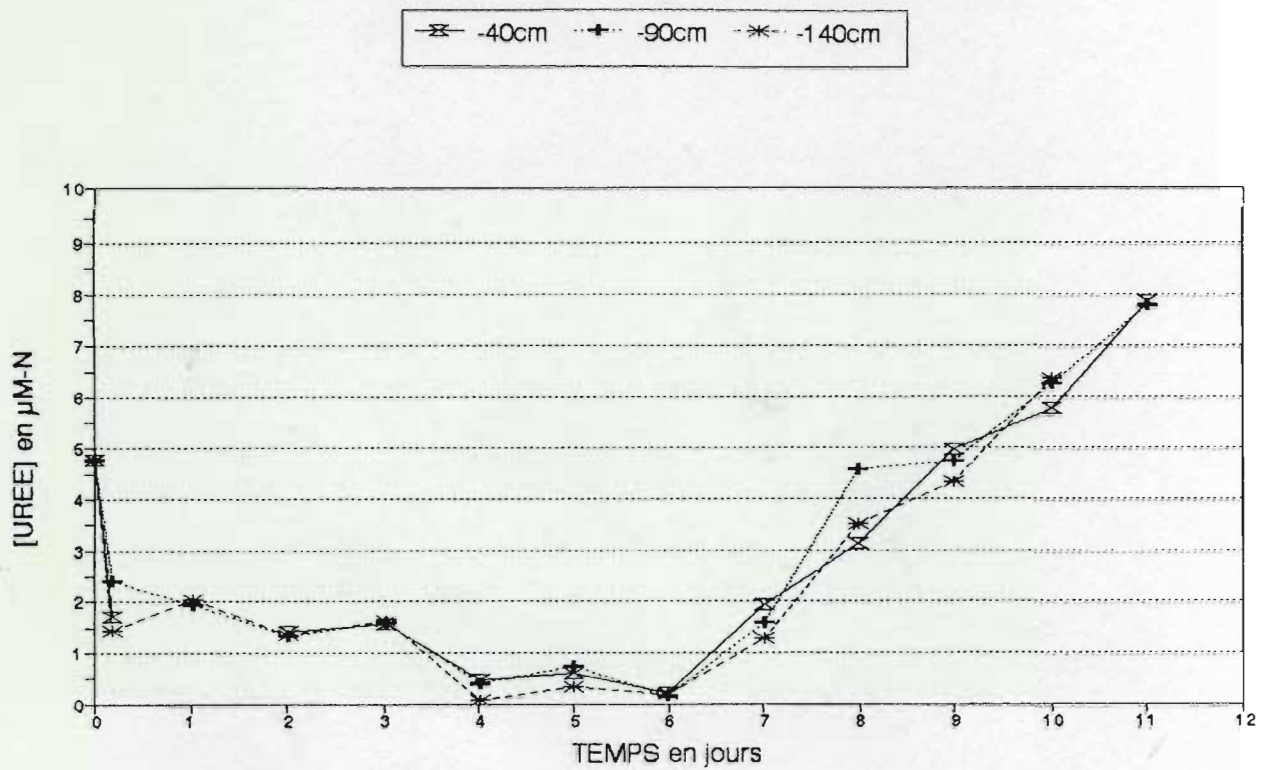


Figure 13: évolution de la concentration en urée dissoute dans l'eau (exprimée en $\mu\text{moles/l}$ d'azote) mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau.

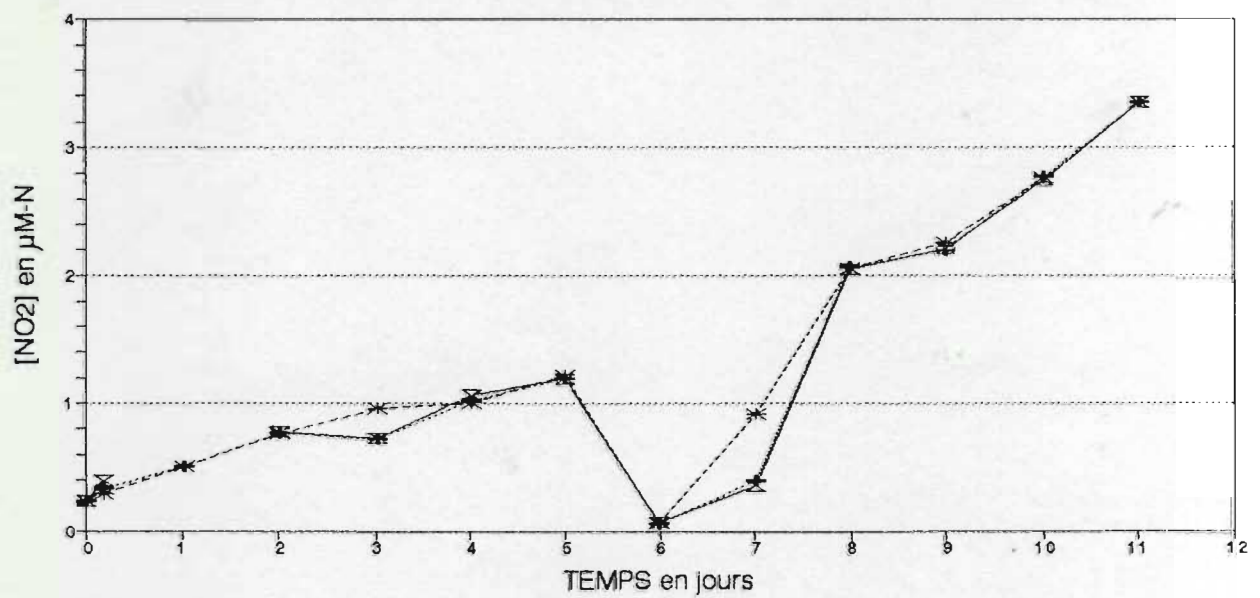


Figure 14: évolution de la concentration en nitrites dissous dans l'eau (exprimée en $\mu\text{moles/l}$ d'azote) mesurée entre 11h et 12h à trois niveaux de la colonne d'eau.

4-DISCUSSION

Un élément important est la très faible variabilité des mesures selon le niveau dans la colonne d'eau. Il n'apparaît pas de stratification de la biomasse phytoplanctonique (à l'exception toutefois du jour J4; cf figures 5 et 6) comme cela a pu être observé en marais dans des bassins de plus faible profondeur (LEGRAND et al., 1991; GAUTIER et al., 1993). Il semble donc que la prise au vent de ce type de bassin surélevé dont la morphologie interne paraît favoriser les mouvements de "convection", entraîne un brassage de la colonne d'eau et empêche l'établissement d'une zone préférentielle de production. Cette donnée demanderait bien sûr à être vérifiée par des mesures de production primaire et de potentiel photosynthétique à différentes profondeurs. Cela dit, ce brassage naturel apparent de la colonne d'eau nous semble important dans l'optique de l'optimisation de la culture. En effet, DE PAUW & DE LEENHEER (1980) ont établi que d'une manière générale une profondeur de bassin de 1 à 2 m permet une plus grande stabilité du milieu, mais que par voie de conséquence la production est plus limitée qu'en bassins de faible profondeur (problème de stratification de la production par limitation de la lumière en profondeur). L'amélioration du rendement demanderait alors théoriquement un brassage de l'eau qui empêche toute photoadaptation des algues du fond à de basses intensités lumineuses et donc permet une augmentation de la productivité globale du bassin (RICHMOND, 1986). L'aération présente en outre l'avantage de stabiliser la concentration d'oxygène dissous dans l'eau évitant de fortes sursaturations qui ont en général pour effet de diminuer l'activité photosynthétique des microalgues (RICHMOND, 1986). On peut également supposer que l'aération permet d'éviter d'atteindre des valeurs de pH trop élevées qui peuvent inhiber la croissance des microalgues, phénomène aux effets variables selon l'optimum de croissance de l'espèce considérée (GOLDMAN et al., 1982; RICHMOND, 1986). Malgré ces considérations théoriques, DE PAUW (1981) indique que *S. costatum* se caractérise par un taux de division plus faible en eaux brassées qu'en milieu naturel, que cette algue n'apparaît pas favorisée par des apports de CO₂ et que sa croissance est encore bonne à pH 9. Par ailleurs, GAUTIER et al. (1993) ont montré en marais que si l'aération stabilise le taux d'oxygène dissous et prévient la baisse du potentiel photosynthétique des algues du fond du bassin, cela n'augmente pas la productivité globale du bassin. Par déduction, il apparaît que le système étudié serait le meilleur compromis possible puisqu'il permet de cultiver *S. costatum* dans des conditions plus favorables qu'un bassin aéré, et que sa profondeur permet une bonne stabilité du milieu tout en évitant une stratification verticale de la production qui induirait une perte de rendement dans un bassin traditionnel. Néanmoins, n'ayant travaillé qu'en une station fixe, il persiste quand même une incertitude quant à l'homogénéité spatiale à l'échelle du bassin entier des paramètres physico-chimiques et biologiques de l'eau liés à la production phytoplanctonique. Ceci est important car comme l'indiquent DE PAUW et al. (1983), l'hétérogénéité spatiale des nutriments peut être à l'origine d'un phénomène de succession d'espèces.

Un autre résultat intéressant d'un point de vue appliqué est la très bonne dissolution de tous les engrais comparée aux expériences du CREMA en laboratoire et en marais (LEGRAND et al., 1991; HUSSENOT et al., 1992) qui ont mis en évidence pour la silice un taux de dissolution de 80% au maximum, avec qui plus est une prédilution en eau douce du gel commercial employé. Un résultat similaire (60 à 80% de dissolution pour un épandage direct dans une eau de mer agitée par un léger bullage) a été obtenu en laboratoire avec le métasilicate de sodium solide utilisé pour la présente étude (GAUTIER, communication personnelle). Nous sommes donc amenés à penser que le jet des engrais dans le bouillonnement de l'eau de remplissage du bassin permet leur bonne dissolution, aidé en cela par les mouvements permanents de l'eau sous l'effet du vent, ainsi que par le caractère inerte du fond du bassin qui ne "piège" pas certains sels comme c'est le cas du sédiment des marais (HUSSENOT et al., 1992).

Nous observons que la production de *S. costatum* est importante et très rapide, mais aussi que l'écroulement du bloom survient soudainement. Ce résultat confirme la difficulté bien connue de cultiver *S. costatum* qui se caractérise par un taux de croissance très rapide, mais qui tend à dégénérer dès que la phase stationnaire est atteinte (BONIN et al., 1986).

Dans notre cas, deux options culturales sont possibles pour éviter la rupture de la production :

- une première possibilité consiste à admettre l'écroulement du bloom au bout de quelques jours et de pratiquer une culture séquentielle dont l'objectif serait de produire la plus forte biomasse possible avant de renouveler le volume total du bassin tous les 3 à 4 jours; cette technique impose donc de gérer plusieurs bassins en synchronisation.

- une seconde solution correspond aux objectifs fixés par les acteurs de la recherche initiée car elle permet l'optimisation d'un outil de production dans une optique d'aquaculture commerciale. Il s'agit de la culture semi-continue qui nécessite de réussir à maintenir la population de *S. costatum* en phase de croissance exponentielle. Il suffit pour cela, dans la mesure du possible et c'est bien là tout le problème, d'entretenir les conditions permettant le meilleur taux de croissance. Ces conditions sont relativement bien connues pour *S. costatum* et nous allons donc comparer nos résultats aux références bibliographiques pour tenter d'en déduire les paramètres d'une meilleure pratique culturale.

Selon O'MAHONY (1982) et DE PAUW et al. (1983), les facteurs essentiels qui contrôlent la composition d'un peuplement dans le cadre de l'induction d'un bloom de phytoplancton naturel sont la disponibilité en nutriments, la température et le taux de renouvellement, les deux derniers paramètres étant étroitement liés. Notre cas est un peu particulier puisque l'on place *S. costatum* en situation de dominance dans un milieu qui reste néanmoins naturel, donc comprenant de nombreuses espèces. Le but de notre intervention est donc de maintenir des conditions favorables pour *S. costatum*, l'espèce que l'on souhaite produire.

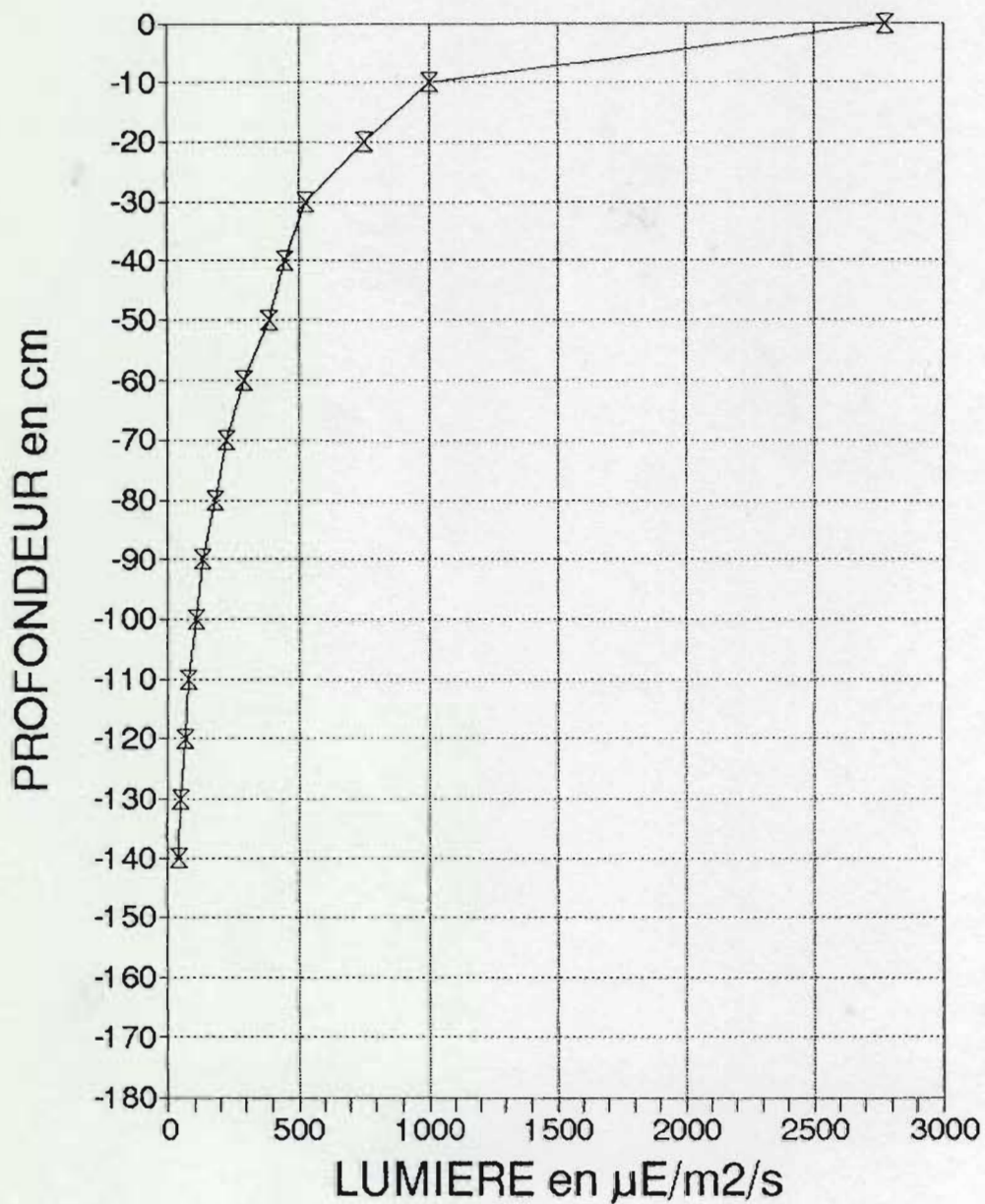


Figure 15: profil de la quantité de lumière (exprimée en $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) reçue par la colonne d'eau à J4 à 13h TU (la mesure de surface a été effectuée dans l'air). Ce jour a été caractérisé par une insolation très importante de 12h42 (source Météo-France). La turbidité de l'eau était alors maximale avec un Secchi de 70cm, du fait de la concentration de phytoplancton.

Nous allons donc passer en revue tous les facteurs qui peuvent conditionner le développement de la diatomée, en commençant par ceux qui nous apparaissent *a priori* secondaires, pour tenter d'expliquer la chute du bloom observée.

La salinité ne pose généralement pas de problème dans nos régions puisque *Skeletonema costatum* est une espèce très euryhaline (elle croit aussi bien à 10 g/kg qu'à 40 g/kg) et dont l'adaptation à des variations importantes est rapide (RIVA & LELONG, 1981; RAVAIL & ROBERT, 1985; BONIN et al., 1986). Dans notre cas, l'augmentation de salinité de 1,2 g/kg en 11 jours ne peut pas avoir eu de conséquences négatives sur l'évolution de la culture.

Au plus fort du bloom, avec une transparence au disque de Secchi de 70 cm, la quantité de lumière disponible à -90 cm, environ 130 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ (figure 15), correspond à la valeur optimale pour *S. costatum* qui croit très bien avec peu de lumière (BONIN et al., 1986). Même si le profil a été réalisé un jour de très beau temps et à mi-journée, on peut raisonnablement déduire des données météorologiques et des mesures quotidiennes au disque de Secchi que la lumière disponible a toujours été suffisante pour ne pas être mise en cause dans le processus de dégénérescence de la culture.

Du fait du développement de l'activité photosynthétique, le pH atteint presque 9 à J4. Or on sait que d'une manière générale, l'augmentation du pH ralentit la croissance des microalgues en inhibant la prise d'azote sous la forme de nitrates (GOLDMAN et al., 1982; THORESEN et al., 1984). THORESEN et al. (1984) ont montré que l'absorption de NO_3 par *S. costatum* est fortement inhibée à pH 9 et même stoppée à pH 9,5-9,6. Or, dès J3 la quantité de NH_4 apparaît insuffisante pour supporter le développement de *S. costatum* qui constitue alors une biomasse importante (190 $\mu\text{g}/\text{l}$ de chl.a, soit environ 500.000 cellules/ml). A ce moment là, les nitrates constituent le seule source importante d'azote. On remarque que l'absorption massive de nitrates correspond exactement au moment où le pH atteint presque 9. Cette observation permet donc de supposer que le pH élevé a pu limiter la disponibilité de l'azote et donc accélérer l'écroulement du bloom de *S. costatum*. Malgré tout, il nous faut relativiser l'importance du problème que pose un pH élevé car DE PAUW (1981) indique que *S. costatum* peut avoir une bonne croissance à un pH supérieur à 9.

Un phénomène intéressant à détailler est la préférence de *S. costatum* pour NH_4 comme source d'azote pendant les 3 premiers jours de la culture. En effet, si l'on a déjà observé une bonne croissance de *S. costatum* par assimilation de nitrates, ou même d'azote organique (BONIN et al., 1986; ROBERT et al., 1982a; ROBERT et al., 1986; MAESTRINI et al., 1986), on sait aussi que cette diatomée se cultive plutôt mieux en présence d'une forte concentration en NH_4 (BONIN et al., 1986). Dans ce cas, l'assimilation de NH_4 est immédiate et rapide, alors que celle de NO_3 ne débute qu'à une vitesse ralentie seulement quand la concentration en NH_4 tombe en

dessous d'un seuil que MAESTRINI et al. (1986) et MAESTRINI & ROBERT (1987) estiment à environ 30 μM . Les interactions entre NO_3 et NH_4 dépendent des espèces, du temps et du préconditionnement des algues (DORTSCH & CONWAY, 1984). Il est établi que *Skeletonema costatum* préfère NH_4 à NO_3 (DORTSCH & CONWAY, 1984; BONIN et al., 1986), ce que montre également notre étude. En effet, l'assimilation de NO_3 débute apparemment entre J2 et J3 alors que la concentration en NH_4 est tombée à une valeur que l'on situe entre 30 et 200 μM (figures 11 et 12). Ce phénomène s'explique par le fait que NH_4 diffuse rapidement à travers la membrane cellulaire des algues, alors que NO_3 est transporté activement et entre en compétition avec NH_4 pour l'accès aux sites transporteurs (COLLOS, 1987).

La conclusion immédiate de ce qui précède est qu'il nous semble important d'ajouter de l'azote ammoniacal au minimum tous les 2 jours de façon à éviter un stress dû à la disparition de NH_4 . Dans le cas de l'utilisation de l'ammonitrate, cela implique que les nitrates ne seraient plus consommés, donc inutiles voire nuisibles, car ils pourraient alors profiter à des macrophytes. Il nous apparaît donc nécessaire de choisir une seule source d'azote pour éviter une pollution des bassins d'élevage de mollusques.

Tout semble donc indiquer qu'il est préférable d'apporter de l'azote ammoniacal plutôt que des nitrates. Malgré cela, nous devons tenir compte du préconditionnement des algues produites pour analyser nos observations. En effet, DEMANCHE et al. (1979), DORTSCH & CONWAY (1984) et DORTSCH et al. (1984) ont montré qu'en fait il n'y a pas de latence de la prise de NO_3 par des algues maintenues préalablement dans des conditions de déficit en azote. Ces auteurs observent la constitution rapide d'un pool interne de NO_3 qui n'est assimilé que quand NH_4 a disparu. En fait, NH_4 inhibe la prise de NO_3 par les algues, mais pas la capacité de celles-ci à assimiler les nitrates. C'est pourquoi ROBERT et al. (1986) observent qu'en l'absence de NH_4 , l'introduction de NO_3 favorise tout aussi bien le développement des diatomées, ce qui n'est, par contre, pas le cas de l'urée qui favorise les flagellés. Il semble donc possible d'obtenir un résultat de production équivalent avec NH_4 ou NO_3 comme source d'azote, ce qu'ont d'ailleurs démontré ANTIA et al. (1975) avec d'autres espèces de diatomées. Les nitrates présentent l'avantage de ne pas être toxiques pour les organismes, au contraire de l'ammoniaque (NH_3), dont la concentration est multipliée par 10 à 25 $^\circ\text{C}$ et 35 g/kg, quand le pH, qui détermine l'équilibre entre la forme ionisée (NH_4^+) et la forme non ionisée toxique (NH_3) de l'azote ammoniacal, augmente de 8 à 9,2. Des valeurs élevées de pH (jusqu'à 9,5) étant systématiquement atteintes en conditions naturelles, le risque de pollution des élevages de mollusques justifie à nos yeux notre préférence pour l'emploi des nitrates.

S. costatum est également favorisée par de fortes concentrations en phosphore, car une croissance rapide en nécessite de grandes quantités (ROBERT et al., 1982b). Nous constatons

5-CONCLUSION GENERALE

Nous avons montré l'efficacité de la méthode de fertilisation telle qu'elle est pratiquée, ainsi que l'intérêt du bassin tel qu'il a été conçu. Ces deux facteurs semblent être l'explication de la bonne dissolution des engrais apportés, ainsi que de l'homogénéité verticale de tous les paramètres physico-chimiques et biologiques de l'eau mesurés. Ces conclusions restent à confirmer par une étude plus précise et plus complète de la production phytoplanctonique. Malgré tout, il nous apparaît que l'outil de production étudié est d'une gestion beaucoup plus aisée que les bassins en terre. De ce fait, le système étudié peut être conseillé aux producteurs décidés à pratiquer dès maintenant ce type de culture massive de phytoplancton et qui sont en mesure de rentabiliser leur investissement (éclosoirs-prégrossisseurs essentiellement). Cela dit, il nous semble possible d'optimiser le rendement de l'outil de production en tirant profit des enseignements apportés par notre étude.

En premier lieu, il n'apparaît pas possible de gérer une culture semi-continue par de simples appréciations visuelles de l'état de la culture. Les mesures de Secchi, d'oxygène dissous ou de fluorescence *in vivo* permettent de suivre l'évolution du bloom mais ne laissent pas le délai nécessaire au technicien pour réagir à une dégénérescence de la culture par des renouvellements d'eau et des apports d'engrais. Il nous semble donc impératif d'établir des "standards" qu'en théorie il suffirait de suivre "aveuglément" connaissant le paramètre dont tous les autres dépendent: la température.

Les données bibliographiques sont suffisamment nombreuses pour définir les conditions favorables à la croissance de *S. costatum*, donc permettant de la maintenir en phase de croissance exponentielle, objectif à atteindre pour optimiser le rendement de notre outil de production. Il reste à valider et à adapter ces données à notre contexte.

Nous proposons de continuer à utiliser des engrais agricoles solides qui sont à la fois pratiques et efficaces: métasilicate de sodium, triple super-phosphate et un engrais à base de nitrates qui reste à choisir (le nitrate de chaux, engrais agricole courant, paraît le plus avantageux sur les plans financier et technique). Le principe des apports de nutriments serait de maintenir un excès de silice et de phosphore d'environ 20 $\mu\text{moles/l}$ et de limiter la biomasse maximale par l'azote. Un apport quotidien de 100 μM de N, 50 μM de Si et de 10 μM de P (dose permettant de produire environ 400.000 cellules par ml, à moduler en fonction du taux de croissance, donc de la température) nous semble un bon compromis entre rendement et contrôle du bloom. Dans cette hypothèse, il nous reste à définir avec précision les taux de renouvellement et les doses d'engrais à adopter en fonction de la température pour permettre de maintenir la culture pendant plusieurs semaines. C'est là notre objectif pour les prochaines expériences à mener dès 1993 au CREMA-L'Houmeau.

6-REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANTIA N.J., BERLAND B.R., BONIN D.J. & MAESTRINI S.Y., 1975. Comparative evaluation of certain organic and inorganic sources of nitrogen for phototrophic growth of marine microalgae. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, **55** : 519-539.

BAUD J.-P. & BACHER C., 1990. Use of saline ground water for intensive rearing of *Ruditapes philippinarum* juveniles in a nursery system. *Aquaculture*, **88** : 157-178.

BONIN D.J., DROOP M.R., MAESTRINI S.Y. & BONIN M.C., 1986. Physiological features of six micro-algae to be used as indicators of seawater quality. *Cryptogamie, algologie*, **7** (1) : 23-83.

COLLOS Y., 1987. Un modèle simple d'interactions entre nitrate et ammonium lors de leur prise par les algues unicellulaires. *Oceanis*, **13** (4-5) : 505-513.

DEMANCHE J.M., CURL H.C., LUNDY D.W. & DONAGHAY P.L., 1979. The rapid response of the marine diatom *Skeletonema costatum* to changes in external and internal nutrient concentration. *Mar. Biol.*, **53** : 323-333.

DE PAUW N., 1981. Use and production of microalgae as food for nursery bivalves. pp 35-69. In CLAUS C., DE PAUW N. & JAPERS E., Nursery culturing of bivalve molluscs, E.M.S. special publication n°7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium.

DE PAUW N. & DE LEENHEER L., 1980. Outdoor mass production of marine microalgae for nursery culturing of bivalve molluscs. III International Conference on Production and Use of Microalgae, Trujillo, Peru, october 1980. 9pp.

DE PAUW N., VERBOVEN J. & CLAUS C., 1983. Large-scale microalgae production for nursery rearing of marine bivalves. *Aquacul. Eng.*, **2** : 27-47.

DORTCH Q. & CONWAY H.L., 1984. Interactions between nitrate and ammonium uptake: variation with growth rate, nitrogen source and species. *Mar. Biol.*, **79** : 151-164.

DORTCH Q., CLAYTON J.R., THORESEN S.S. & AHMED S.I., 1984. Species differences in accumulation of nitrogen pools in phytoplankton. *Mar. Biol.*, **81** : 237-250.

EGGE J.K. & AKSNES D.L., 1992. Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **83** : 281-289.

FLASSCH J.-P., 1978. Production d'algues unicellulaires à des fins d'aquaculture. *Oceanis*, **4** (1) : 1-11.

GAUTIER D., BLANCHARD G., HUSSENOT J., RINCE Y., BERTRAND F., JOASSARD L. & MORNET F., 1993. Mass production of natural phytoplankton in nutrient enriched ponds: effect of mixing by aeration. Poster accepté pour "World Aquaculture '93", Torremolinos, mai 93.

GOLDMAN J.C., AZOV Y., RILEY C.B. & DENNETT M.R., 1982. The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. Biomass regulation. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **57** : 1-13.

GOLDMAN J.C., RILEY C.B. & DENNETT M.R., 1982. The effect of pH in intensive microalgal cultures. II. Species competition. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **57** : 15-24.

GONZALEZ-RODRIGUEZ E. & MAESTRINI S.Y., 1984. Nutrient enrichment of Cabo Frio (Brasil) sea water for phytoplankton mass production. *Hydrobiologia*, **111** : 49-56.

GUERIN-ANCEY O., MAESTRINI S.Y. & BEKER L., 1979. Utilisation d'engrais agricoles comme source de nutrilités pour la culture massive de quelques algues marines. Colloque ECOTRON, Brest 1978. Actes Colloq. CNEXO n°7: 285-304.

HARRISON P.J., CONWAY H.L., HOLMES R.W. & DAVIS C.O., 1977. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. III. Cellular chemical composition and morphology of *Chaetoceros debilis*, *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira gravida*. *Mar. Biol.*, **43** : 19-31.

HARRISON P.J., TURPIN D.H., BIENFANG P.K. & DAVIS C.O., 1986. Sinking as a factor affecting phytoplankton species succession: the use of selective semi-continuous cultures. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **99** : 19-30.

HUSSENOT J., CASTEL J., FARDEAU J.C., FEUILLET-GIRARD M., GAUTIER D., GOULEAU D., LEGRAND C., MARTIN J.L., PIRASTRU L., RAVAIL B., RINCE Y. et SAUTOUR B., 1992. Stimulation de la productivité naturelle par enrichissements minéraux et organiques: étude en mésocosmes naturels. Rapports internes DRV-IFREMER, n° 92.15-RA/CREMA-L'Houmeau. 97 pp.

LEGRAND C., HUSSENOT J., RINCE Y., JOASSARD L., MORNET F. & PIRASTRU L., 1991. Mass production of microalgae in salt pond (L'Houmeau-France) with farm fertilizer (diammonium phosphate) in addition with silicon. EAS Special Publication n°14: 187-188.

MAESTRINI S.Y. & GONZALEZ-RODRIGUEZ E., 1983. Relative yields of marine algae grown in heavily nutrient-enriched seawater. *La mer*, **21** : 145-150.

MAESTRINI S.Y., ROBERT J.M., LEFTLEY J.W. & COLLOS Y., 1986. Ammonium thresholds for simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **102** : 75-98.

MAESTRINI S.Y. & ROBERT J.M., 1987. La production micro-algale des claires à huîtres: particularités nutritionnelles: importance de l'azote organique dissous. 2^e coll. franco-soviétique, IFREMER Act. Coll. n°5: 185-214.

O'MAHONY K.W., 1982. Species composition in outdoor microalgal cultures. M.Sc. thesis, University College Galway, 78 pp.

RAVAIL B. & ROBERT J.M., 1985. Influence de la salinité sur la multiplication du *Skeletonema costatum* dans les eaux estuariennes de la Loire. *Cryptogamie, algologie*, **VI**(1) : 51-60.

RICHMOND A., 1986. Handbook of microalgal mass culture. CRC Press, Boca Raton, Florida. 528 pp.

RIVA A. & LELONG P., 1981. Growth of juvenile bivalve molluscs associated with continuous cultures of natural marine phytoplankton. pp 253-268. In CLAUS C., DE PAUW N. & JAPERS E., Nursery culturing of bivalve molluscs, E.M.S. special publication n°7, European Mariculture Society, Bredene, Belgium.

ROBERT J.M., MAESTRINI S.Y., HERAL M. & ZANETTE Y., 1982a. Production des microalgues des claires ostréicoles en relation avec l'azote organique dissous excrété par les huîtres. *Oceanol. Acta*, n° SP : 389-395.

ROBERT J.M., MAESTRINI S.Y., HERAL M., RINCE Y., DRENO J.P. & BEKER L., 1982b. Enrichissement expérimental d'eaux printanières de claires à huîtres en baie de Bourgneuf (Vendée, France): augmentation de la biomasse et utilisation des éléments nutritifs par les algues unicellulaires. *Hydrobiologia*, **96** : 53-63.

ROBERT J.M. & MAESTRINI S.Y., 1986. Absorption simultanée des ions NO_3^- et NH_4^+ par trois diatomées de claires à huîtres, en culture axénique. *Phycologia*, **25** : 152-159.

ROBERT J.M., VINCENDEAU M.L., MAESTRINI S.Y. & MARION A., 1986. Prises simultanées de l'azote minéral et de l'urée par les algues unicellulaires des claires ostréicoles: effet de la source d'azote sur la nature du peuplement. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **303**, **III**, **5** : 167-170.

ROBERT J.M., RAVAIL B. & PERREAU M.J., 1987. Utilisation de la diatomée-test *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve, souche "Bouin 1", pour l'étude des bilans azotés dans les eaux de marais côtiers atlantiques. *Océanis*, **13**(4-5) : 405-412.

RODEN C.M. & O'MAHONY K.W., 1984. Competition as a mechanism of adaptation to environmental stress in outdoor cultures of marine diatoms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **16** : 219-227.

RODHOUSE P.G., RODEN C. & SOMERVILLE-JACHLIN M.E., 1983. Nutritional value of micro-algal mass cultures to the oyster *Ostrea edulis* L. *Aquaculture*, **32** : 11-18.

THORESEN S.S., CLAYTON J.R. & AHMED S.I., 1984. The effect of short-term fluctuation in pH on NO_3^- uptake and intracellular constituents in *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **83** : 149-157.

ANNEXE 1

ENGRAIS UTILISES : CARACTERISTIQUES ET MODE DE CALCUL DES APPORTS DE NUTRIMENTS

Références des engrais solides utilisés

- **ammonitrate** 33,5% d'azote

fabricant: DSM engrais (Beauvais)

fournisseur: coopérative agricole

prix: 84,12 F/50 kg, soit 1,68 F/kg (prix du kg d'azote: 5,01 F)

- **triple super-phosphate** 46% d'anhydride phosphorique

fabricant: coopérative (Gratecap)

fournisseur: coopérative agricole

prix: 80,45 F/50kg, soit 1,61 F/kg (prix du kg de phosphore: 8,02 F)

- **métasilicate de sodium pentahydraté**

fabricant: SIMET-RHONE POULENC (Charly/Marne)

fournisseur: LANGLOIS (Niort)

prix: 184 F/50kg, soit 3,68F/kg (prix du kg de silice: 27,77 F/kg)

Méthode de calcul des apports de nutriments sous leur forme assimilable par les algues.

N sous forme NO₃ (N-NO₃)

teneur en N-NO₃ de l'ammonitrate (donnée fabricant)= 16,75%

masse atomique de N= 14

poids d'engrais= E (g)

volume du bassin= V (l)

$$[N-NO_3] = (E \times 0,1675 \times 10^6) / (14 \times V) \text{ en } \mu\text{mol.l}^{-1} (\mu\text{M})$$

$$\text{dans notre cas, } [N-NO_3] = (5000 \times 0,1675 \times 10^6) / (14 \times 219000) = 273 \mu\text{mol.l}^{-1} (\mu\text{M})$$

N sous forme NH_4 (N-NH₄)

teneur en N-NH₄ de l'ammonitrate (donnée fabricant)= 16,75%

masse atomique de N= 14

poids d'engrais= E (g)

volume du bassin= V (l)

$$[\text{N-NH}_4] = (E \times 0,1675 \times 10^6) / (14 \times V) \text{ en } \mu\text{mol.l}^{-1} (\mu\text{M})$$

$$\text{dans notre cas, } [\text{N-NH}_4] = (5000 \times 0,1675 \times 10^6) / (14 \times 219000) = 273 \mu\text{mol.l}^{-1} (\mu\text{M})$$

P sous forme HPO_4 (P-HPO₄)

teneur en P₂O₅ du triple super-phosphate (donnée fabricant)= 46%

masse atomique de P₂O₅= 142 et de P= 31

1 mole de P₂O₅ correspond en fait à 2 moles de HPO₄

poids d'engrais= E (g)

volume du bassin= V (l)

$$[\text{P-HPO}_4] = (E \times 0,46 \times 2 \times 10^6) / (142 \times 31 \times V) \text{ en } \mu\text{mol.l}^{-1} (\mu\text{M})$$

$$\text{dans notre cas, } [\text{P-HPO}_4] = (5000 \times 0,46 \times 2 \times 10^6) / (142 \times 31 \times 219000) = 148 \mu\text{mol.l}^{-1} (\mu\text{M})$$

Si sous forme SiO_3 (Si-SiO₃)

formule chimique du métasilicate de sodium pentahydraté: Na₂SiO₃·5H₂O

masse atomique de Na₂SiO₃·5H₂O= 212,1 et de Si= 28,1

teneur théorique en Si-SiO₃ du métasilicate de sodium= (28,1/212,1) x 100 = 13,25%

poids d'engrais= E (g)

volume du bassin= V (l)

$$[\text{Si-SiO}_3] = (E \times 0,1325 \times 10^6) / (28,1 \times V) \text{ en } \mu\text{mol.l}^{-1} (\mu\text{M})$$

$$\text{dans notre cas, } [\text{Si-SiO}_3] = (1000 \times 0,1325 \times 10^6) / (28,1 \times 219000) = 22 \mu\text{mol.l}^{-1} (\mu\text{M})$$

ANNEXE 2

INTERET DE L'EAU DU FORAGE DE RONCE POUR LA PRODUCTION DE MASSE DE PHYTOPLANCTON EN BASSINS EXTERIEURS :

Un forage a été exécuté en octobre 1983. Il se trouve situé à proximité de l'extrémité des bâtiments de l'écluserie de Ronce-les-Bains. Le forage a été équipé et est exploité en discontinu pour les besoins des salles d'algues intérieures pour les petits et moyens volumes.

Un tube PVC a été posé entre 22 et 105 mètres sous le sol (cf coupe), crépiné entre 75 et 105m, correspondant aux deux zones aquifères:

- le conacien calcaire de 80 à 94 m
- les grès et sables fins du conacien inférieur de 94 à 105m.

Les pompages d'essai ont montré un débit spécifique de l'ordre de 40 m^3 par heure et par mètre de rabattement. Le niveau de la nappe varie fortement avec la marée, mais il serait possible d'extraire avec des pompes de surface jusqu'à $150 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. La température des eaux est stable ($16,5^\circ\text{C}$). La qualité des eaux a été observée à plusieurs reprises par le laboratoire départemental d'hygiène de La Rochelle :

Date	Turbidité	pH	MES	CO ₂	Alcalinité
08.11.83		7.2	<1mg/130.3	564 °F (T.H)	
27.04.88		7.1	<1mg/139.8	584 °F (T.H)	
30.07.90	3.4 FTU	7.0	<1mg/144.0	614 °F (T.H)	
	Silicates	Si		Si-SiO ₂	
08.11.83	10mg/l SiO ₂	4.7mg/l Si		168 µmoles/l	
27.04.88	11mg/l SiO ₂	5.1mg/l Si		182 µmoles/l	
30.07.90	11 mg/l SiO ₂	5.1mg/l Si		182 µmoles/l	
	Ammonium	N		N-NH ₄	
08.11.83	1.1 mg/l NH ₄	0.86 mg/l N		61 µmoles/l	
27.04.88	3.2 mg/l NH ₄	2.49 mg/l N		178 µmoles/l	
30.07.90	1.2 mg/l NH ₄	0.93 mg/l N		66 µmoles/l	
	Phosphate	P		P-PO ₄	
08.11.83	0.16 mg/l PO ₄		mg/l P µmoles/l		
27.04.88	<0.03 mg/l PO ₄		mg/l P µmoles/l		
30.07.90	<0.05 mg/l PO ₄		mg/l P µmoles/l		

données trop imprécises pour être converties

Il apparait donc un niveau de silice de l'ordre de $170 \mu\text{M}^b$, pour un niveau d'azote de $70 \mu\text{M}$. Quant au phosphore il ne doit pas dépasser $0.4 \mu\text{M}$.

Les rapports des 3 sels principaux N, P, Si sont donc peu satisfaisants pour une utilisation telle quelle. L'intérêt de cette eau est sa concentration en CO_2 et en silicates et sa qualité abiotique en phytoplancton. Il faudra y ajouter N et P de façon à obtenir un équilibre judicieux des nutriments dans un rapport N:Si:P = 10:5,4:1 (selon Harrison et coll., 1977) appliqué avec succès par Roden (commun. perso.). Cela donne un rapport N/Si (at/at) de 1.85 et un rapport Si/P de 5.4, et donc un N/P de 10

En pratique cela veut dire que par litre d'eau de forage, il faudrait ajouter:

Silice pas d'ajout = $170 \mu\text{moles}$

Azote obtenir $315 \mu\text{moles}$ d'azote ($315 - 70$ à ajouter = $245 \mu\text{moles}$)

Phosphore obtenir $31.5 \mu\text{moles}$ à ajouter en totalité, si les teneurs négligeables sont confirmées.

En gramme par mètre-cube d'eau de forage cela donnerait un ajout de $3,4\text{g}$ d'azote N et 1g de Phosphore P. ou $2,3\text{g}$ de P_2O_5 .

^b $\mu\text{M} = \mu\text{moles/litre}$.