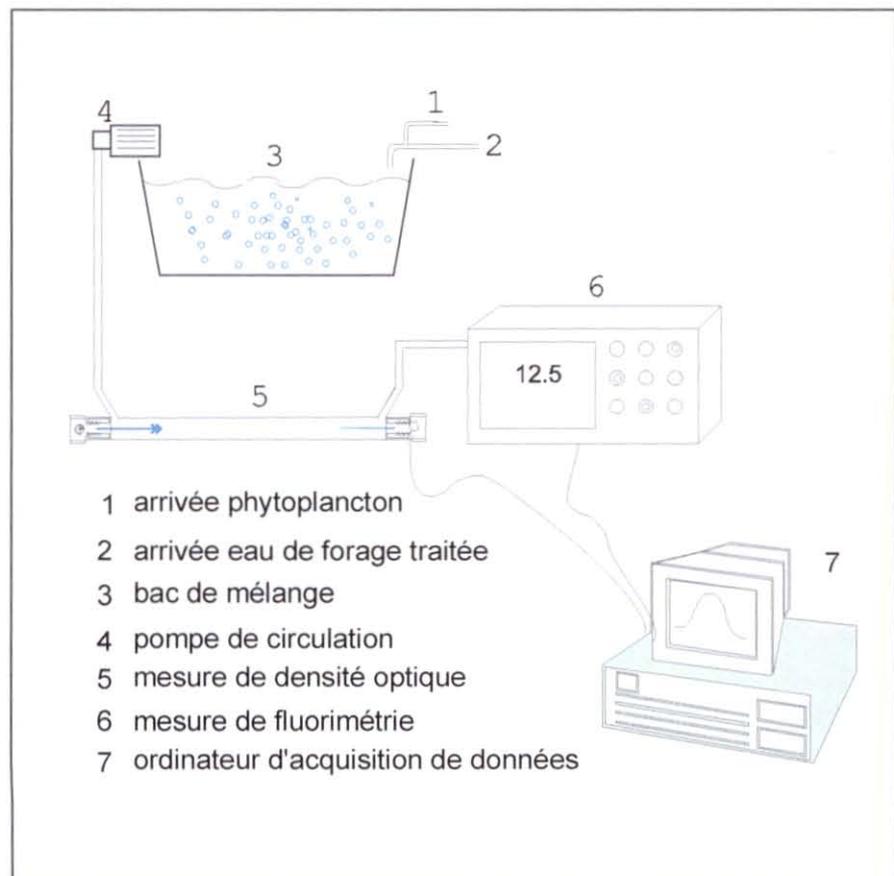


68465  
H740. SEL.S.  
OUR. 1591.

IFREMER  
BIBLIOTHEQUE  
LA TREMBLADE

Sélection de paramètres physiques pour la régulation et la maîtrise de la distribution de nourriture (*Skeletonema costatum*) aux coquillages d'intérêt commercial.



## Fiche Documentaire

<p><b>Numéro d'identification du rapport :</b> DRV/ RST/ RA/ LCPL/ 2002-06</p> <p><b>Diffusion :</b> libre    restreinte    interdite</p> <p><b>Validé par :</b> Jean Barret</p> <p><b>Version du document :</b></p>	<p><b>Date de Publication :</b> février 02</p> <p><b>Nombre de pages :</b> 21</p> <p><b>Bibliographie :</b> oui</p> <p><b>illustrations :</b> oui</p> <p><b>langue du rapport :</b> français</p>
<p><b>Titre et sous-titre du rapport :</b> Sélection de paramètres physiques pour la régulation et la maîtrise de la distribution de nourriture (<i>Skeletonema costatum</i>) aux coquillages d'intérêt commercial.</p> <p><b>Titre traduit :</b> Selection of physical parameters for the regulation of the distribution of food (<i>Skeletonema costatum</i>) in the breedings of shells of commercial interest.</p>	
<p><b>Auteur(s) principal(aux) :</b></p>	<p><b>Organisme/Direction/Laboratoire :</b></p>
<p><b>Collaborateur(s) :</b></p>	<p><b>Organisme/Direction/Laboratoire :</b></p>
<p><b>Travaux universitaires :</b></p> <p style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>diplôme :</span> <span>discipline</span> </p> <p style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>Etablissement de soutenance :</span> <span>année de soutenance :</span> </p>	
<p><b>Titre du contrat de recherche :</b></p>	<p><b>n° du contrat :</b></p>
<p><b>Organisme commanditaire</b> (nom, sigle, adresse):</p> <p><b>Organisme réalisateur</b> (nom, sigle, adresse) :  Institut Français pour la Recherche et l'Exploitation de la Mer (IFREMER)  LCPL  Polder des champs  85230 Bouin  <b>Responsable scientifique :</b> J. Haure</p>	
<p><b>Cadre de la recherche :</b> Convention annuelle IFREMER : Région Pays de la Loire (SMIDAP)</p> <p><b>Programme :</b></p> <p><b>Projet :</b> <span style="float: right;">Autre (à préciser) :</span></p>	

**Résumé :** Afin d'automatiser la distribution de phytoplancton (*Skeletonema costatum*) aux élevages intensifs de coquillages d'intérêt commercial, une étude a été réalisée pour sélectionner et définir le domaine d'application de paramètres physiques (fluorescence et absorption *in vivo*) indispensables pour la réalisation d'un tel projet. Le travail a été réalisé au printemps (juin 1999) et à l'automne (novembre 1999) à différentes dilution de phytoplancton dans une eau salée souterraine traitée. Les résultats ont montré que la fluorescence donnait une meilleure sensibilité inter saisonnière dans l'explication de la nourriture distribuée, mais perdait en qualité de représentation lors des phases nocturnes. En revanche, l'absorption (densité optique) a présenté moins de variabilité journalière tout en offrant de bonnes corrélations avec la concentration nutritive du milieu à réguler (coefficients de détermination  $> 0.7$ ). Cependant, la longueur d'onde choisie pour cette étude (660 nm) est trop spécifique de la chlorophylle et doit être fixée en deçà de cette valeur afin de tenir compte d'une plus large gamme de pigments mieux explicatifs de la biomasse en micro algues.

**Mots clés :** Fluorescence *in vivo*; absorption *in vivo*; automatisation ;*Skeletonema costatum*.

**Abstract :** A study was realized to automate the distribution of phytoplankton (*Skeletonema costatum*) in the extensive breedings of shells of commercial interest. Physical parameters were selected to define their domain of application for the realization of such a project. The work was realized in spring (in June, 1999) and in autumn (in November, 1999) in different dilution of phytoplankton in a treated subterranean salt water. The results showed that the fluorescence gave a better sensibility to inter seasonal in the explanation of the distributed food, but lost as representation during the night-phases. On the other hand, the absorption (optical density) presented less daily variability and with good correlations with the nourishing concentration of the environment (coefficients of determination  $> 0.7$ ). However, the wavelength chosen as this study (660 nm) is too specific some chlorophyll, it should be fixed below this value to take into account a wider range of better explanatory pigments of the biomass in algae.

**Key words :** Fluorescence *in vivo*; absorption *in vivo*; automation; *Skeletonema costatum*.

Sélection de paramètres physiques pour la régulation et la maîtrise de la distribution de nourriture (*Skeletonema costatum*) aux coquillages d'intérêt commercial.

J. Haure, H. Palvadeau, M. Nourry, C. Penisson et J.L.Y. Martin

<b>1.</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>Matériels et méthodes .....</b>	<b>4</b>
2.1.	Dispositifs .....	4
2.2.	Analyses biologiques.....	7
<b>3.</b>	<b>Résultats.....</b>	<b>8</b>
3.1.	Enregistrements continus.....	8
3.2.	Corrélations entre les paramètres physiques et biologiques mesurés .....	9
<b>4.</b>	<b>Discussion et conclusion.....</b>	<b>16</b>

## 1. Introduction

La station Ifremer de Bouin est devenue le site national référencé pour le contrôle de performances de mollusques filtreurs issus du laboratoire Ifremer de génétique de Ronces les bains (Haure, 1999 ; Naciri-Graven et al., 1999 ; Haure et al., 2001). L'utilisation d'une eau salée souterraine permettant la production en grands volumes de la micro algue (*Skeletonema costatum*) et la maîtrise d'une structure de pré grossissement de coquillages (Baud, 1991) sont à l'origine de cette situation. Cette richesse souterraine a permis notamment, l'optimisation de techniques d'affinage intensif de l'huître creuse *Crassostrea gigas* par la maîtrise de l'apport phytoplanctonique sur eau de mer comme support d'élevage (Baud et al., 1998). La mise au point d'un procédé de traitement physico-chimique de l'eau salée souterraine (Baud et al., 2000), a permis récemment, d'utiliser celle-ci comme milieu d'élevage pour une étude finalisée de l'affinage de l'huître creuse. Les résultats ont été aussi satisfaisant que ceux obtenus en eau de mer (données non publiées). Ainsi, l'eau salée souterraine traitée présente un milieu idéal pour l'élevage expérimental, sans variabilité intrinsèque d'apport nutritionnel, sans pathogène, sans compétiteur, et de plus caractérisée par une température, une salinité, une turbidité et une composition chimique constantes.

L'apport nutritionnel est issu des cultures d'algues (*S. costatum*) sur eau souterraine brute. Malgré la maîtrise du débit d'injection du phytoplancton, il est difficile de maintenir une concentration constante de nourriture dans les bassins d'élevage due à une variabilité de croissance du phytoplancton au cours d'une journée mais aussi des saisons. Cette variabilité pose le problème quant à la reproductibilité, entre saisons voire entre années, des tests de performances réalisés sur les différents coquillages étudiés.

Les paramètres biologiques les plus couramment utilisés pour caractériser la qualité et la quantité nutritionnelle d'un milieu marin sont pour la plupart, déterminés par des analyses en laboratoire plus ou moins longues dont les résultats ne sont jamais instantanés. Or, l'objectif de cette étude a été de sélectionner une ou plusieurs données physiques corrélées, le plus pertinement possible, à la concentration phytoplanctonique du milieu d'élevage et pouvant être convertis en signal électrique de manière à asservir, à terme, un système nutritif automatique, en fonction de critères biologiques préalablement définis.

La littérature est très abondante concernant l'innovation de techniques rapides et fiables pour la mesure de l'activité du phytoplancton. L'évolution de la concentration en oxygène a été souvent utilisée pour déterminer les phases de photosynthèse d'une population algale



(Engelmann, 1983 ; Fork, 1963). Yentsch et Yentsch (1979) préconisent la mesure de la fluorescence *in vivo* pour caractériser la chlorophylle *a* dans les populations algales, notamment pour les études où un contrôle *in situ* et permanent de l'activité chlorophyllienne est réclamé. La densité optique, a été également exploitée pour le suivi, par absorption lumineuse à une longueur d'onde spécifique, de la biomasse de culture d'algues, produite dans des réacteurs (Bougaran et *al.*, 2001). Des études comparatives de la fluorescence et de l'absorption *in vivo* ont été réalisées pour décrire l'activité photosynthétique du phytoplancton dans des milieux naturels (Lutz et *al.*, 1998).

D'après la littérature, et pour répondre aux objectifs de cette étude, il apparaît que la fluorescence et l'absorption *in vivo* semblent être les paramètres physiques le plus justement corrélés à la biomasse phytoplanctonique. Ils ont été sélectionnés pour cela et leur sensibilité sera, dans la suite de ce travail, appréciée au regard de critères biologiques tels que, la chlorophylle *a*, la matière organique particulaire, la numération de cellules de phytoplancton (*S. costatum*) et l'énergie particulaire de différentes concentrations nutritives pour les coquillages.

## 2. Matériels et méthodes

Les expérimentations se sont réalisées à deux périodes de l'année de façon à tenir compte des variations saisonnières du phytoplancton (*Skeletonema costatum*). La première, effectuée en juin 99, a tenu compte de quatre rations alimentaires correspondant à quatre dilutions du phytoplancton différentes ( 1/10 ème, 1/40 ème, 1/80 ème et 1/120 ème) avec l'eau souterraine traitée. La seconde, a été réalisée en novembre 99 avec cinq dilutions distinctes (1/10 ème, 1/25 ème, 1/40 ème, 1/60 ème et 1/120 ème).

### 2.1. Dispositifs

#### L'eau salée souterraine :

Dans cette étude, l'utilisation de l'eau salée souterraine revêt, de part ces caractéristiques physico-chimiques, deux atouts majeurs :

- Production en grands volumes (100 m<sup>3</sup>), et en extérieur, de la diatomée *Skeletonema costatum* comme algue fourrage (Baud, 1991),
- Utilisation comme milieu d'élevage reproductible, après traitements physico-chimiques (Baud et *al.*, 2000).



Matériels de mesure :

Pour les raisons précédemment énoncées les mesures de fluorescence et d'absorption lumineuse *in vivo* ont été adoptées pour apprécier la biomasse phytoplanctonique. Ainsi, la chlorophylle a pu être estimée de deux façons différentes :

- Par fluorimétrie, au moyen d'un fluorimètre Turner Designs muni d'une cellule de mesure à débit continu et équipé selon les recommandations de Lorenzen (1966) d'un filtre d'excitation de 430 nm de longueur d'onde et d'un filtre d'émission à 670 nm.
- Par mesure de l'absorption lumineuse à  $660 \pm 10$  nm, au moyen d'un appareil mis au point pour cette étude avec la collaboration du laboratoire de la Valorisation des Produits (VP) de l'Ifremer de Nantes (fig. 1).

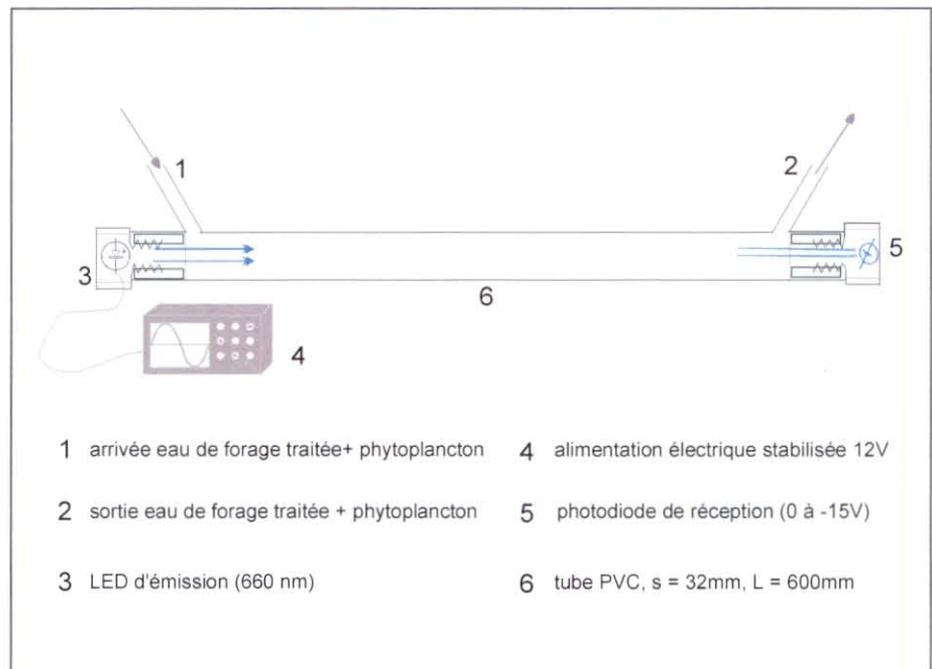


Figure 1 : Schéma de l'appareil de mesure de l'absorption de lumière par densité optique.

Selon Yentsch (1960) et Bougis (1974), 660 nm correspond à un pic d'absorption *in vivo* spécifique de la chlorophylle.

### Système expérimental :

Celui-ci est composé d'un bac d'une capacité de 600 litres et alimenté, de façon continue, en eau salée souterraine traitée avec ajout de phytoplancton (*S. costatum*) dont le débit a été régulé pour créer différentes dilutions de 1/10<sup>ème</sup> à 1/120<sup>ème</sup>. Chaque concentration est ainsi maintenue durant 24 heures et un enregistrement des valeurs de fluorescence et d'absorption lumineuse ont été enregistrées toutes les minutes (fig. 2). La variabilité du mélange a pu être observée au cours des périodes diurne et nocturne au moyen d'un fluorimètre et d'un spectrophotomètre branchés en série sur un circuit de dérivation du milieu (1m<sup>3</sup>/h).

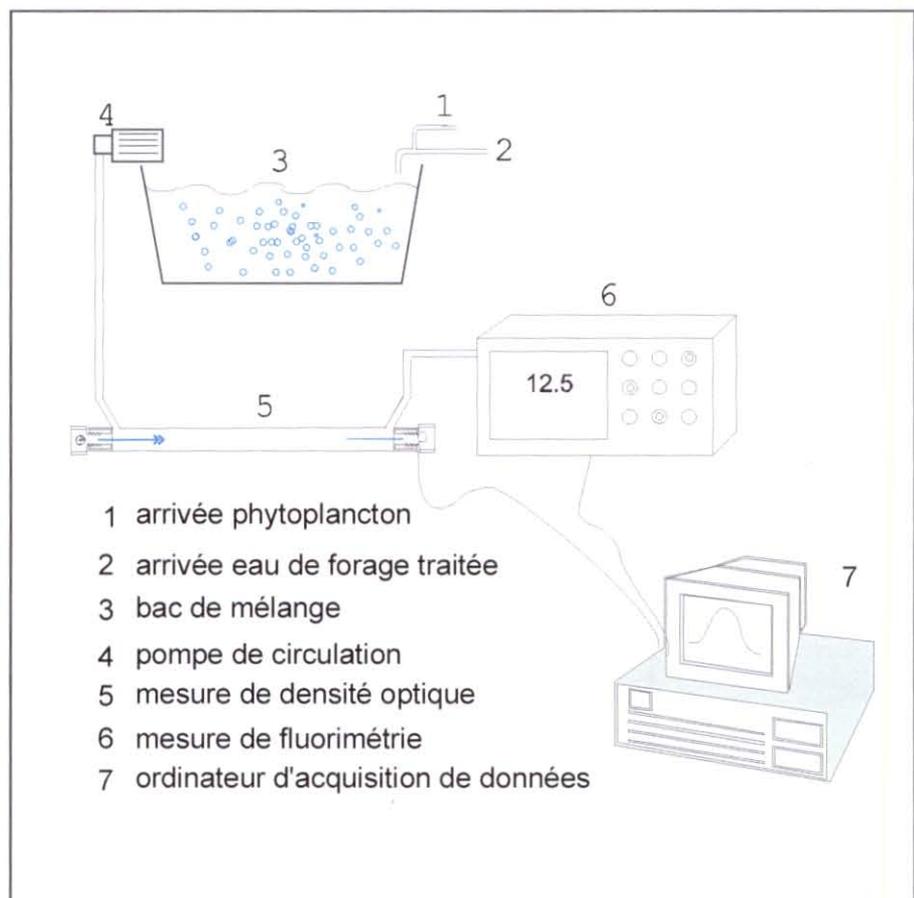


Figure 2 : Dispositif expérimental de mesures continues de la fluorescence et de l'absorption de lumière *in vivo* des différentes concentrations de phytoplancton.

## 2.2. Analyses biologiques

Des prélèvements discrets ont été réalisés de part et d'autre de la phase nocturne pour le comptage de phytoplancton, l'analyse de la chlorophylle, de la matière organique et de l'énergie particulaire de chaque concentration étudiée. Les débits d'eau salée souterraine et de culture d'algues ont été contrôlés et relevés lors de ces prélèvements.

### Comptage des cellules de phytoplancton :

Ils ont été réalisés au moyen d'une cellule de Malassez sur un échantillon prélevé à l'arrivée du phytoplancton. Les valeurs ont été moyennées sur trois comptages distincts et les résultats ont tenu compte du facteur de dilution de l'eau salée souterraine traitée. Ils ont été exprimés en nombre de cellules de *S. costatum* par litre.

### Matière organique particulaire :

La matière particulaire totale d'un volume connu d'eau de l'échantillon prélevé est recueillie sur un filtre Whatman GF/C pré-pesé, puis pesé après séchage à l'étuve (55 °C) pendant 24 heures. Une fois calcinés à 450 °C durant 1 heure, les filtres sont à nouveau pesés pour déterminer la part de la matière organique.

### Dosage de la chlorophylle a :

La chlorophylle a a été mesurée par fluorimétrie (Yentsch et Menzel, 1963 ; Neveux, 1976), par extraction à l'acétone (90 %), au moyen d'un fluorimètre IC6800.

### Energie particulaire :

Selon Widdows et *al.*, (1979) et Héral et *al.*, (1980), l'estimation de la teneur en lipides, protéines, et glucides de la matière en suspension représentée, de manière générale, la nourriture particulaire disponible pour les mollusques.

La fraction particulaire de l'eau a été recueillie sur filtre Whatman GF/C préalablement calciné. Les dosages colorimétriques ont été effectués avec un spectrophotomètre à double faisceau HITACHI U-2000.

- Les protéines (**P**) ont été dosées selon la méthode de Lowry et *al.*, (1951) et exprimées en équivalent d'albumine de bœuf.
- Les lipides (**L**) ont été extraits dans un mélange de chloroforme et méthanol (Bligh et Dyer, 1959) et sont dosés selon la technique de Marsh et Weinstein (1966). Ils sont exprimés en mg l<sup>-1</sup> d'équivalent acide tripalmitique.



- Les glucides (**G**) ont été dosés selon la méthode de Dubois et *al.*, (1956) et sont exprimés en  $\text{mg l}^{-1}$  d'équivalent glucose.

Ces résultats ont permis de calculer l'énergie particulaire (**E**), exprimée en joules par litre selon l'équation établie en 1945 par Brody.

$$E (\text{j l}^{-1}) = 23,65 \times P + 17,16 \times G + 39,56 \times L.$$

### 3. Résultats

#### 3.1. Enregistrements continus

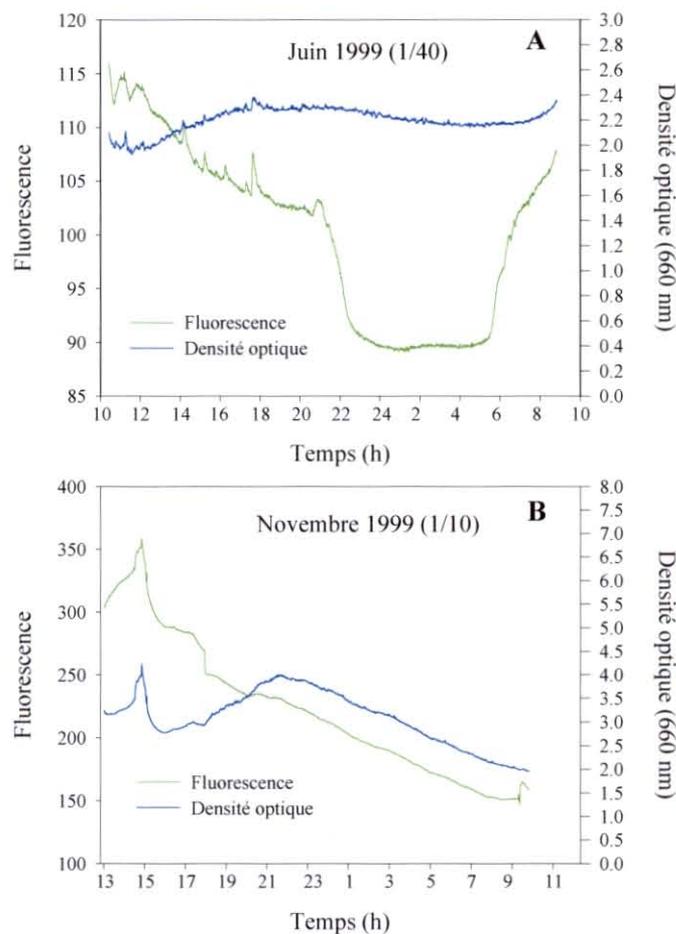


Figure 3 : Evolution de la densité optique et de la fluorescence de l'enregistrement continu effectué sur 24 heures (A : Juin ; B : Novembre).

Deux exemples de l'évolution de l'enregistrement continu de la densité optique et de la fluorescence sont représentés sur la figure 3, aux deux périodes étudiées.

Au mois de juin, la fluorescence d'une solution réalisée au 1/10<sup>ème</sup> présente d'importantes fluctuations au cours des 24 heures avec notamment une chute importante des valeurs durant la phase nocturne de 23 heures à 6 heures avec des valeurs minimales de 89. Le maximum est obtenu au début de l'expérimentation avec 116 de fluorescence. En revanche, la densité optique présente une plus grande stabilité au cours de l'expérience sans présenter de chute durant la nuit. Les valeurs maximales et minimales sont respectivement de 2,4 à 18 heures et 1,9 de densité optique à midi. Le rayonnement global de cette journée d'étude, enregistré par Météo France (La Roche sur Yon), était de 1500 j/cm<sup>2</sup>.

Les paramètres enregistrés lors de l'expérimentation de novembre montrent également une évolution dissemblable de la fluorescence et de la densité optique de 16 à 23 heures, période pendant laquelle la luminosité décline rapidement à cette saison. La fluorescence diminue alors que la densité optique augmente. L'évolution de la fluorescence décrit un maximum de 359 à 15 heures et un minimum à 9h30mn de 148. La densité optique présente deux maxima de 4, l'un à 15 heures et l'autre à 22h30mn. Le rayonnement global de cette journée d'étude était de 236 j/cm<sup>2</sup> soit 6 fois moins qu'en juin.

### 3.2. Corrélations entre les paramètres physiques et biologiques mesurés

Ces relations ont été établies avec les données recueillies pendant les phases diurnes des expérimentations. Elles cumulent les résultats obtenus aux deux périodes d'étude.

#### Fluorescence

La figure 4 établit la qualité des différentes relations obtenues entre la fluorescence, variable explicative, et les paramètres biologiques expliqués. Les corrélations ont été effectuées par période, mais aussi sur la totalité des données de manière à vérifier un effet saison, si il existait.

D'une manière générale, les équations ont présenté une représentation statistique significative des données ( $p < 0.05$ ) quelques soient les paramètres à expliquer et la saison envisagée (Tableaux 1).

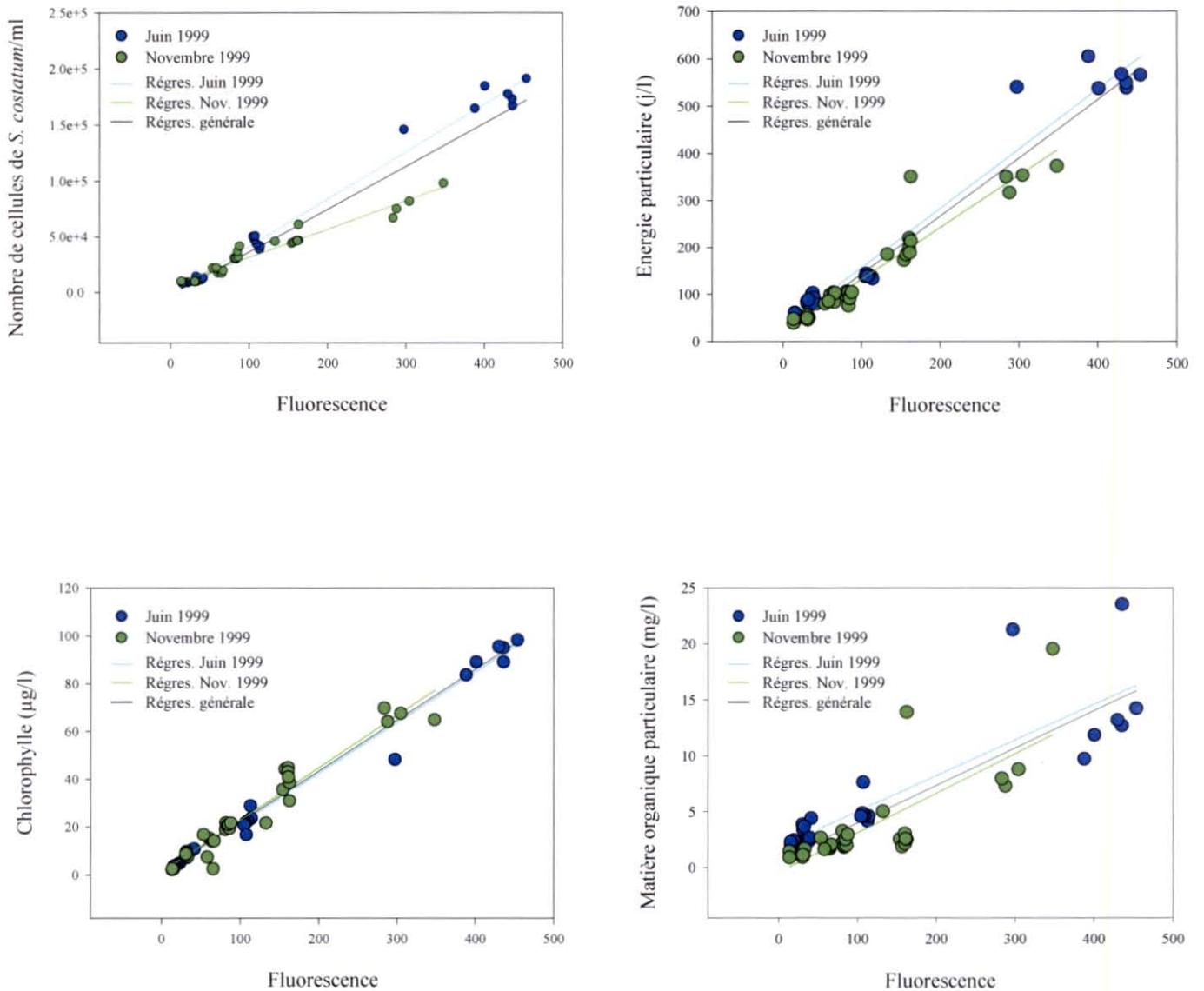


Figure 4 : Relation entre la fluorescence et les paramètres biologiques à expliquer.

Plus précisément, les analyses de variances ont montré des différences significatives ( $p > 0.05$ ) entre saisons, par rapport aux pentes explicatives du nombre de cellules de phytoplancton de l'énergie et de la matière organique particulaire

En revanche, les analyses statistiques ne présentent pas de différences saisonnières pour l'explication de la chlorophylle par la fluorescence.

#### Densité optique à 680 nm

De la même manière, on peut observer sur la figure 5 les relations qui ont été obtenues entre la densité optique (variable explicative) et les différentes données biologiques (variables à expliquer).

Les régressions générales, qui tiennent compte des deux périodes d'étude, montrent qu'il existe de bonnes relations entre la densité optique et les valeurs biologiques (tableau 2). Toutefois, on peut constater, même si les tests statistiques sont significatifs ( $p < 0,05$ ), que les variables, chlorophylle et matières organiques sont moins bien représentées par la densité optique que ne le sont le nombre de cellules de *S. costatum* et l'énergie particulaire.

Des analyses de variances, à un facteur (saison), réalisées sur les pentes de corrélations n'ont pas montré de différences significatives pour l'explication du nombre de cellules de phytoplancton et de l'énergie particulaire par la densité optique ( $p > 0.05$ ). En revanche, des différences significatives ont été observées entre juin et novembre au regard des pentes de régression explicatives des concentrations de chlorophylle a et de la matière organique particulaire.

En conclusion, que ce soit la fluorescence ou la densité optique, la matière organique particulaire est la moins bien représentée avec respectivement des coefficients de détermination de 0,70 et 0,74.



Tableau 1 : Paramètres statistiques des équations explicatives de la fluorescence : équation de type  $y=a+bx$  ; N= nombre d'échantillon ;  $R^2$ = coefficient de détermination.

	Paramètres	Régression Générale	Régression Juin	Régression Novembre
Nombre de cellules de <i>S. costatum</i> (Nbcél/l)	N	62	29	33
	a	-2244,2	-474,6	6079,3
	b	<b>384,8</b>	<b>422,4</b>	<b>254,5</b>
	$R^2$	0,93	0,99	0,94
Chlorophylle a (µg/l)	N	62	29	33
	a	0,9737	0,2296	1,1257
	b	<b>0,213</b>	<b>0,211</b>	<b>0,218</b>
	$R^2$	0,97	0,99	0,94
Energie (j/l)	N	62	29	33
	a	18,96	29,44	19,968
	b	<b>1,24</b>	<b>1,267</b>	<b>1,112</b>
	$R^2$	0,95	0,97	0,91
Matière organique particulaire (mg/l)	N	62	29	33
	a	0,659	1,836	-0,432
	b	<b>0,034</b>	<b>0,032</b>	<b>0,035</b>
	$R^2$	0,70	0,77	0,61



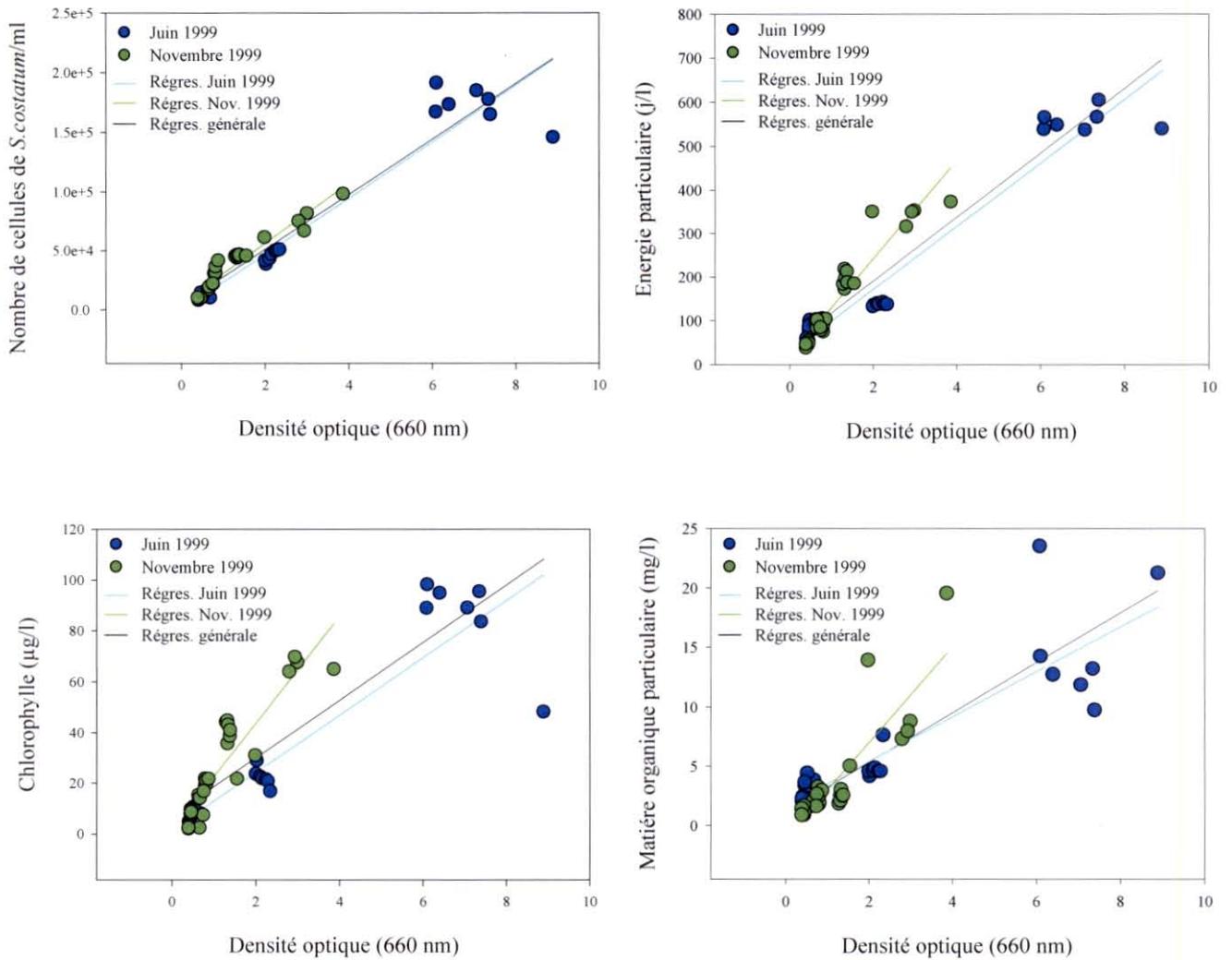


Figure 5 : Relation entre la densité optique et les paramètres biologiques à expliquer.

Tableau 2 : Paramètres statistiques des équations explicatives de la densité optique : équation de type  $y=a+bx$  ; N= nombre d'échantillon ;  $R^2$ = coefficient de détermination.

	Paramètres	Régression Générale	Régression Juin	Régression Novembre
Nombre de cellules de <i>S. costatum</i> (Nbcél/l)	N	62	29	33
	a	4521	-1995	5566
	b	<b>23309</b>	<b>25049</b>	<b>25468</b>
	$R^2$	0,93	0,97	0,92
Chlorophylle a (µg/l)	N	62	29	33
	a	7,363	1,709	1,705
	b	<b>11,34</b>	<b>11,29</b>	<b>20,97</b>
	$R^2$	0,75	0,85	0,84
Energie (j/l)	N	62	29	33
	a	43,32	26,85	16,12
	b	<b>73,49</b>	<b>72,47</b>	<b>112,66</b>
	$R^2$	0,91	0,95	0,91
Matière organique particulaire (mg/l)	N	62	29	33
	a	1,13	1,63	-1,04
	b	<b>2,09</b>	<b>1,89</b>	<b>4,01</b>
	$R^2$	0,74	0,81	0,76



### Coefficients de variation

Les coefficients de variation de la fluorescence et de la densité optique obtenus pour chaque dilution et aux deux périodes étudiées sont représentés sur la figure 6.

La variabilité des mesures réalisées sur 24 heures montre une plus grande instabilité des valeurs de fluorescence que celles de la densité optique. Il n'y a qu'au mois de novembre où les coefficients de variation sont à peu près semblables, mis à part pour les dilutions de 1/120 et 1/10 où ils sont respectivement de 6 et 18% pour la densité optique et 30 et 25 % pour la fluorescence.

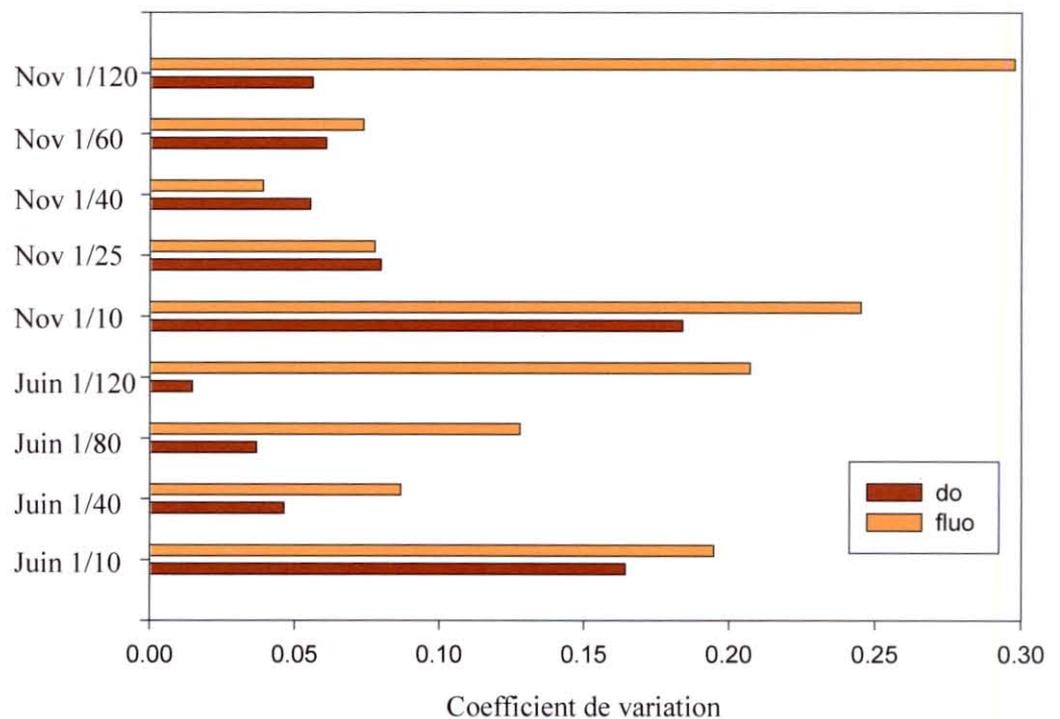


Figure 6 : Coefficient de variation de la fluorescence (fluo) et de la densité optique (do) à 660 nm de chaque dilution réalisée aux périodes étudiées.

## 4. Discussion et conclusion

D'une manière générale, les correspondances qui ont été obtenues entre les paramètres biologiques et la fluorescence ou la densité optique à 660 nm sont acceptables.

Cependant, la matière organique particulaire est moins bien représentée que les autres constituants biologiques par les deux paramètres physiques (fluorescence et densité optique). Ces résultats peuvent aisément s'expliquer par la présence de substances détritiques peu ou pas chlorophylliennes dans la matière organique mesurée et qui perturbent les corrélations. Lutz et *al.* (1998) retranchent des valeurs obtenues à 750 nm à celles de 664 nm de manière à éliminer l'influence de la matière détritique obtenue en absorption *in vivo*. Il aurait fallu, dans notre expérience, disposer de deux spectrophotomètres (l'un à 660 nm et l'autre à 750 nm) pour réaliser une telle correction. D'autre part, cette partie détritique, ou non chlorophyllienne, constitue, malgré tout, un réservoir nutritif dont nous devons tenir compte dans notre problématique de régulation de l'aliment dans nos élevages expérimentaux.

L'analyse intersaison des résultats montrent, pour la densité optique, que les pentes explicatives de la chlorophylle *a*, de l'énergie et de la MOP sont, en novembre, 2 fois supérieures à celles de juin. Ces résultats signifient que pour une unité de densité optique, le mélange nutritif sera 2 fois plus riche en automne qu'au printemps. En revanche, les pentes relatives au nombre de cellules de *S. costatum* sont identiques aux deux périodes étudiées. Par contre, les pentes des fonctions corrélatives obtenues avec les données explicatives de la fluorescence montrent une bonne adéquation saisonnière pour les paramètres biologiques à expliquer, excepté pour l'interprétation du nombre de cellule de phytoplancton.

Ce constat peut s'expliquer par les principes analytiques des deux mesures (fluorescence et densité optique).

La fluorescence enregistre principalement une émission photonique de la chlorophylle à 670 nm qui a été excitée à 450 nm (Lorenzen, 1966 ; Yentsch and Yentsch, 1979). Dans ce cas là, seule la chlorophylle est mesurée puisqu'elle constitue le centre réactionnel actif de la conversion de l'énergie photochimique en énergie électrochimique du photosystème II (PSII) de la photosynthèse (Rawn, 1990). Dans le cas de notre étude où le phytoplancton provient de culture jeune de *S. costatum*, l'activité chlorophyllienne mesurée est très proche de la biomasse algale et présente ainsi, de bonnes corrélations avec les paramètres biologiques.

Même si elle est mesurée à 660 nm, longueur d'onde où la réceptivité de la chlorophylle est maximale, la densité optique est plus représentative d'une turbidité que d'une activité chlorophyllienne du mélange nutritionnel (Lutz et *al.*, 1998). Pour les raisons énoncées précédemment, la qualité et la mono spécificité des cultures d'algues sont à l'origine des bonnes corrélations obtenues avec ce paramètre de lecture physique, et les interférences dues au vieillissement des cellules sont négligeables puisque l'élevage et l'utilisation de la production phytoplanctonique est très rapide (Baud, 1991).

L'étude montre une meilleure sensibilité de la fluorescence que de la densité optique pour donner une image du potentiel nutritif du milieu. Cependant, la fluorescence est plus représentative d'une activité chlorophyllienne alors que l'absorption se rapproche d'avantage d'une biomasse algale. Or, l'objectif de ce travail est d'approcher au mieux l'appréciation de ce paramètre de manière à pouvoir contrôler l'apport nutritif à des élevages de coquillages sur plusieurs mois. Dans ce contexte, la densité optique paraît satisfaisante mais encore imparfaite dans l'estimation nutritive du milieu, au cours du temps. C'est pourquoi, 660 nm n'est peut être pas la meilleure longueur d'onde à adopter pour résoudre cette problématique. L'existence de pigments surnuméraires ou accessoires, tels que les caroténoïdes ou les phycobilines, capables de transférer l'énergie à la chlorophylle, amène à considérer que toute l'énergie lumineuse comprise entre 380 et 720 nm est susceptible de renseigner sur la biomasse algale sans être spécifique de la seule chlorophylle (Bougis, 1974 ; Strickland, 1958). Ainsi, il pourrait être adopté des longueurs d'onde situées entre 430 et 500 nm pour pouvoir mesurer, non seulement la chlorophylle mais aussi les caroténoïdes et autres pigments surnuméraires (Morel, 1973) qui devraient être plus représentatifs de l'énergie particulière.

Les coefficients de variation dénoncent une plus grande variabilité des valeurs de fluorescence que celles de la densité optique. Il a été observé, d'après les graphes de l'évolution journalière que la fluorescence est très instable entre les phases diurnes et nocturnes de la journée. En effet, selon les principes de la mesure de la fluorescence, précédemment décrits, le phytoplancton seraient moins stimulé en période de nuit et en absence de lumière, et les valeurs enregistrées sous estimeraient les concentrations des composants recherchés alors que les lectures de l'absorption *in vivo* ont peu ou pas semblé être affectées par l'alternance du jour et de la nuit. Malheureusement, il n'a pu être réalisé de prélèvements discrets pendant la nuit et les corrélations ne peuvent donc pas en tenir compte. Cependant, il peut être admis que, du fait de la régulation des différents débits, les variations enregistrées par le fluorimètre n'avaient d'autre justification que



dans l'explication physique d'un différentiel de l'excitation photonique entre le jour et la nuit. Si tel est le cas, la fluorescence ne permettrait pas de réguler un niveau nutritif pendant la nuit et ne pourrait être retenue comme signal pertinent.

La mesure de l'absorption *in vivo*, semble correspondre à l'objectif fixé mais doit être affinée, notamment dans le choix de la longueur d'onde.



## Références bibliographiques

Baud, J.P., 1991. Utilisation des eaux salées souterraines en Baie de Bourgneuf pour le prégrossissement intensif de mollusques filtreurs en nourricerie. Mémoire de Diplôme de Recherche Universitaire, Nantes, 65p.

Baud, J.P., Mornet, C., Palvadeau, H., Haure, J., 1998. Influence de la température sur l'affinage contrôlé de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. RIDRV/RST/RA/LCPL/98-11. 26p.

Baud, J.P., Palvadeau, H., Nourry, M., Pénisson, C., Haure, J., 2000. Traitement de l'eau salée souterraine pour un meilleur contrôle des élevages de coquillage. Contrats : Ifremer/Région Pays de la Loire/Conseil Général de Vendée. 24p.

Bligh, J. G., Dyer, W. F., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 911-917.

Bougaran, G., Le Déan, L., Lukomska, E., Picquet, M. L., Kaas, R., Muller-Feuga, A., 2001. Culture en continu de *Isochrysis galbana affinis Tahiti*. RIDRV/VP/PBA/2001-001. 20p.

Bougis, P., 1974. Ecologie du plancton marin : I. Le phytoplancton. *In collection d'écologie*, ed. Masson et Cie. 196 p.

Brody, S., 1945. Bioenergetic and growth. *Reinhold*, New-York, 1023.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, P. A., Rebecs, P. A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, (3), 350-356.

Engelmann, T. W., 1883. Farbe und Assimilation. *Bot. Zeit.* **41**, 1-13.

Fork, D. C. 1963. Observations of the function of chlorophyll *a* and accessory pigments in photosynthesis. *In Photosynthesis Mecanisms in Green Plants*. National Academy of Science National Research Council, Washington, D.C., 352-361.

Haure, J., 1999. Testage de souches d'huîtres plates *Ostrea edulis* tolérantes à *Bonamia ostreae* : Elevage contrôlé, écophysiologie et modélisation de la croissance. Thèse de Doctorat, *Ecole Pratique des Hautes Etudes, Sciences de la Vie et de la Terre*, 95p.

Haure, J., Huvet, A., Palvadeau, H., Nourry, M., Penisson, C., Boudry, P., Martin, J. L. Y., 2001. Etude de la croissance et de l'activité

écophysiologique des huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* et de leurs hybrides en système contrôlé. *RIDRV/RST/RA/LCPL/-2001-09*. 39p.

Héral, M., Razet, D., Maestrini, S., Garnier, J., 1980. Composition de la matière organique particulaire dans les eaux du bassin de Marennes Oléron. Apport énergétique pour la nutrition de l'huître. C. N. 1980/2, 44p.

Lorenzen, C. J., 1966. A method for the continuous measurement of *in vivo* chlorophyll concentrations. *Deep-Sea Res.*, **13**, 223-228.

Lowry, O. N., Rosenbrough, N. I., Farrand, A. L., Randau, R. J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 263-275.

Lutz, V. A., Sathyendranath, S., Head, E. J. H., William, K. W. L., 1998. Differences between *in vivo* absorption and fluorescence excitation spectra in natural samples of phytoplankton. *J. Phycol.*, **34**, 214-227.

Marsh J. B., Weinstein D. B., 1966. Sample charring method for determination of lipid. *J. Lip. Res.*, **7**, 574-576.

Morel A., 1973. Optical properties of pure water and pure sea water. *in* Optical Aspects of Oceanography, N.G. Jerlov and E. Steemann-Nielsen, eds., Academic Press, London, 528 p.

Naciri-Graven, Y., Haure, J., Gérard, A., Baud, J. P., 1999. Comparative growth of *Bonamia ostreae* resistant and wild flat oyster *Ostrea edulis* in an intensive system. II. Second year of the experiment. *Aquaculture*, **171**, 195-208.

Neveux, J., 1976. Dosage de la chlorophylle *a* et de la phéophytine *a* par fluorimétrie. *Ann. Inst. Océanogr.* **52**, 165-174.

Rawn J.D., 1990. Traité de biochimie. Towson State University. Eds. Univ. 1146 p.

Strickland, J.D.H., 1958. Solar radiation penetrating the ocean. A review of requirements, data and methods of measurement, with particular reference to photosynthetic productivity. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **15**, 453-493.

Widdows, J. P., Festhand, C., Worrall, C. M., 1979. Relationship between seston, available food and feeding activity in the common mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, **50**, 125-207.

Yentsch, C. S., 1960. The influence of phytoplankton pigments on the colours of sea water. *Deep-sea Res.*, **7**, 1-9.

Yentsch, C. S., Menzel, D. W., 1963. A method for determination of phytoplankton chlorophyll and pheophytin by fluorescence. *Deep-Sea Res.* **10**, 221-231.

Yentsch, C. S., Yentsch, C. M., 1979. Fluorescence spectral signatures : The characterization of phytoplankton populations by the use of excitation and emission spectra. *Journal of Marine Research*, **37**, (3), 471-483.