

## Résumé

Les claires ostréicoles représentent près de 3000ha de marais exploités par la conchyliculture dans le seul Département de Charente-Maritime. Plus de 50 000 tonnes sont ainsi affinées puis commercialisées à partir de ce bassin de production, représentant 1/3 de la commercialisation française.

Depuis un siècle, la valorisation des anciennes salines se traduit par l'engraissement, l'acquisition d'un goût spécifique et le verdissement des huîtres par l'intermédiaire d'une chaîne alimentaire courte algues-bivalves, donnant ainsi toutes les particularités à ces produits. L'algue provoquant le verdissement des huîtres *Haslea ostrearia* a la capacité de se multiplier au point de conduire à un verdissement de l'eau des claires par le pigment libéré, la Marennine. Ce phénomène naturel peut être favorisé par les pratiques empiriques des professionnels mais reste aléatoire et non contrôlé.

Depuis 3 ans, l'IFREMER La Tremblade développe un programme de recherches concernant la valorisation des claires ostréicoles. Un des projets concerne la fiabilisation et le contrôle de ce processus de verdissement. La qualité des eaux fait l'objet d'études détaillées (analyse des sels nutritifs, et fertilité potentielle vis à vis d'*Haslea ostrearia*). Les tests biologiques menés en 1995, couplés à des enrichissements différentiels, ont permis de mettre en évidence que le silicium est le principal facteur limitant la prolifération de cette algue en conditions de laboratoire. En 1996, une étude similaire a été menée à la fois en laboratoire afin de préciser le rôle de certains paramètres (sels nutritifs, pH, teneurs en oxygène, biomasse d'algues) et sur le terrain afin de détecter l'impact des huîtres en affinage sur le processus même de prolifération des algues *Haslea ostrearia*. L'azote est l'élément nutritif le plus abondant dans l'eau des claires ostréicoles alors que la silice et les phosphates sont déficitaires pour favoriser la prolifération. La biomasse des huîtres creuses dans les conditions de la Norme AFNOR induit des modifications du milieu sans pour autant modifier la fertilité de l'eau vis à vis d'*Haslea ostrearia* lors de tests en laboratoire. Les tests 1996 ont montré à nouveau l'importance du silicium dans la production de cette algue, confirmant les expérimentations 1995.

Les travaux menés en 1997 portent sur une meilleure connaissance écophysiological des diatomées des claires ostréicoles dont *Haslea ostrearia*, ainsi qu'à de meilleures estimations des conditions environnementales naturelles (évolution de la qualité d'eau entre 2 remplissages de marais). En particulier, la variabilité et la répartition au sein des claires des populations phytoplanctoniques ainsi que l'évolution dans le temps de celles-ci ont fait l'objet de recherches. Ceci est particulièrement important pour envisager à moyen terme une extension de la période de verdissement ainsi que son maintien à de fortes concentrations cellulaires dans l'eau des claires. En d'autres termes, comment favoriser l'équilibre de l'écosystème pour maintenir ce verdissement et limiter la prolifération de d'autres espèces ? Cette approche nécessite une connaissance très précise des besoins nutritionnels de cette algue phytoplanctonique. Pour aborder ce problème, des expérimentations en enceintes de 170l (mésocosmes) ont été effectuées directement dans les claires ostréicoles du marais de L'Houmeau en conditions hivernales et de La Tremblade en conditions printanières.

Les expérimentations 1997 in-situ dans les claires ont permis de valider certaines observations de laboratoire réalisées au préalable. En particulier, la présence des huîtres à une densité de 20/m<sup>2</sup> induit des différences significatives sur la qualité d'eau. Cependant, l'évolution des nutriments dans des claires garnies et non garnies reste similaire. L'azote, le



plus abondant dans les eaux d'alimentation devient déficitaire après la stabulation entre deux remplissages. Globalement, les concentrations en éléments diminuent fortement au cours de cette stabulation. L'étude de la variabilité spatiale des algues dans les eaux de claires démontre une hétérogénéité importante, fonction des conditions de vent sur le marais.

Les résultats d'induction de la prolifération de l'algue *Haslea ostrearia* ont permis de progresser significativement dans l'objectif de contrôler le verdissement en claires. Bien que la dominance d'*Haslea ostrearia* n'ait pu être obtenue jusqu'à présent sans un faible apport initial de cellules de cette espèce, les expériences ont montré qu'une population s'est installée et développée pendant 40 jours de suivi hivernal. Cette prolifération et dominance par cette algue a été obtenue malgré des conditions climatiques difficiles (froid et gel de l'eau de surface dans les claires). Les résultats d'une expérience similaire en période printanière montrent que l'introduction des huîtres permet d'accroître la production nette de phytoplancton d'un facteur 3. La biomasse phytoplanctonique a été fortement multipliée (facteur 21) par l'utilisation d'un enrichissement calculé spécifiquement en N/P/SI. En 10 jours d'expérimentation, un verdissement est obtenu, y compris en présence d'huîtres, en provoquant et maintenant le bloom d'*Haslea ostrearia* après avoir introduit initialement dans l'eau 2000 cellules par ml de cette espèce. On obtient ainsi 13,5mg/l de marennine induisant un verdissement intense des huîtres en affinage.

A partir de ces résultats, les prochains travaux porteront sur des tests d'enrichissements spécifiques en plus grand volume afin d'induire et de maintenir une population microalgale d'*Haslea ostrearia* jusqu'au verdissement des bassins. Des connaissances complémentaires restent à acquérir en particulier au niveau des échanges nutritifs à l'interface sédiment - colonne d'eau ainsi qu'au niveau des successions microalgales dans l'écosystème 'claires ostréicoles'. Ces données permettront de mieux analyser les conditions environnementales décisives dans la dominance d'*Haslea ostrearia* à une période donnée en milieu naturel. Ces connaissances permettront à moyen terme de s'affranchir de l'apport initial (bien que limité) de cellules d'*Haslea ostrearia* dans l'écosystème 'claires' pour obtenir cette dominance spécifique.

## Introduction

Dans le cadre du contrat de plan Etat-Conseil Régional Poitou-Charentes-IFREMER portant sur la valorisation des claires ostréicoles et l'affinage des huîtres creuses en période automnale, un programme de recherche a été mis en place afin de comprendre la dynamique de populations de microalgues et la prolifération de la diatomée *Haslea ostrearia* dans l'écosystème claire.

Les claires ostréicoles représentent plus de 3000 ha de marais exploités pour la conchyliculture dans la seule région Poitou-Charentes. Cette valorisation d'anciennes salines mise en oeuvre depuis près d'un siècle se matérialise par l'engraissement et le verdissement des huîtres au sein d'une chaîne alimentaire courte algues-bivalves donnant à ces bassins toute leur spécificité. Celle-ci est d'autant plus accentuée que dans les claires, une diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen (plus communément appelée navicule bleue) peut se multiplier au point de conduire au verdissement des bassins.

Ce phénomène particulier dû à la synthèse par la diatomée d'un pigment, la marennine de couleur bleu-vert, conduit au verdissement des huîtres qui sont immergés dans ces bassins. Cependant ce phénomène, même s'il est favorisé par les techniques empiriques des ostréiculteurs, reste aléatoire et non contrôlable. Depuis plusieurs années ces milieux très particuliers, que sont les claires ostréicoles, ont été étudiés faisant entre autres l'objet de quelques thèses, Neuville (1978), Rincé (1978), Robert (1983).

Les travaux jusqu'alors réalisés, ont conduit à une connaissance écophysologique des diatomées des claires, ainsi qu'à une meilleure approche du milieu naturel. Cependant il reste à préciser le mode d'évolution des populations phytoplanctoniques des claires jusqu'au développement et la multiplication d'*Haslea ostrearia*, ainsi que le devenir de l'écosystème suite à ce rajeunissement (dominance d'*H. ostrearia* par rapport aux espèces). En d'autres termes il s'agit :

- ↪ de savoir dans quelles conditions physico-chimiques et selon quelle dynamique nutritionnelle, la richesse et la diversité spécifique du peuplement phytoplanctonique peut se modifier.
- ↪ de préciser les besoins nutritifs d'*H. ostrearia* dans le but de favoriser son installation et sa prolifération jusqu'au verdissement.
- ↪ de préciser l'impact éventuel des huîtres sur l'écosystème claires et les mécanismes existant ou non susceptibles de favoriser l'installation de la navicule.
- ↪ d'estimer dans quelles limites l'équilibre de l'écosystème nouvellement restauré lors du verdissement peut être maintenu.

Après un an et demi de travail, les résultats portent sur plusieurs points.

- ❑ Les facteurs contrôlant la limitation de la production d'*Haslea ostrearia*. Ces expérimentations se sont déroulées *in vitro* en réalisant des bio-essais couplés à la technique des enrichissements différentiels.
- ❑ Les besoins nutritionnels de la diatomée *Haslea ostrearia* en fonction de différents facteurs (eau entrante ou ayant stabulé dans les claires, présence ou absence d'huîtres...)
- ❑ La variabilité spatio-temporelle de la répartition des populations de diatomées au sein des claires expérimentales. (Choix d'une stratégie d'échantillonnage).
- ❑ L'impact éventuel des huîtres sur la qualité et la fertilité de l'eau d'une claire vis à vis d'*Haslea ostrearia*.



## 2 Matériel et méthodes

### 2-1 Le site expérimental.

Le site expérimental, correspond aux claires ostréicoles de la station IFREMER La Tremblade, sur la commune de Ronce-les-Bains, Bassin de Marennes-Oléron. Sur les cinq claires d'une superficie de 400 m<sup>2</sup> en moyenne chacune, seulement deux ont été suivies durant les 5 mois d'étude (Claire 1 et 5, Fig. 1). Chacune des claires est alimentée en eau de mer par un chenal, puis par des "bondons" verticaux en PVC de 30 cm de diamètre. Le renouvellement de l'eau se réalise de façon naturelle à marée haute, lorsque les coefficients de marée dépassent 70 et sous l'influence aussi des conditions atmosphériques.

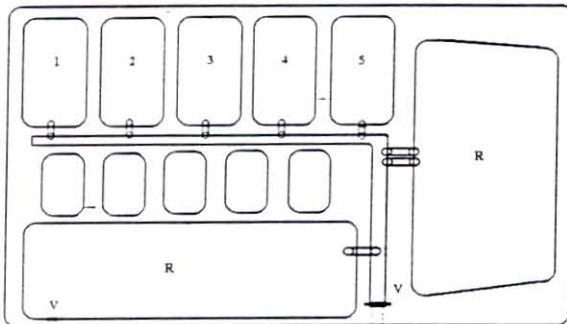


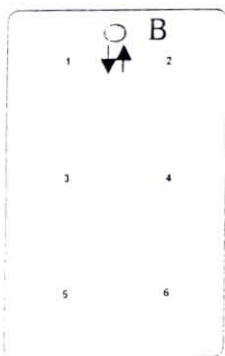
Figure 1 : Site expérimental de La Tremblade. Claires 1 à 5 : seules la claire 1 (20 huîtres au m<sup>2</sup>) et la claire 5 (claire témoin sans huîtres) ont été suivies au cours de l'étude. R : Réserve ; V : Varaigne (Vanne d'alimentation).

### 2-2 Stratégie spatio-temporelle d'échantillonnage

Durant la période d'étude entre janvier et mai 1996, 8 campagnes de prélèvements ont été réalisées, sur la zone d'échantillonnage. Celles-ci se sont déroulées de la manière suivante :

- lors des marées de vives eaux (eaux entrantes dans les claires pour des coefficients de marée supérieurs à 70).
- après séjour de cette eau dans les claires juste avant la nouvelle marée de vives eaux (période de stabulation).

Nous avons donc pu suivre ainsi 4 cycles de stabulation des eaux, au cours des périodes hivernale et printanière.



Chacune des claires a été découpée spatialement en six sous-unités homogènes (Fig. 2). Dans chacune des sous-unités, les différents paramètres environnementaux ont été mesurés. De plus des prélèvements de sédiment ont été réalisés en fin de séjour de l'eau dans les claires, pour chaque sous-unité.

Figure 2 : Découpage spatial de la claire en six sous-unités d'échantillonnage, équivalente en superficie. (1-6 : Points de prélèvements ; B : "Bondon" alimentation en eau).



## 2-3 Suivi des paramètres environnementaux

### 2-3-1 Température, pH et oxygène dissous

Lors de chaque campagne de prélèvement, la température de l'eau de surface a été mesurée pour les deux claires aux six points d'échantillonnage décrits précédemment. Les quantités en oxygène dissous ont aussi été estimées. Ces deux paramètres ont été évalués au moyen d'un oxymètre-thermomètre de terrain (modèle WTW Oxy 196). Parallèlement, le pH était estimé avec un pH-mètre portable de terrain (modèle WTW D 812 Weilheim). Ces mesures ont été réalisées toujours à la même heure dans la journée (14 heures), afin que les conditions d'éclairement soient les plus proches.

### 2-3-2 Paramètres indicateurs de biomasse (*chlorophylle a*, *phéopigments*, *caroténoïdes*)

Pour chaque point de prélèvement, deux flacons de 500 mL d'eau sont prélevés, avec préfiltration sur toile à bluter de 150 µm de vide de maille pour éliminer le zooplancton et éviter au maximum le broutage. Les prélèvements ainsi réalisés sont stockés à l'obscurité et au froid dans des glacières isothermes avant analyse au laboratoire. Les 12 prélèvements réalisés dans chaque claire, sont ensuite filtrés après homogénéisation, sur filtre Whatman GF/F. Puis chaque filtre est congelé avant analyse suivant le protocole de Lorenzen (1967).

### 2-3-3 Sels nutritifs

Pour les six points de chaque claire, des prélèvements d'un litre d'eau sont réalisés, puis filtrés sur membrane Millipore en acétate de cellulose de 1,2 µm de vide de maille, et répartis en piluliers de 80 mL pour les dosages respectifs.

Les sels nutritifs ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{SiO}_3$ ,  $\text{PO}_4$ ) ont été dosés à l'auto-analyseur SKALAR, en évitant la phase de congélation, c'est à dire après conservation au froid et à l'obscurité au maximum 24 heures. En effet ces paramètres évoluent peu. L'azote nitrique ( $\text{NO}_3$ ) et nitreux ( $\text{NO}_2$ ) sont dosés suivant la méthode de Strickland et Parsons (1972), le silicium minéral dissous est dosé quant à lui suivant la méthode de Mullin et Riley (1955) modifiée par Strickland et Parsons (1972). Le Phosphore minéral dissous est dosé suivant la méthode de Murphy et Riley (1962).

L'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4$ ) est dosé suivant le protocole décrit par Solorzano (1969) et par Koroleff (1969), modifié par Grasshoff et Johansen (1972). Chaque prélèvement est traité immédiatement sur le terrain car la concentration en azote ammoniacal évolue très rapidement.

### 2-3-4 La matière en suspension (MES)

Pour chaque point de prélèvement, 1 flacon de 2 litres d'eau non filtrée a été prélevé et stocké à l'obscurité et au froid. Au laboratoire, après homogénéisation, 500 mL sont filtrés sur filtres Whatman GF/F de 4,7 cm de diamètre préalablement carbonisés. Après la filtration et l'élimination du sel présent sur les filtres en utilisant du formiate d'ammonium ( $35 \text{ g.L}^{-1}$ ), on réalise une pesée (P1). Une nouvelle pesée a lieu après passage des filtres 24 heures à 60 °C à l'étuve (P2), permettant d'obtenir la quantité de matière en suspension (MES ou seston total (P2-P1)). Les filtres sont ensuite

passés 4 heures à 400 °C afin d'éliminer la matière organique particulaire ; une nouvelle pesée (P3) après refroidissement des filtres, est réalisée. Par différence on obtient la quantité de seston organique (P2-P3) et de seston minéral (P3-P1).

## **2-4 Suivi des populations de diatomées de deux claires ostréicoles du marais expérimental de la station IFREMER La Tremblade.**

### **2-4-1 Echantillonnage**

Les claires, comme nous l'avons vu, ont été découpées en six sous-unités équivalentes en superficie. Chaque sous-unité a été échantillonnée au niveau de la colonne d'eau, mais aussi au niveau du sédiment par carottage lors des différentes dates de prélèvements.

#### **2-4-1-1 Le contingent phytoplanctonique**

Dans chaque sous-unité, un flacon de 1 litre est prélevé en l'immergeant sous la surface de l'eau. L'échantillon est ensuite fixé avec 20 mL de formol soit une concentration finale de 2 %.

#### **2-4-1-2 Le contingent benthique**

Des carottages à la main sont réalisés avec des tubes PVC de 15 cm de long pour un diamètre interne de 2.6 cm. Ces tubes sont enfoncés dans le sédiment puis obturés par des bouchons. De retour au laboratoire, après élimination de l'eau surnageante, le centimètre superficiel est récupéré et congelé pour une analyse ultérieure.

### **2-4-2 Tri des diatomées**

#### **2-4-2-1 Echantillons de la colonne d'eau**

Les flacons d'un litre, après fixation au formol sont stockés une dizaine de jours et laissés à décanter. Après cette phase de sédimentation, l'eau surnageante est éliminée par siphonnage. Seulement 80 mL sont alors récupérés dans un pilulier, constituant l'échantillon à analyser, ce qui permet un stockage plus facile des échantillons. Les identifications et les dénombrements sont réalisés au microscope inversé avec chambre de sédimentation, en empruntant la méthode d' Utermöhl (1958).

#### **2-4-2-2 Le microphytobenthos**

Les échantillons sont décongelés, puis un tri gravimétrique dans un gel de silice (Ludox HS 40%) suivant la méthode de De Jonge et Bouwman (1977) et améliorée par Blanchard *et al.* (1988), permet de ne retenir dans le surnageant après une centrifugation à 5000 tr/min, que les frustules de diatomées. En effet ces derniers possèdent une densité équivalente à celle du gel. Les diatomées ainsi extraites du sédiment, qui se retrouve dans le culot, sont alors dénombrées par la technique d' Utermöhl (1958). Cependant le protocole a été aménagé, en diluant le surnageant (Ludox) dans de



l'eau distillée formolée à 2%, puis concentré en éliminant le surnageant par siphonnage comme pour les échantillons de la colonne d'eau.

### **2-4-3 Identification et dénombrement**

Le nombre important d'analyses ainsi que la longueur des dénombrements et identifications nous a amenés à sous échantillonner la chambre de sédimentation. Ainsi seulement 1/11<sup>e</sup> de cette dernière a été observé, ce qui constitue 41 champs optiques au microscope inversé, avec un objectif X10 (Rincé, 1993). L'utilisation des coordonnées de positionnement du chariot de la platine du microscope a permis ainsi de définir 41 champs optiques aléatoires. Seul les individus présentant des organites et des structures cytoplasmiques en bon état ont été pris en compte lors des dénombrements.

### **2-4-4 Evolution du peuplement dans les deux claires**

Pour caractériser le peuplement de diatomées des deux claires étudiées, nous avons retenu plusieurs indices écologiques. Basés sur la théorie de l'information de Margalef (1958), les calculs des différents indices (Daget, 1976), nous ont conduits à choisir l'indice de diversité de Shannon (H') relatif à un échantillon :  $H' = - \sum p_i \log_2 p_i$  avec  $p_i = n_i / N$  = fréquence relative de l'espèce  $i$  et  $N$  la somme des individus des  $i$  espèces.

Afin de comparer les structures des peuplements observés, un autre indice sera utilisé, il s'agit de l'équitabilité (E) qui est le rapport entre l'indice de diversité de Shannon et l'indice de diversité maximal théorique :  $E = H' / \log_2 N$ .

## **2-5 Tests biologiques - Enrichissements différentiels**

Pour chaque campagne, l'eau est prélevée dans chaque claire et filtrée sur place sur membrane en acétate de cellulose de 1,2  $\mu\text{m}$  de vide de maille (Préfiltration et Filtration), puis répartie dans 2 bidons de 25 litres (1 bidon par claire). Les échantillons ainsi récoltés, sont acheminés dans les meilleurs délais au laboratoire de Biologie Marine de Nantes et stockés en chambre froide durant la nuit. Le lendemain matin, une nouvelle filtration est réalisée sur membrane en acétate de cellulose de 0,45  $\mu\text{m}$  de vide de maille (Préfiltration et Filtration).

L'eau est ensuite répartie dans 24 Erlenmeyers (300 mL/Erlenmeyers de 500 mL), préalablement autoclavés. Des enrichissements sont réalisés, empruntant des concentrations identiques à celles du milieu synthétique ES de Provasoli dilué au 1/3 selon Robert (1983); leurs compositions figurent dans le Tableau 1. L'expérience a été réalisée en triplicata (témoin et les 7 enrichissements) soit 24 erlenmeyers, et ce pour les deux claires.

Les concentrations utilisées (Tableau 1) sont supérieures à celles des nutriments contenus dans l'eau de mer en général, afin que l'enrichissement se traduise par une croissance significativement plus forte que celle observée sur l'eau non enrichie et suffisamment faible pour que les voies métaboliques de l'assimilation soient les mêmes qu'*in situ*.

Parallèlement, un inoculum d'*H. ostrearia* est préparé 7 jours avant l'ensemencement, afin d'obtenir une biomasse suffisante. Cet inoculum est passé 48 heures sur eau de mer pauvre, afin d'épuiser les cellules algales de leurs réserves potentielles (Berland *et al.* 1973, Maestrini et Robert, 1981). Ensuite, cette culture axénique de navicules est introduite dans les 24 erlenmeyers à une

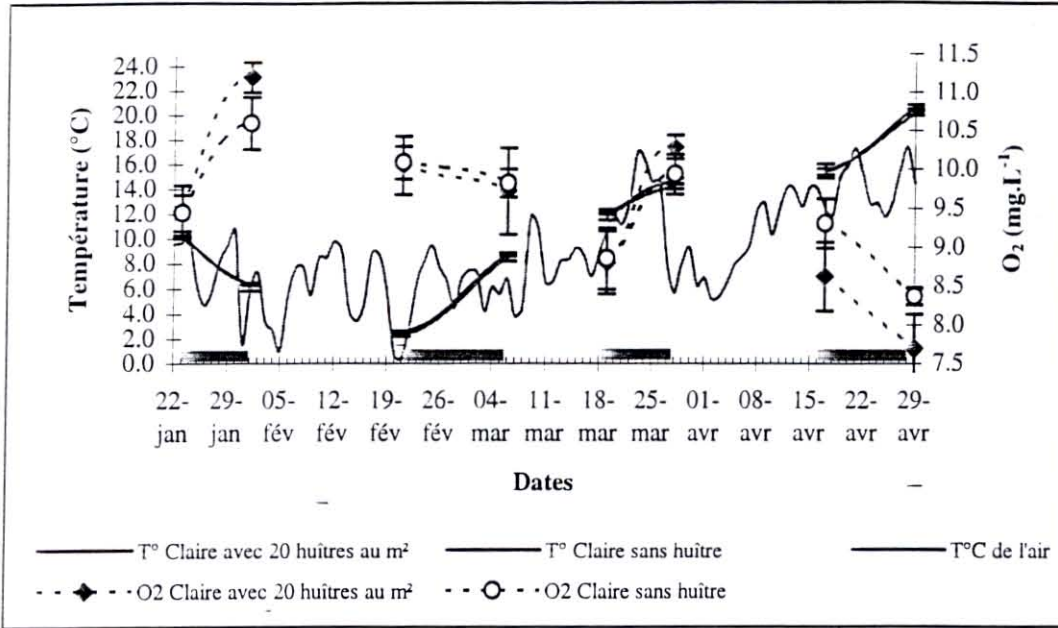


Figure 3 : Evolution au cours du temps de la température et de la teneur en oxygène des eaux superficielles des deux claires étudiées (intervalle de confiance sur la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) (■ : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation)).

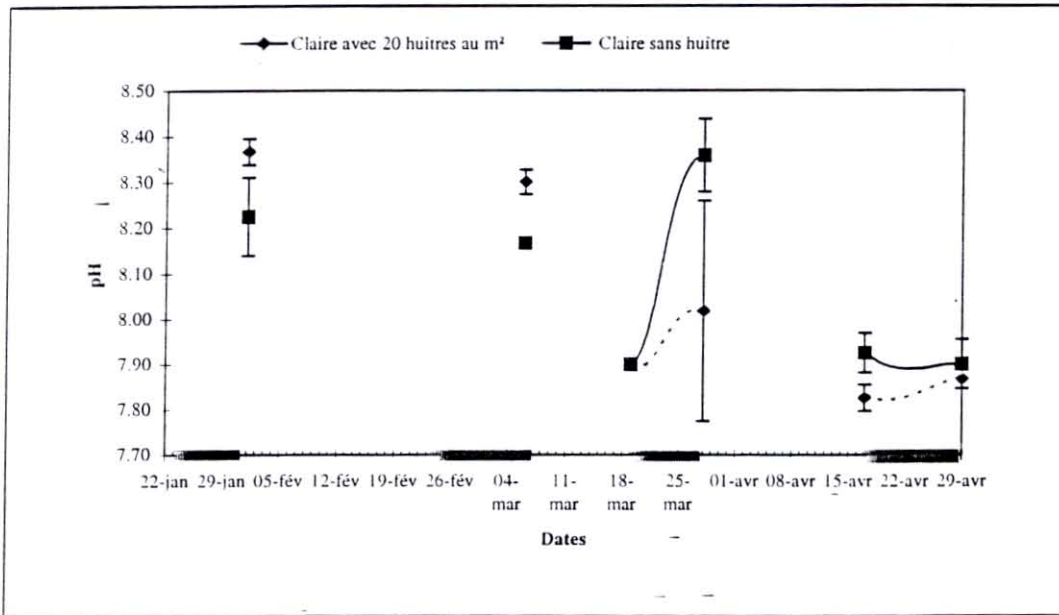


Figure 4 : Evolution au cours du temps du pH des eaux superficielles des deux claires étudiées (intervalle de confiance sur la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) (■ : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation) ; le 23/1/96 et le 21/2/96, les mesures n'ont pu être réalisées : appareil défaillant).



concentration de 2000 cellules.mL<sup>-1</sup>. Les cultures ainsi mises en place sont maintenues à température constante de 16°C, sous un éclairage de 2000 lux, avec un rythme jour-nuit de 14h-10h.

Tableau 1 : Nature et concentration des éléments et composés utilisés pour la réalisation d'enrichissement.

Nature et concentration des éléments et composés après enrichissement		Forme Chimique utilisée	Composition des enrichissements
			Témoin
N	100 µM	NaNO <sub>3</sub>	N
			P
			Si
P	6.25 µM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 3 H <sub>2</sub> O	N+P
			N+Si
Si	100 µM	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> , 5 H <sub>2</sub> O	P+Si
			N+P+Si

Après six jours de culture, on réalise des numérations cellulaires sur les 48 erlenmeyers puis la culture est filtrée. Les filtrats récupérés et les concentrations en NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, SiO<sub>3</sub>, et PO<sub>4</sub> sont immédiatement estimées à l'auto-analyseur SKALAR, l'azote ammoniacal (NH<sub>4</sub>) étant dosé manuellement afin d'éviter la congélation des échantillons.

Les cultures sont simultanément filtrées aussi sur filtre GF/F de 2.5 cm de diamètre, pour estimer les teneurs en chlorophylle *a*, caroténoïdes, phéopigments, CHN.

### 3 Résultats

#### 3-1 Variations des paramètres T°, Oxygène et pH

Les températures varient au cours du temps de façon similaire dans les deux claires (Fig. 3). Elles sont comprises entre 2,3 °C le 21 février (Hiver), et 20,8 °C le 29 avril (Printemps). Les teneurs en oxygène dissous sont comprises entre 7,7 mg.L<sup>-1</sup> (29 avril) et 11,2 mg.L<sup>-1</sup> (1<sup>er</sup> février) pour la claire contenant des huîtres; entre 8,4 mg.L<sup>-1</sup> (29 avril) et 10,6 mg.L<sup>-1</sup> (1<sup>er</sup> février) pour la claire sans huître.

On peut remarquer la présence de deux pics en oxygène dissous (le 1<sup>er</sup> février et le 28 Mars) correspondant à des fins de séjour de l'eau dans les claires. Comme nous le verrons plus tard, ils correspondent aussi à des teneurs importantes en pigments totaux (Chl. *a* + phéopigments), c'est à dire à deux blooms de microalgues.

Le pH varie entre 7,8 et 8,4 dans les deux claires, ces valeurs légèrement basiques correspondent à la gamme de valeurs trouvées par Robert (1983) pour les eaux des claires de la baie de Bourgneuf. Bien que certaines données soient absentes, on peut quand même dire que lors des fins de séjour de l'eau (01/02/96, 06/03/96, 28/03/96) les différences sont plus marquées entre les deux claires (Fig. 4). Ceci s'explique par des mécanismes chimiques et biologiques propres à chaque claire.

Par exemple, si on regarde les valeurs de pH le 28/3/96, date correspondant à un bloom phytoplanktonique, on s'aperçoit que le pH est plus élevé dans la claire sans huîtres. En effet le pH, comme l'oxygène sont associés, par l'intermédiaire du CO<sub>2</sub>, à l'équilibre acido-basique. Dans la journée, l'activité photosynthétique est importante, ce qui conduit à une production d'O<sub>2</sub> et une diminution du CO<sub>2</sub>, ce qui se traduit par une augmentation du pH. Les teneurs en pigments totaux étant plus importantes dans la claire sans huître, l'activité photosynthétique y est plus importante, le pH y est donc plus élevé.

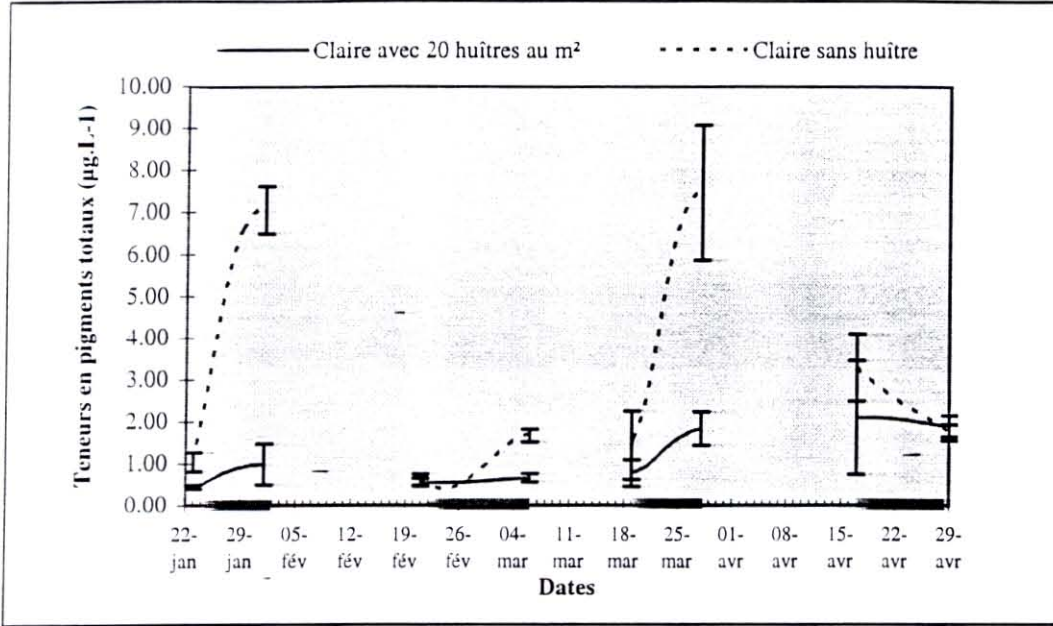


Figure.5 : Evolution au cours du temps des teneurs en pigments totaux des eaux superficielles des deux claires étudiées (intervalle de confiance sur la moyenne des six points de prélèvement dans la claire)(■ : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation).

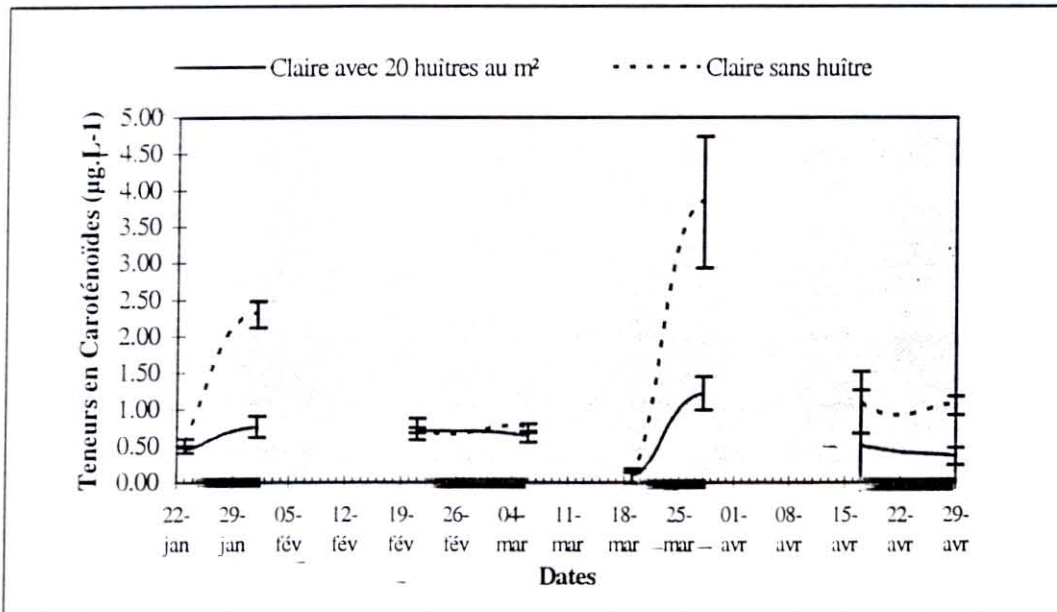


Figure 6 : Evolution au cours des teneurs en pigments caroténoïdes des eaux superficielles des deux claires étudiées (intervalle de confiance sur la moyenne des six points de prélèvement dans la claire)(■ : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation).



### 3-2 Variations des paramètres indicateurs de biomasse (chlorophylle *a*, phéopigments, caroténoïdes).

*Les teneurs en chlorophylle *a* et phéopigments ont été ajoutées ; on utilisera le terme de pigments totaux pour décrire l'évolution de ces deux paramètres ; en effet les phéopigments sont les produits de dégradation de la chlorophylle.*

On remarque tout de suite des différences importantes entre les deux claires pour les teneurs en pigments totaux (Fig. 5). La claire contenant les huîtres ayant des teneurs en pigments totaux nettement inférieures à celles de la claire sans huîtres sauf aux périodes d'échantillonnage correspondant à l'alimentation en eau (23/01/96, 06/03/96, 19/03/96, 17/04/96). Dans la claire contenant les huîtres, presque toute la production planctonique est consommée. En supposant que les deux claires aient une production planctonique équivalente, lors des deux périodes de stabulation de l'eau (23/01 au 01/02 et 19/3 au 28/03) ce serait 76,7 % en moyenne de cette production qui serait consommée par les huîtres, tandis que seulement 36,7 % de cette production serait consommée pour la période du 21/02 au 06/03, consommation plus faible pouvant s'expliquer par des températures basses. En effet le 21/02, la température moyenne était de 2,3°C avant qu'elle ne remonte à 8,5 °C le 06/3, durant cette période les températures plus faibles auraient ralenti le métabolisme des mollusques, ce n'est qu'une hypothèse qui pourraient être confirmée par l'examen des températures de l'air. En effet entre ces deux dates, la température moyenne de l'air est de 6,0°C durant la journée.

Comme pour les pigments totaux, les teneurs en pigments caroténoïdes (Fig. 6) présentent des différences importantes entre les deux claires. La claire ne contenant pas d'huîtres présente des teneurs plus importantes que la claire contenant des huîtres. Les variations sont similaires à celles des pigments totaux. La différence observée entre les deux claires souligne donc un impact des huîtres sur ces deux facteurs, impact direct sur les populations algales *via* la consommation du phytoplancton par les mollusques.

### 3-3 Variations de la matière en suspension (MES)

Les paramètres décrivant l'évolution de la matière en suspension (Seston total, Seston organique, et Seston minéral, ainsi que le rapport Seston organique sur Seston total) sont présentés sur les figures 7, 8, 9, 10. On peut remarquer qu'il existe des différences entre les deux claires. Lors des périodes de stabulation (séjour de l'eau dans les claires), on s'aperçoit que seston total et seston minéral diminuent, surtout pour la claire ne contenant pas les huîtres. Pour la claire où la densité est de 20 huîtres au m<sup>2</sup>, on retrouve ce phénomène pour les deux premières périodes (23/01 au 1/02 et du 21/02 au 6/03), alors que pour les deux dernières périodes de stabulation il y a augmentation de ces deux paramètres.

En réalisant une analyse de variance sur les données de Seston organique (MOP), on se rend compte comme sur la figure 7, que même s'il existe des différences entre les différentes périodes de stabulation, il n'y a pas de différence significative entre le moment où l'eau entre dans la claire et après son séjour (les résultats sont consignés dans les graphiques suivants, décrivant les résultats d'une comparaison multiple (méthode de Dunn) entre les différentes dates de prélèvements. • : différence significative  $p < 0,05$ )).

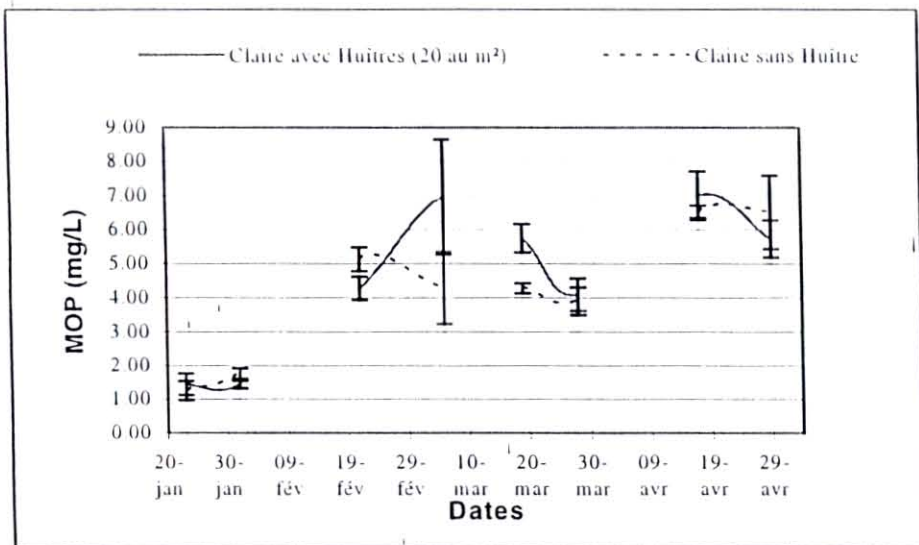


Fig. 7 : Evolution du Seston organique (MOP) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

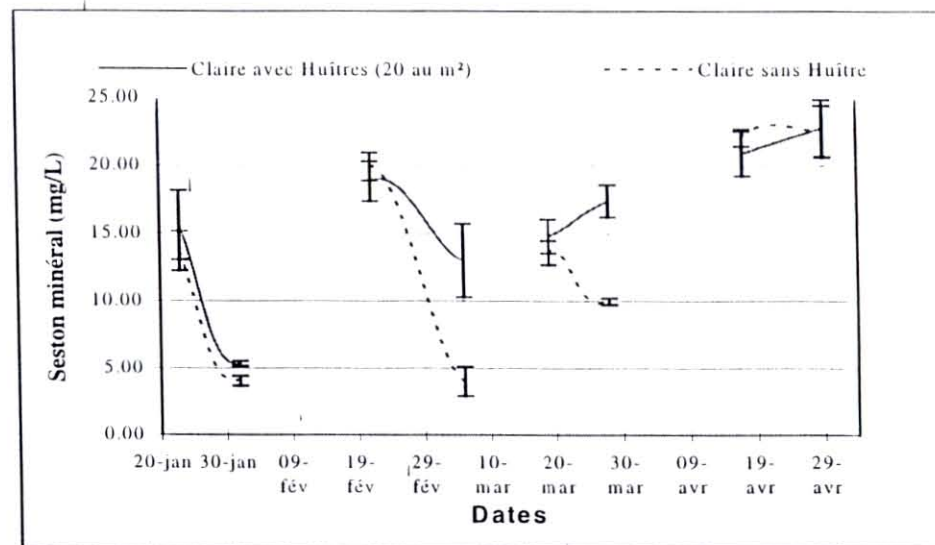


Fig. 8 : Evolution du Seston Minéral (MIP) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

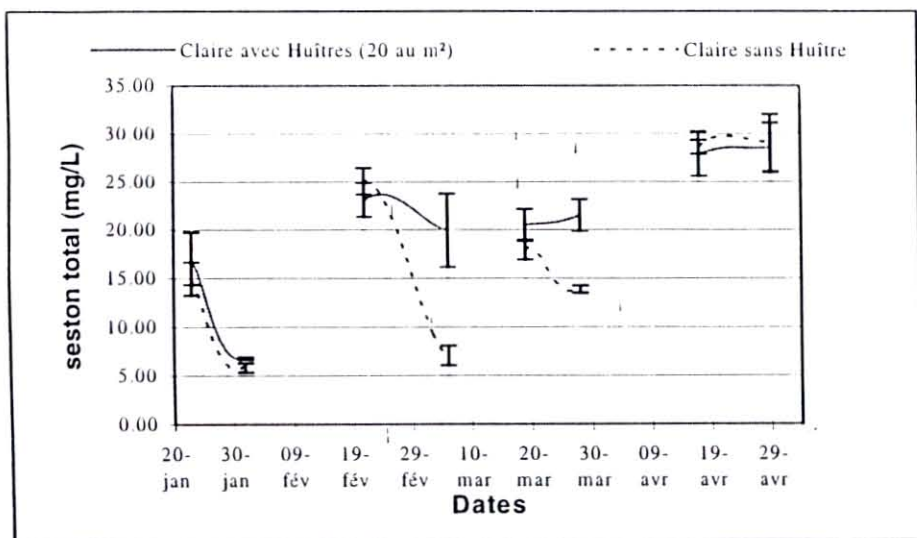


Fig. 9 : Evolution du Seston total (MES) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

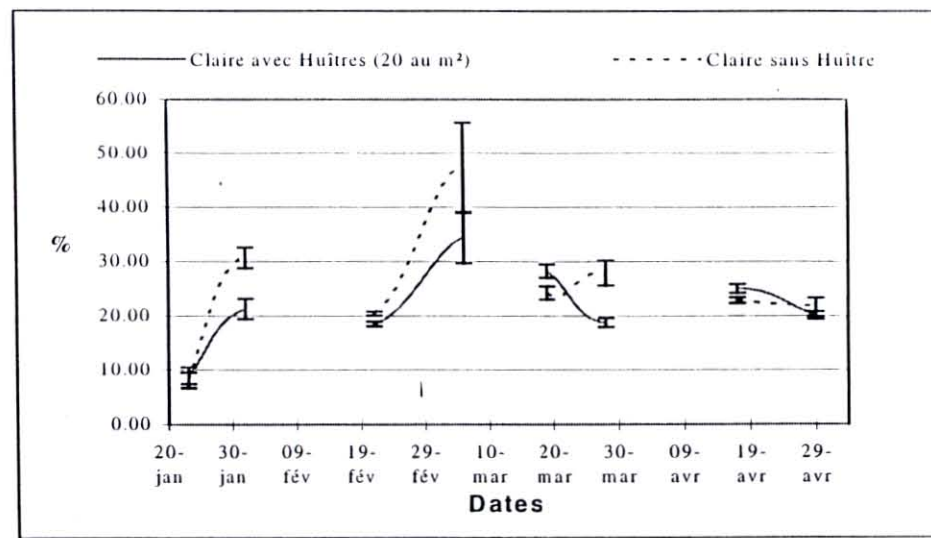
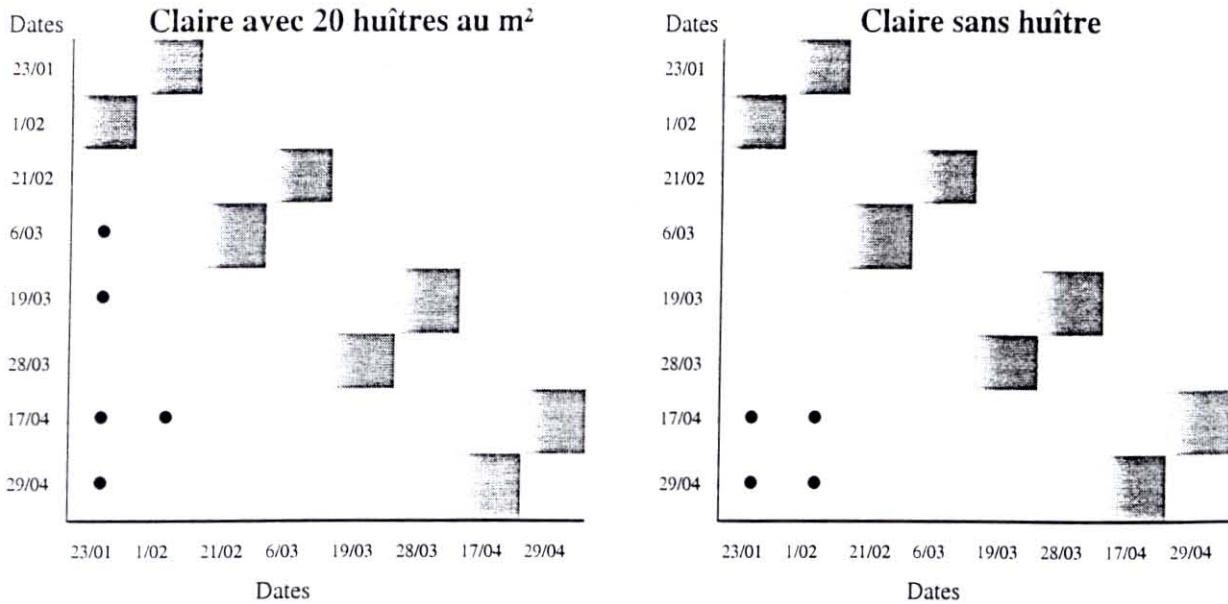


Fig. 10 : Evolution du rapport Seston organique sur Seston total (en %) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)





Les résultats des comparaisons multiples par la méthode de Dunn, après analyse de variance, montrent qu'il existe des différences significatives entre certaines dates ( $p < 0,05$ ), cependant lors des cycles de stabulations (périodes grisées) il n'y a pas de différences significatives entre les eaux entrantes et les eaux ayant séjourné dans les claires, la matière organique particulaire n'évolue donc pas lors de la phase de stabulation de l'eau, et ce pour les deux claires.

Si l'on s'intéresse à l'évolution du rapport entre seston organique sur seston total, on remarque que ce rapport varie entre 15 et 30 % pour la période printanière (du 20 Mars au 29 Avril), les différences entre les deux claires ne semblent pas significatives pour les mêmes dates d'échantillonnage.

De plus on notera que le seston minéral représente une part importante de la matière en suspension (Seston total) entre 90 et 65 % toutes dates confondues. On peut essayer de comparer les deux claires en réalisant une régression linéaire entre seston total et seston organique, et en comparant les deux droites de régression (pente et ordonnées à l'origine) (Fig. 11). L'examen des deux régressions semble montrer qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux claires. L'analyse statistique des régressions est résumée dans le tableau 3.

Pour comparer les deux droites, il est nécessaire de vérifier tout d'abord l'équivalence ; ensuite un test de Student est réalisé sur les pentes ainsi que sur les ordonnées à l'origine (tableaux 4 et 5).

Tableau 3 : Statistiques et analyses de variance des régressions entre le seston total et le seston minéral pour les deux claires. (a : pente,  $S_a$  : écart-type sur a, b : ordonnée à l'origine,  $S_b$  : écart-type sur b, n : nombre d'observations,  $R^2$  : coefficient de détermination, F : Résultat du test de Fisher, p : probabilité (valeur critique de F), \*\*\* :  $p < 0.001$ ).

	a	$S_a$	b	$S_b$	n	$R^2$	F	p
Claire avec Huîtres	0.7606	0.032	0.3494	0.718	44	0.9309	566.2	***
Claire sans Huître	0.7993	0.021	-0.5096	0.411	45	0.9721	1495.9	***

Dans les deux claires, on remarque que 93 % et 97 % de la variabilité du seston minéral est expliqué par la variabilité seston total, les tests F sont très significatifs soulignant la forte significativité des deux régressions. Si l'on calcule les coefficients de corrélation R, on obtient

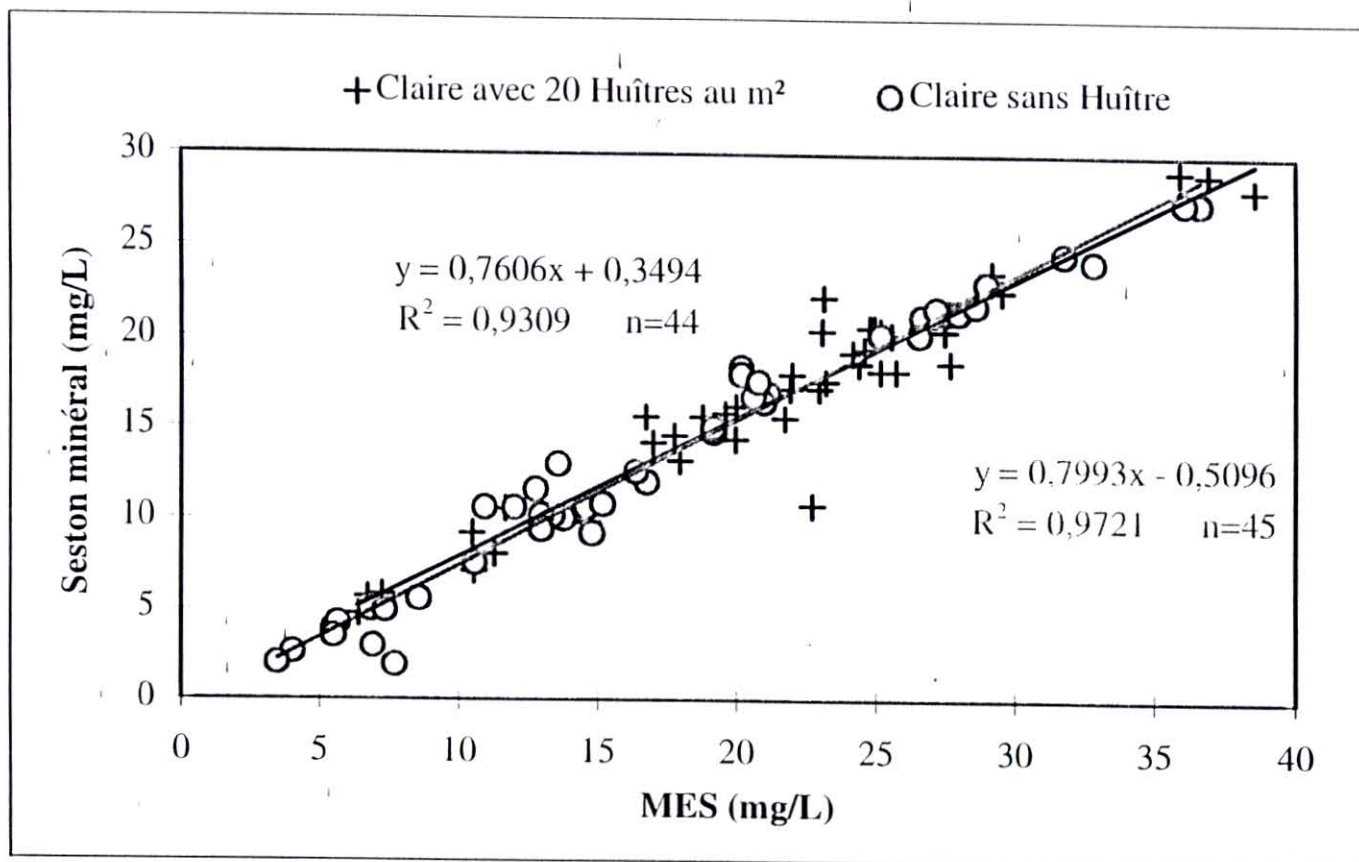


Fig. 11 : Régressions linéaires entre le Seston total (MES) et le Seston minéral (MIP) pour les deux claires toutes périodes d'échantillonnage confondues.



respectivement pour la claire avec 20 huîtres au m<sup>2</sup> et la claire sans huître les valeurs de 0,964 et 0,986, il y a donc une forte corrélation entre seston minéral et seston total.

Tableau 4 : Résultats du test d'équivalence,  $S_{(y/x)}^2$  : Variance résiduelle,  $F_{obs}$  : rapport des variances résiduelles (Variance la plus forte au numérateur),  $F_{théo}$  : Valeur théorique fournie par la table de Fisher pour un risque de 0.5 % (les tables de Fisher varient en général de 1 à  $\infty$ ) et des degrés de liberté  $v_1=n_1-2$  et  $v_2=n_2-2$ , p : probabilité (valeur critique de F), n.s : non significatif.

	$S_{(y/x)}^2$	$D_x$	$F_{obs}$	$F_{théo}$	p
Claire avec Huîtres	2.823	2763.43	1.805	2.234	n.s
Claire sans Huître	1.564	3662.79			

Les variances étant homogènes  $F_{obs} < F_{théo}$  on peut comparer les pentes et les ordonnées à l'origine des deux régressions (tableau 5).

Tableau 5 : Résultats des tests T sur les pentes et les ordonnées à l'origine.  $T_{obs}$  : Valeur du test T observée,  $T_{théo}$  : Valeur du test T fournie par la loi de Student à 5% pour un nombre de degré de liberté  $\sqrt{v} = n_1+n_2-4$ , ns : non significatif.

	$T_{obs}$	$T_{théo}$	p
Comparaison des pentes	1.039	1.988	n.s
Comparaison des ordonnées à l'origine	1.038	1.988	n.s

On peut donc conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux régressions donc entre les deux claires vis à vis de corrélation entre seston minéral et seston total.

### 3-4 Variations des concentrations en sels nutritifs

#### 3-4-1 Les nitrites, nitrates et ammoniacque

Pour les nitrites et les nitrates (figures 13 et 14), l'évolution suit le rythme d'alimentation en eau des claires, avec une diminution des teneurs lors des phases de stabulation (séjour de l'eau dans les claires), diminution engendrée par l'utilisation de ces sels nutritifs par les micro-algues et macrophytes présentes. A certaines dates, on observe des différences significatives (Tableau 6) entre les deux claires mais les évolutions sont similaires (fig. 13 et 14). Les teneurs en nitrates varient entre 40 et 14  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en période d'alimentation des claires, et entre 2 et 0,7  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  après séjour de l'eau dans les claires. Les teneurs en nitrites varient entre 0,39 et 0,29  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en période d'alimentation des claires, et entre 0,05 et 0,19  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  après séjour de l'eau dans les claires.

Pour l'azote ammoniacal (Fig. 12), on remarque qu'il n'y a plus de cyclicité par rapport au rythme d'alimentation des claires. De plus, des différences très significatives s'observent entre les deux claires, en effet les teneurs en  $\text{NH}_4$  sont plus fortes dans la claire contenant des huîtres, ceci pouvant s'expliquer par l'excrétion d'ammoniacque par les mollusques.

Si l'on regarde l'évolution de l'azote total dissous ( $\text{NH}_4 + \text{NO}_2 + \text{NO}_3$ ) (Fig. 15) on s'aperçoit qu'il n'y a pas de différence avec l'évolution de la concentration en nitrates. On remarquera cependant, comme pour les nitrates, qu'au cours de la saison, les concentrations diminuent pour les eaux entrantes, ceci s'explique par les floraisons microalgales printanières ayant lieu au sein même du bassin de Marennes, et engendrant un appauvrissement de ces eaux côtières en azote au cours de la saison d'étude.

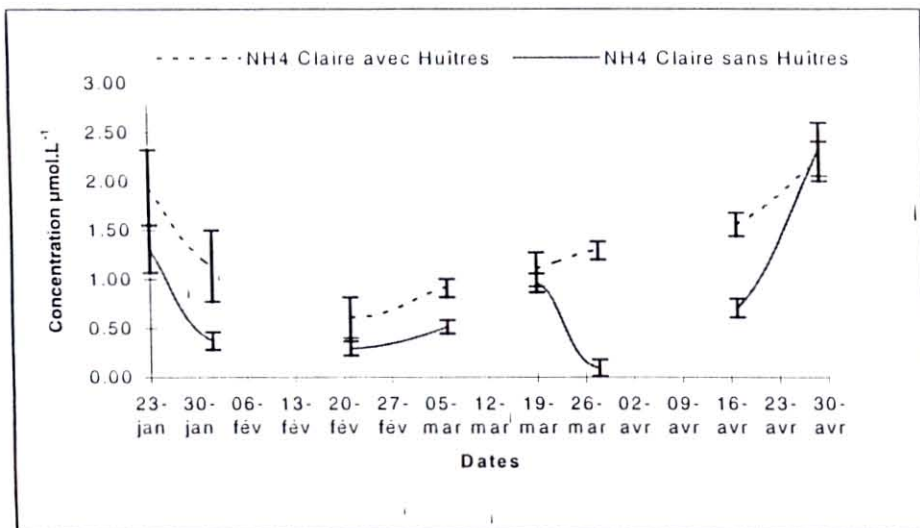


Fig. 12 : Evolution de la concentration en azote ammoniacal ( $\text{NH}_4$ ) dans les deux claires. (Barres : intervalle de confiance 95 %)

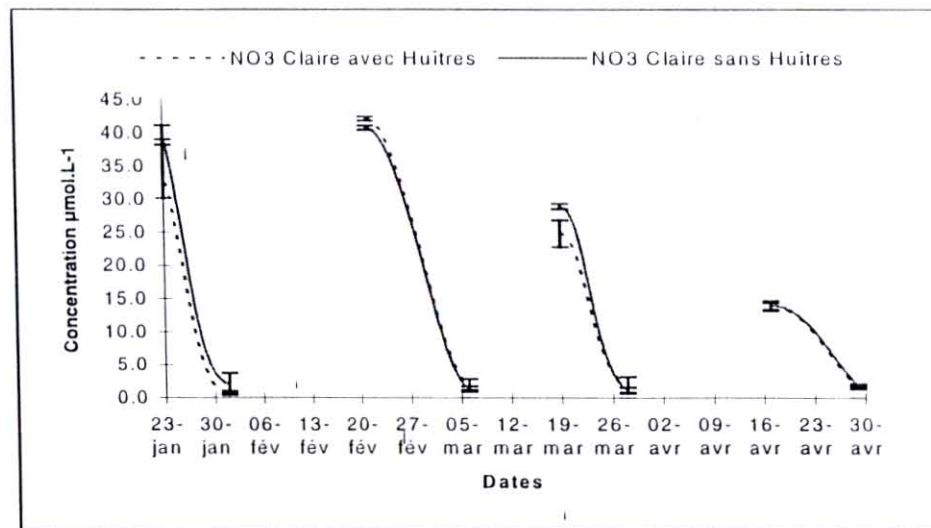


Fig. 14 : Evolution de la concentration en azote nitrique ( $\text{NO}_3$ ) dans les deux claires. (Barres : intervalle de confiance 95 %)

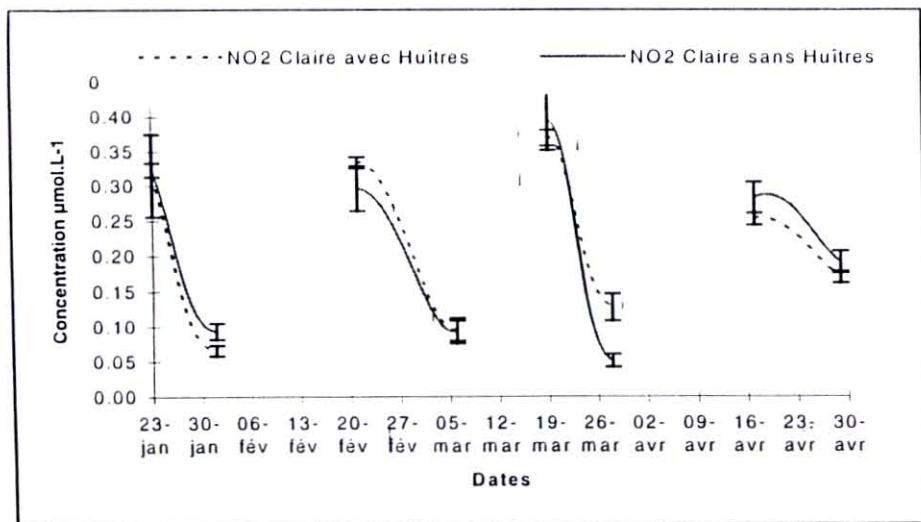


Fig. 13 : Evolution de la concentration en azote nitreux ( $\text{NO}_2$ ) dans les deux claires. (Barres : intervalle de confiance 95 %)

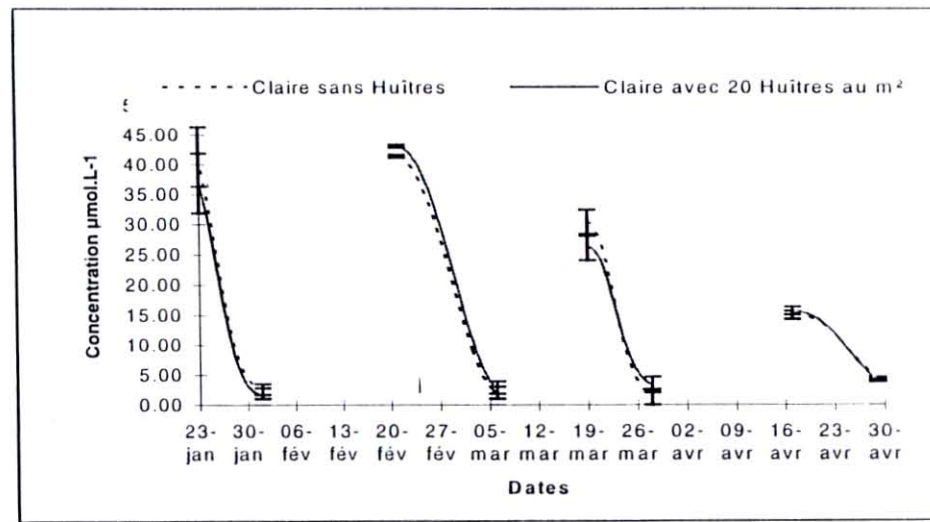


Fig. 15 : Evolution de la concentration en azote total dissous ( $\Sigma\text{N}$ ) dans les deux claires. (Barres: intervalle de confiance 95 %)



Tableau 6 : Résultats des tests de Student, comparaisons entre les deux claires des teneurs en sels nutritifs observées aux différentes dates de prélèvements (n.s : non significatif, \* : p< 0.05, \*\* :p < 0.01, \*\*\* : p< 0.001)

dates	23/01	1/02	21/02	6/03	19/03	28/03	17/04	29/04
NO <sub>2</sub>	n.s	***	**	n.s	n.s	***		*
NO <sub>3</sub>	*	*	***	n.s	***	n.s	n.s	***
NH <sub>4</sub>	**	***	**	***	n.s	***	***	n.s
SiO <sub>3</sub>	n.s	***	***	***	n.s	***	n.s	***
PO <sub>4</sub>	***	n.s	n.s	***	n.s	***	***	**

### 3-4-2 Les phosphates

Comme précédemment, on remarque que les concentrations en phosphates (Fig. 16) évoluent de façon cyclique avec des concentrations qui diminuent lors des périodes de stabulation. Il y a bien là encore une consommation en phosphates de la part des microalgues présentes dans les claires. L'examen du tableau 6, montre que malgré des évolutions similaires des concentrations dans les deux claires, il existe des différences statistiques entre les concentrations des deux claires pour les mêmes dates de prélèvements. Les teneurs en phosphates varient entre 1,2 et 0,3  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en période d'alimentation des claires, et entre 0,52 et 0,14  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  après séjour de l'eau dans les claires.

### 3-4-3 Les silicates

Comme pour les phosphates, les concentrations en silicates suivent une évolution cyclique avec une diminution des teneurs après séjour de l'eau dans les claires soulignant encore une utilisation de cet élément par les microalgues (Fig. 17). Pour cet élément, là encore, les concentrations évoluent de façon identique dans les deux claires, mais statistiquement il existe des différences hautement significatives pour certaines dates (Tableau 6). Les teneurs en silicates varient entre 40,7 et 6,9  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  en période d'alimentation des claires, et entre 5,8 et 13  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  après séjour de l'eau dans les claires.

### 3-4-4 Utilisation des sels nutritifs par les micro-algues dans les deux claires

Si l'on met en rapport l'évolution des teneurs en pigments totaux et caroténoïdes, ainsi que l'évolution des concentrations en sels nutritifs, il est aisé de remarquer que lors des phases de stabulation la diminution globale des éléments nutritifs s'accompagne par une augmentation des valeurs des estimateurs de biomasse.

On peut également suivre l'évolution des rapports entre sels nutritifs dans les deux claires, c'est à dire le rapport  $\Sigma\text{N}/\text{P}$ ,  $\Sigma\text{N}/\text{Si}$ , et  $\text{Si}/\text{P}$ , en ayant pour références les valeurs de Redfield (1934) pour ces rapports (Fig. 18, 19, 20).

La figure 18 décrivant l'évolution du rapport azote total sur phosphore, montre que ce rapport est toujours supérieur à 16 ( valeur de références pour les eaux marines océaniques) lors de l'alimentation en eau des claires. Après stabulation de l'eau la valeur de ce rapport tend vers 16, et se retrouve même inférieure à cette valeur. On peut donc dire que les eaux côtières du bassin de Marennes-Oléron qui correspondent aux eaux d'alimentation des claires présentent un déficit en

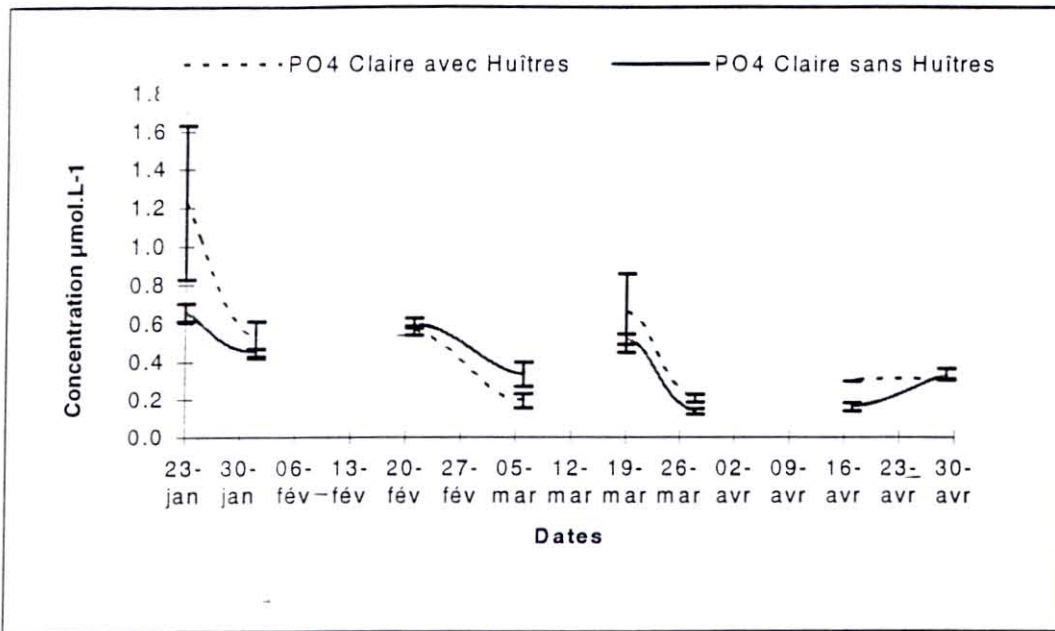


Fig. 16 : Evolution de la concentration en phosphate dissous (PO<sub>4</sub>) dans les deux claires. (Barres : intervalle de confiance 95 %)

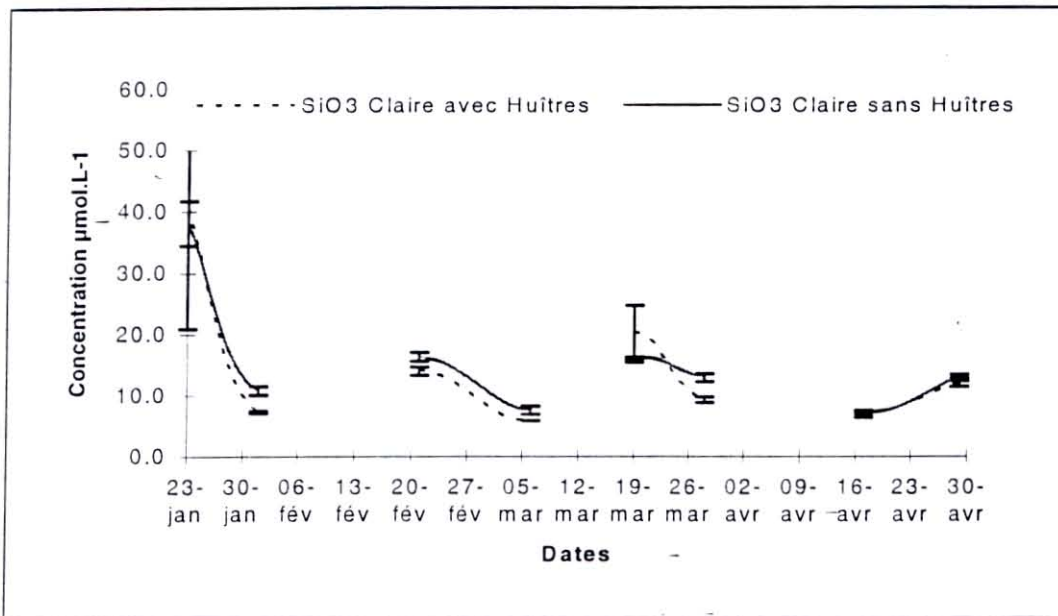


Fig. 17 : Evolution de la concentration en Silicates dissous (SiO<sub>3</sub>) dans les deux claires. (Barres : intervalle de confiance 95 %)



phosphore par rapport à l'azote total. la chute du rapport après stabulation traduit l'utilisation massive de l'azote par les micro-algues.

La figure 19 représentant l'évolution du rapport azote total sur Silicium, ce rapport oscille entre 3 (période d'alimentation en eau) et 0,2 (après séjour de l'eau). Ce rapport est toujours supérieur à 1 lors de l'alimentation en eau traduisant un déficit du silicium par rapport à l'azote lorsque l'eau est renouvelée dans les claires. Après séjour de l'eau dans les claires, l'azote total se retrouve en déficit par rapport au silicium, pas totalement utilisé lors des développements phytoplanctoniques dans les claires. On peut penser que d'autres algues que les diatomées interviennent en utilisant l'azote, conduisant ainsi à ce déficit de la quantité d'azote dissous total.

La figure 20 décrivant l'évolution du rapport silicium sur phosphore, montre que ce rapport est en général toujours supérieur à 16 quelle que soit la date dans le cycle d'alimentation des claires. Ce rapport varie fortement surtout dans la claire sans huîtres, où la consommation du phytoplancton par les mollusques est nulle. Dans tous les cas le phosphore se retrouve en déficit par rapport au silicium, avec des écarts plus ou moins importants.

L'azote semble donc être l'élément nutritif le plus abondant dans les eaux d'alimentation des claires, le silicium ainsi que les phosphates, se retrouvant à chaque fois en déficit par rapport aux formes azotées dissoutes.

Le développement des micro-algues semble donc sous le contrôle des teneurs en silicium et en phosphates, puisque lors des phases d'alimentation des claires en eaux, ces éléments sont en déficit par rapport à l'azote minéral dissous total.

### 3-4-5 Relations entre les différents paramètres hydrologiques et physico-chimiques

Les résultats concernant les paramètres hydrobiologiques sont consignés dans le tableau 7. On peut voir (cases gris clair), que chaque paramètre évolue de la même façon dans les deux claires (présence d'huîtres ou pas), en effet toutes les corrélations sont positives et significatives au seuil de 5%.

Cependant on remarquera que pour certains paramètres, l'ammoniaque ( $\text{NH}_4$ ), Chlorophylle *a* + Phéopigments (Chl *a* + Phéo), Matière en suspension (MES), Matière organique particulaire (MOP), et seston inorganique (MIP), ces corrélations entre les deux claires sont plus faibles que pour les autres paramètres, soulignant donc un impact des huîtres via les mécanismes d'excrétion ( $\text{NH}_4$ ), de filtration (MES, MOP, MIP), et de consommation du phytoplancton (Chl *a* + Phéo).

Si l'on s'intéresse à l'ammoniaque, dans la claire contenant les huîtres, ce paramètre est corrélé avec aucun autre sel nutritif. Il est corrélé fortement avec la température (0,709), et ceci plus que dans la claire sans huître (0,477). La température augmentant, le métabolisme des bivalves augmente, l'excrétion augmente elle aussi, ou inversement.

La chlorophylle *a* et les phéopigments, indicateurs de la production phytoplanctonique dans les deux claires peuvent aussi apporter une information intéressante. L'évolution de ce paramètre dans les deux claires (cf. Figure 5), montre en effet pour 3 campagnes de prélèvements sur 4 une augmentation des teneurs, avec une différence importante entre les deux claires (teneurs plus faibles dans la claire avec des huîtres). La matrice de corrélation nous montre que ce paramètre évolue de la même façon dans les deux claires, nous l'avons signalé précédemment ( $R=0,57$ ). Le tableau 8 résume la relation existante entre l'évolution des teneurs en Chl *a* et phéopigments et les sels nutritifs dans les claires.

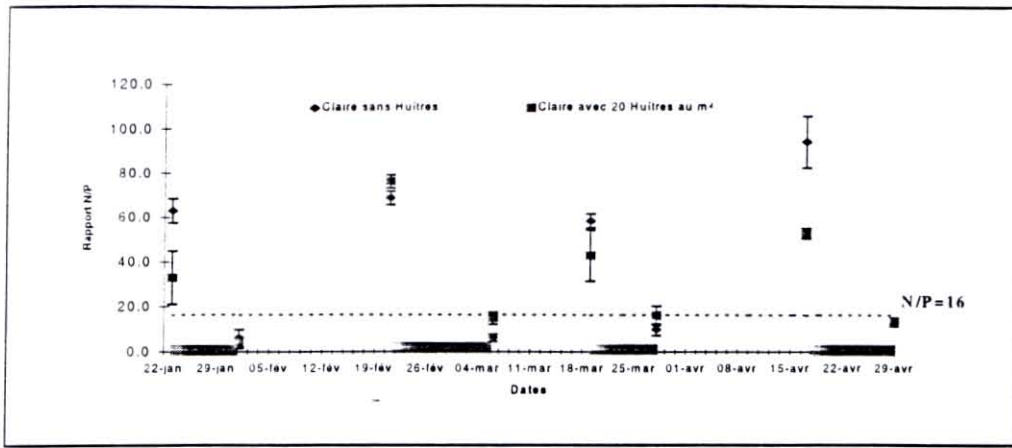


Figure 18 : Evolution au cours du temps du rapport Azote total sur Phosphore (intervalle de confiance (95 %) sur la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) (■ : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation)).

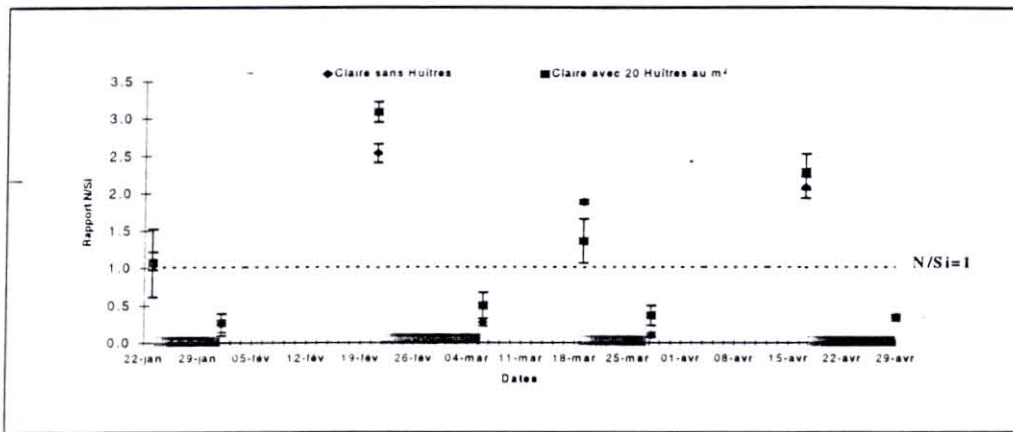


Figure 19 : Evolution au cours du temps du rapport Azote total sur Silicium (intervalle de confiance (95 %) sur la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) (■ : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation)).

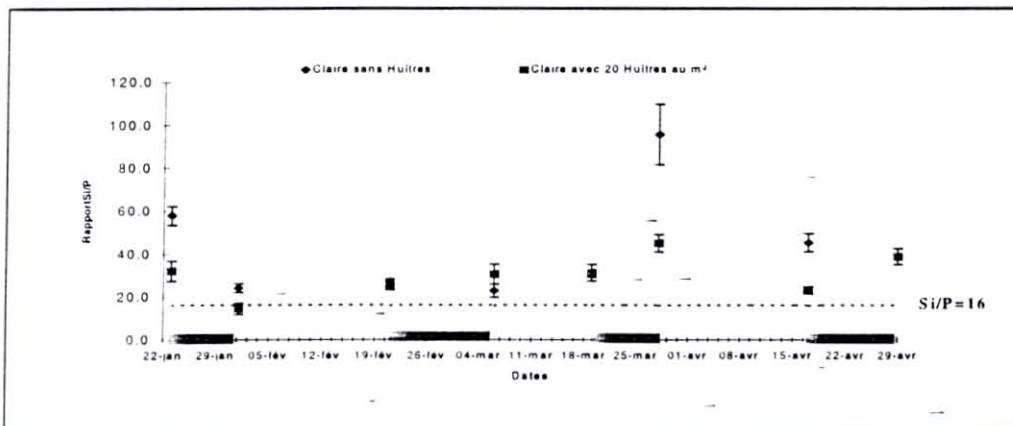


Figure 20 : Evolution au cours du temps du rapport Silicium sur Phosphore (intervalle de confiance (95 %) sur la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) (■ : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation)).



Tableau 8 : Matrice de corrélation de Spearman entre les sels nutritifs des deux claires et les teneurs en Chlorophylle *a* et phéopigments dans la colonne d'eau. (Valeur du coefficient de corrélation R, et significativité de la corrélation (\* : seuil de 5 %, \*\* : seuil de 1 %)

	NO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub>	N total	SiO <sub>3</sub>	PO <sub>4</sub>
Chl <i>a</i> +Phéo (Claire avec huîtres)	n.s	- 0,52 (**)	0,33 (*)	-0,44 (**)	-0,37 (*)	-0,55 (**)
Chl <i>a</i> +Phéo (Claire sans huître)	- 0,62 (**)	- 0,68 (**)	- 0,36 (**)	-0,71 (**)	-0,52 (**)	-0,68 (**)

On remarque tout d'abord, que toutes ces corrélations sont négatives mise à part pour l'ammoniaque de la claire contenant les huîtres. La production phytoplanctonique s'accompagne donc de la diminution des concentrations en sels nutritifs dans les deux claires. Les corrélations les plus fortes sont observées pour l'azote total représenté majoritairement par les nitrates (NO<sub>3</sub>) (-0,68), puis par les phosphates (-0,68) et ensuite les silicates (-0,52), ceci dans la claire sans huître.

Pour la claire ayant une densité de 20 huîtres au m<sup>2</sup>, les corrélations sont légèrement plus faibles, ce qui est produit au niveau phytoplanctonique est consommé par les bivalves. C'est pourquoi dans cette claire, l'ammoniaque (R=0,33) est corrélé positivement de façon indirecte via les mollusques, alors que dans la claire sans huître l'ammoniaque est utilisé par les microphytes (R= - 0,36).

En résumé, dans la claire contenant les huîtres, il y a bien-production phytoplanctonique, mais cette production est consommé rapidement par les mollusques, et l'excrétion d'ammoniaque est plus importante que son utilisation par les microalgues.

### 3-5 Suivi des populations de diatomées de deux claires ostréicoles du marais expérimental de la station IFREMER La Tremblade.

A l'heure actuelle seulement les échantillons de la colonne d'eau ont pu être observés. Les échantillons de microphytobenthos sont conditionnés et seule la phase d'observation et de dénombrement reste à faire.

Pour chaque piluliers de 80 mL provenant de échantillons de la colonne d'eau, 2 observations successives sont réalisées constituant un sous-échantillonnage. Pour la première date d'échantillonnage les six points de chaque claire ont été observés et dénombrés. Cependant le temps important d'analyse nous a obligé par la suite à changer de stratégie, un point sur les six a été tiré au hasard et observé, en émettant l'hypothèse que la répartition spatiale du peuplement était uniforme dans les claires.

#### 3-5-1 Inventaire floristique

Sur les 4 mois de suivi entre Janvier et Avril 1996, un inventaire des différentes espèces rencontrées a pu être dressé. Le tableau figurant dans les annexes (p. 26) regroupe les différentes espèces observées. Ces espèces sont présentées dans ce tableau en terme de présence-absence dans les deux claires ; elles sont regroupées en taxons suivant la classification de Round *et al.* (1990).

Au total, toutes dates confondues, 124 espèces appartenant à 20 genres différents ont pu être répertoriées pour les deux claires, mais toutes n'ont pu être identifiées jusqu'au rang d'espèces, (e.g. *Amphora spl*) ; d'autres nécessiteraient une observation au microscope électronique à balayage pour confirmation de l'identification (e.g. *Diploneis (bombus)*).

Dans la claire contenant 20 huîtres au m<sup>2</sup>, 92 espèces appartenant à 19 des 20 genres ont été répertoriées. Dans la claire sans huîtres 86 espèces appartenant à 14 genres ont été trouvées. On s'aperçoit donc que les peuplements des deux claires diffèrent légèrement quant au nombre d'espèces présentes. Si l'on regarde les espèces communes aux deux claires, on peut remarquer que 54 espèces se retrouvent aussi bien dans la claire contenant des huîtres que dans la claire sans huître, soit seulement 43 % des espèces trouvées au long de l'étude. Une première hypothèse peut être émise, les huîtres par leur présence exerceraient une pression de sélection capable d'orienter la composition du peuplement de la claire où elles sont immergées.

### 3-5-2 Indices écologiques - Variabilité spatiale des peuplements

L'analyse de la première date d'échantillonnage (23/01/96), montre une variabilité spatiale importante des indices écologiques (richesse spécifique, indice de diversité, et équitabilité) pour les six sous-unités spatiales des claires (Tableau 9).

Tableau 9 : Richesse spécifique (N), Indice de Shannon (H'), et Equitabilité (E) pour les six points d'échantillonnage dans chacune des deux claires.

point d'échantillonnage		1	2	3	4	5	6
Claire avec 20 huîtres m <sup>2</sup>	N	19	15	16	14	12	8
	H'	3,69	3,32	2,78	2,93	2,74	1,47
	E	0,87	0,85	0,69	0,77	0,65	0,49
Claire sans huître	N	7	13	9	14	17	14
	H'	2,58	3,34	1,52	2,63	2,57	2,49
	E	0,92	0,90	0,48	0,69	0,63	0,65

Cette variabilité spatiale met en évidence le fait que la répartition des populations de diatomées n'est pas homogène dans la colonne d'eau, et sur toute la surface des claires (à peu près 450 m<sup>2</sup>). L'hypothèse émise précédemment supposant une répartition homogène du peuplement doit être rejetée. Par contre certains paramètres physiques, sont susceptibles d'influencer cette répartition (par exemple le vent,...).

En conséquence nous allons modifier la stratégie d'analyse des échantillons tout en tenant compte cependant de cette variabilité spatiale au sein des claires ainsi, pour chaque date, 10 mL de chaque échantillon (sous-unité spatiale) seront prélevés et homogénéisés. Ainsi un nouvel échantillon de 60 mL regroupant les six-points de chaque claire sera analysé tenant compte de ce fait de la variabilité spatiale. Pour le moment l'analyse avec cette nouvelle stratégie est en cours.

## 3-6 Résultats des bio-essais

### 3-6-1 Densités numériques obtenues après six jours de culture

Les figures 21 et 22 représentent les densités numériques en cellules observées en erlenmeyers de 500 mL après six jours de cultures *in vitro* sur les eaux des deux claires ostréicoles. Pour les deux claires les résultats apparaissent similaires à quelques différences près.

Graphiquement, et ce pour toutes les dates d'échantillonnage, deux groupes homogènes d'enrichissements se dégagent, les enrichissements où les densités numériques en cellules obtenues



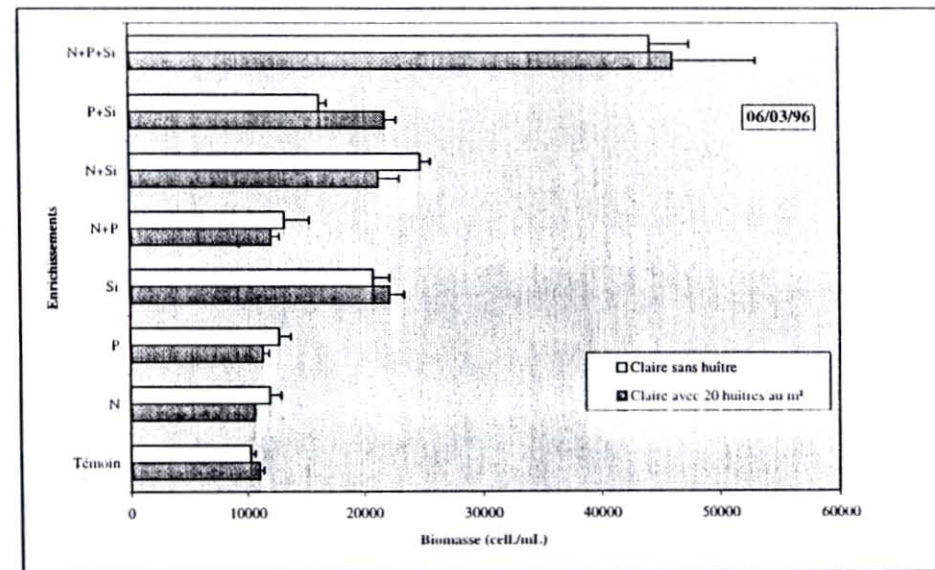
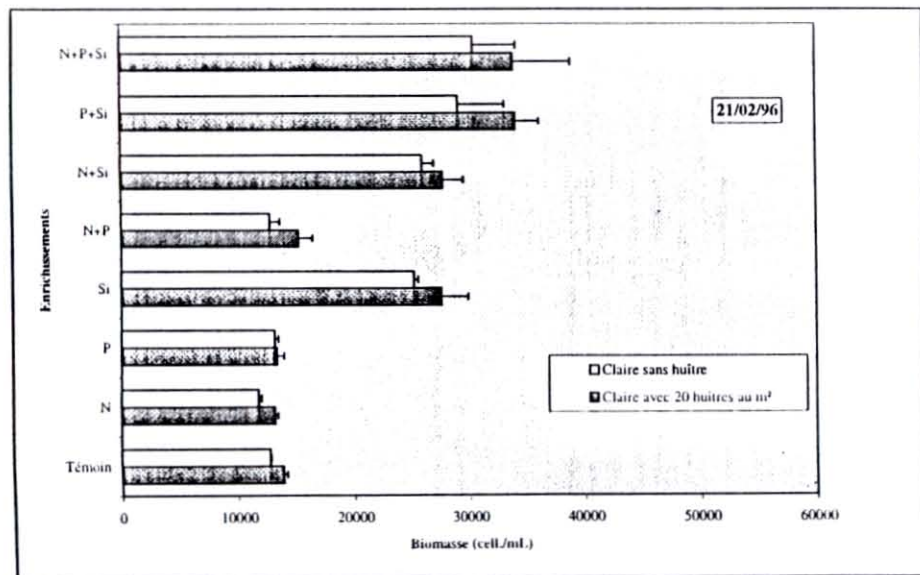
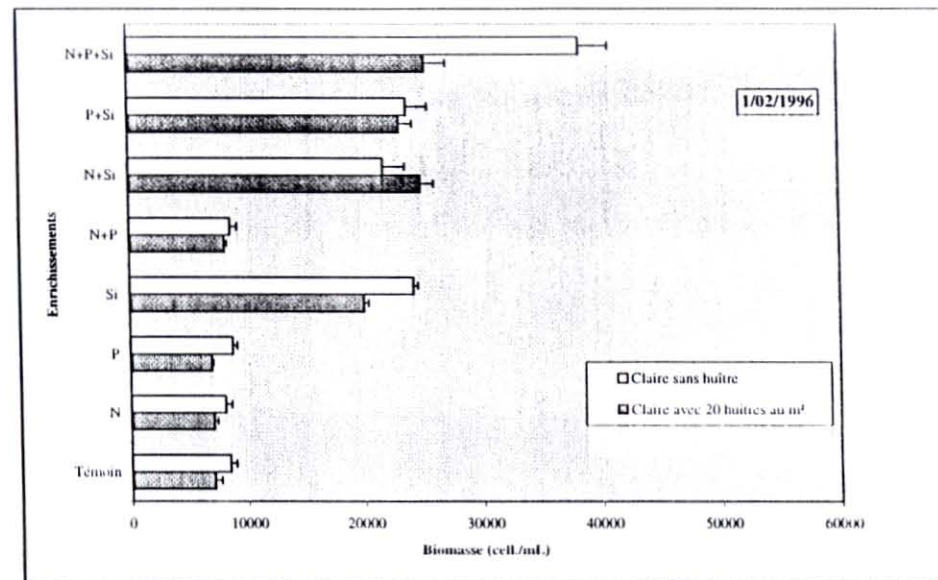
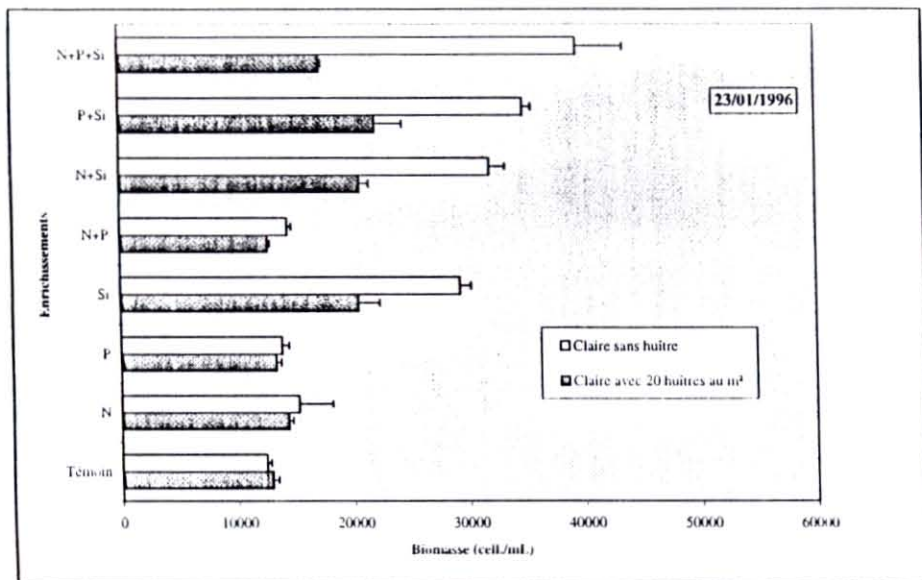


Figure 21 : Comparaisons des densités numériques en cellules obtenues après six jours de culture pour les différents enrichissements différentiels. (Colonne de gauche eaux entrantes, Colonne de droite même eau après stabulation). (Barres : erreur standart (s.e) sur la moyenne)



sont les plus fortes (erlenmeyers enrichis avec 100  $\mu$ moles de silice), et les enrichissements où les niveaux de densités cellulaires sont proches de ceux observés pour le témoin (sans enrichissement). Ainsi le fait d'ajouter de la silice sous la forme chimique  $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$  permet d'obtenir des densités numériques en cellules plus importantes. Pour les deux claires, il apparaît donc que la silice est le premier facteur limitant la croissance d'*Haslea ostrearia*.

Etant donné l'uniformité des résultats, il a donc été décidé d'analyser les résultats en regroupant les 8 expériences, même si certaines différences apparaissent entre les dates de prélèvements. Mais ce biais semble négligeable si l'on veut dégager une certaine tendance. Des analyses de variance à deux facteurs ainsi que des comparaisons multiples par l'emploi de tests S.N.K (Student-Newman-Keuls) ont été réalisées en intégrant les facteurs :

- Position dans le cycle de prélèvements (Entrée d'eau ou après séjour de l'eau).
- Enrichissements

Ces analyses de variance ont été réalisées pour chaque claire. Les résultats sont regroupés dans les figures 23 et 24. Sur la figure 23, concernant la claire contenant 20 huîtres au  $\text{m}^2$ , les deux groupes d'enrichissements-(Témoin, N, P, N+P) et (Si, N+Si, P+Si, N+P+Si) diffèrent avec une probabilité  $p < 0.05$ . On compare également les deux types d'eaux (Eaux entrantes et eaux ayant stabulé pour chaque enrichissement. On s'aperçoit, seulement pour P+Si et N+P+Si, qu'il existe une différence significative entre de l'eau entrante et après séjour de cette eau dans la claire.

Sur la figure 24, pour la claire ne contenant pas d'huîtres, on obtient les mêmes résultats, à la différence près que seulement pour P+Si il y a une différence significative ( $p > 0.05$ ) entre de l'eau entrante et de l'eau ayant séjourné dans cette claire.

On s'aperçoit donc, que globalement il n'y a pas de grosses différences pour chaque enrichissement entre les deux claires. Afin de comparer la fertilité potentielle des eaux des deux claires, une analyse de variance sur les densités numériques en cellules observées pour les erlenmeyers Témoins est réalisée dans le but d'évaluer l'impact ou non des huîtres sur cette fertilité potentielle vis à vis d'*H. ostrearia*.

Les résultats figurent dans le tableau 10. On note tout d'abord qu'entre les dates de prélèvements (toutes claires confondues) on observe des différences hautement significatives ( $p < 0.001$ ) ; que si l'on compare les deux claires (toutes dates confondues), il n'y a plus de différences significatives. Si l'on croise les deux analyses précédentes en comparant donc les deux claires aux mêmes dates d'échantillonnage, dans ce cas aucune différence significative n'est mise en évidence.

Tableau 10 : Analyse de variance à deux facteurs sur les densités numériques en cellules observées pour les deux témoins (sans enrichissement), pour les différentes dates d'échantillonnage.

Source de variance	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Significativité du test (p)
date	228155497.92	7	32596342.56	29.35	<0.001 (***)
claire	1303502.08	1	1303502.08	1.17	0.287 (n.s.)
date x claire	13829214.58	7	1975602.08	1.78	0.126 (n.s.)
résidus	35538133.33	32	1110566.67		
total	278826347.92	47	5932475.49		



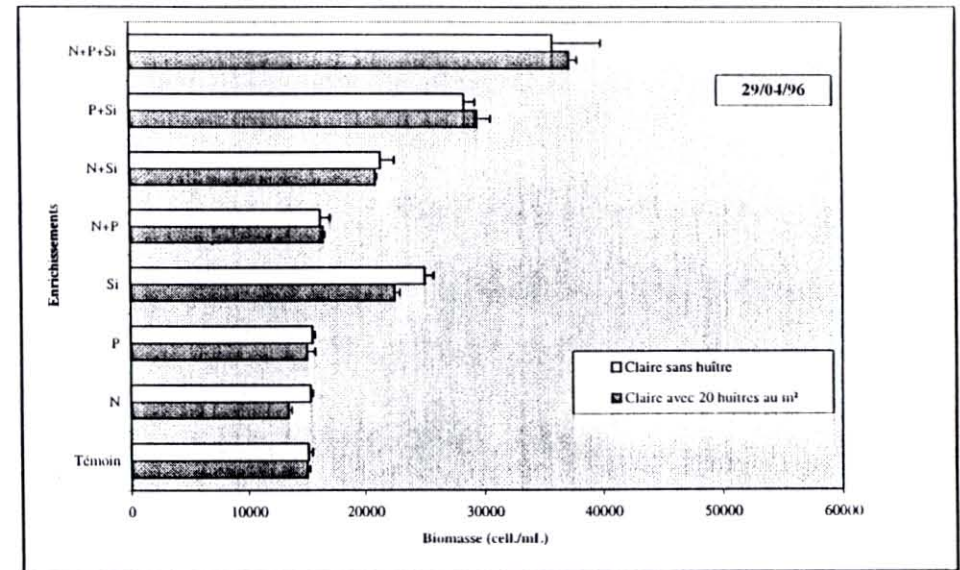
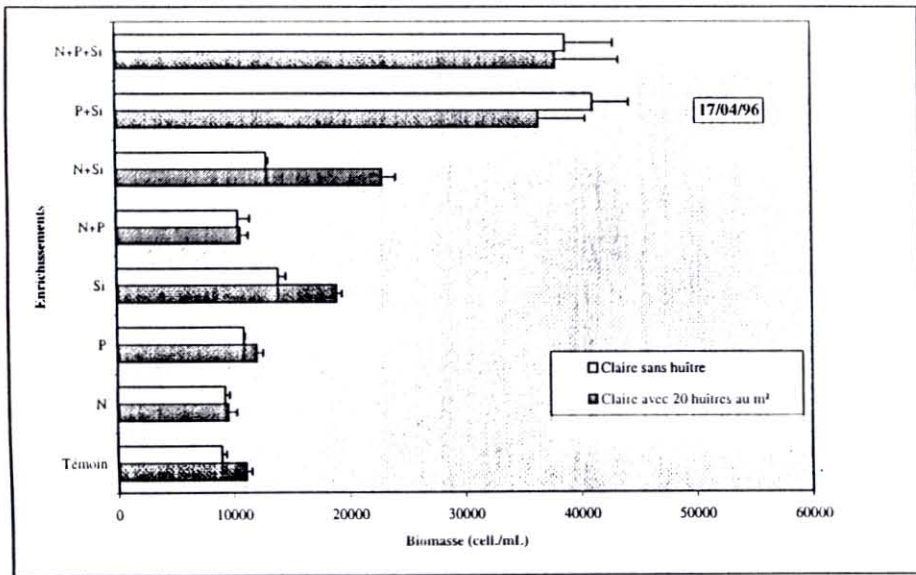
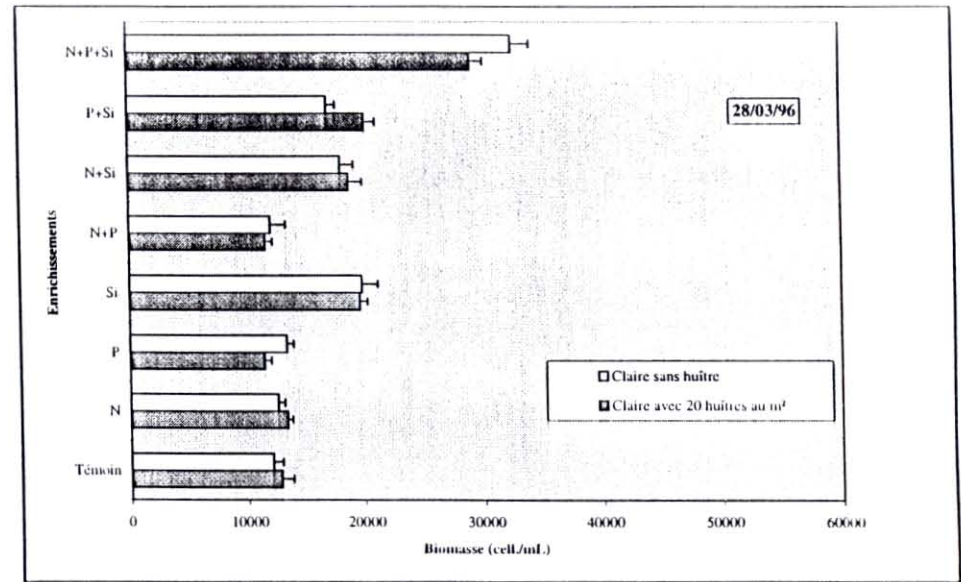
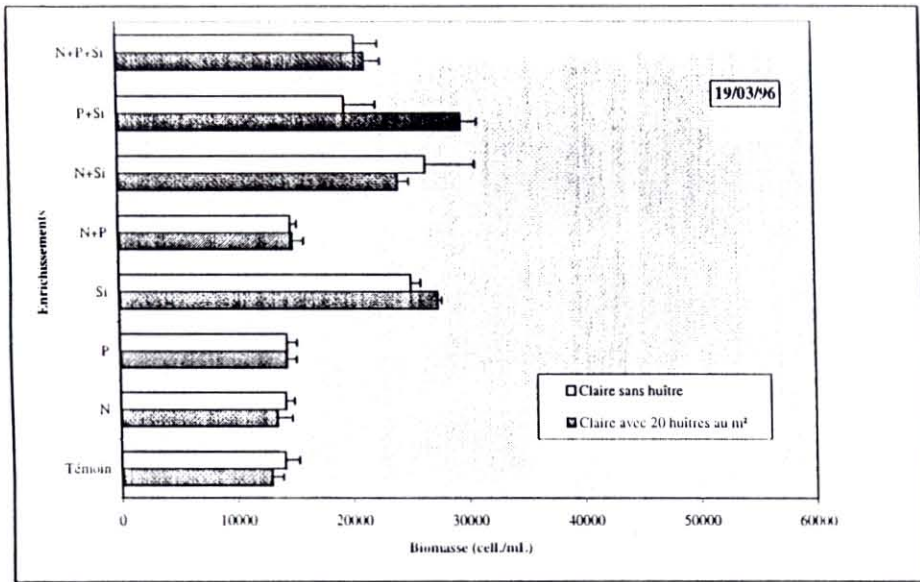


Figure 22 : Comparaisons des densités numériques en cellules obtenues après six jours de culture pour les différents enrichissements différentiels. (Colonne de gauche eaux entrantes, Colonne de droite même eau après stabulation). (Barres : erreur standard (s.e) sur la moyenne)

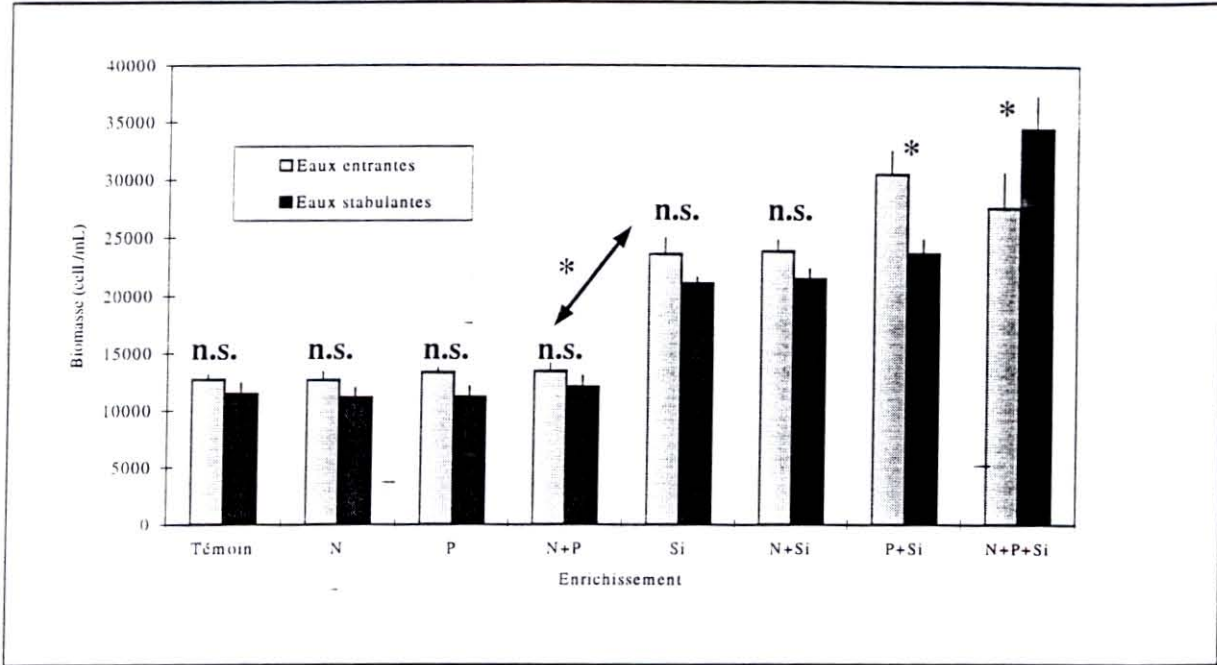


Figure 23 : Comparaison des densités numériques en cellules obtenues avec *H. ostrearia* entre des eaux entrantes et des eaux ayant séjournées dans la claire contenant 20 huîtres au m<sup>2</sup> après six jours de culture. (n =12 échantillons/ enrichissement, barres : erreur standart, \* : différence significative à 5 %, n.s. : différence non significative).

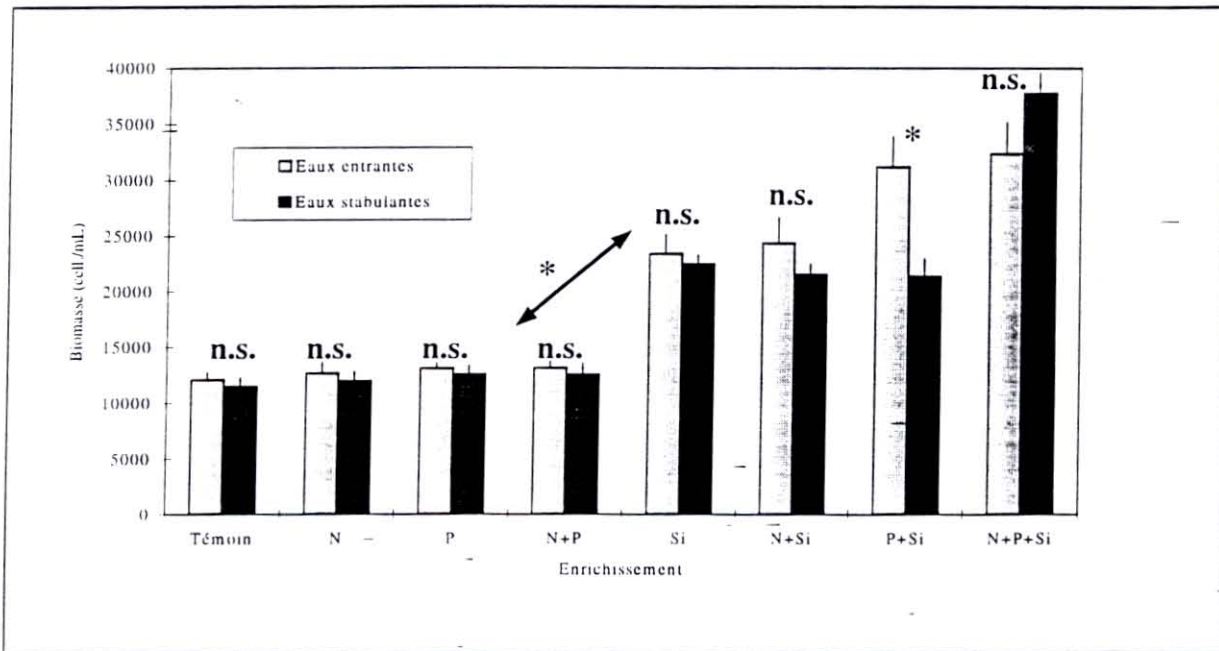


Figure 24 : Comparaison des densités numériques en cellules obtenues avec *H. ostrearia* entre des eaux entrantes et des eaux ayant séjournées dans la claire sans huîtres après six jours de culture. (n =12 échantillons/ enrichissement, barres : erreur standart, \* : différence significative à 5 %, n.s. : différence non significative).



On peut donc conclure que les deux claires ne présentent pas de différences du point de vue de leur fertilité potentielle de leurs eaux, et par conséquent la présence des huîtres à la densité de 20 au m<sup>2</sup> n'a pas d'impact sur la qualité nutritionnelle, donc sur la fertilité potentielle de ces eaux pour la diatomée *Haslea ostrearia*.

### 3-6-2 Utilisation des sels nutritifs (N, P, Si) par la diatomée *Haslea ostrearia*

A partir des eaux récoltées lors des 8 périodes d'échantillonnage dans les deux claires ostréicoles concernées, il a été possible d'estimer les besoins nutritionnels de l'algue, pour différentes conditions liées à la nature et l'origine de l'eau récoltée (Eaux entrantes ou ayant séjourné dans les claires, présence ou absence d'huîtres). Avant mise en culture de l'algue, l'eau des différents enrichissements est analysée, les principaux sels nutritifs (NH<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, PO<sub>4</sub>, SiO<sub>3</sub>) sont dosés suivant les méthodes décrites précédemment dans le chapitre "Matériel et méthodes". Après culture de l'algue et avant la phase de plateau, les cultures sont arrêtées afin d'éviter un relargage des contenus cellulaires par les cellules sénescents ou mortes, et les sels nutritifs dosés immédiatement.

#### 3-6-2-1 Le cas des témoins - Eaux non enrichies

On remarque tout d'abord que la totalité de la réserve en azote minéral dissous total, en phosphore minéral dissous, et en silicium minéral dissous n'est jamais totalement utilisée, et ce pour tous les cas de figure. Le silicium est l'élément le plus consommé entre 88 et 97 % de la réserve initiale, ensuite l'azote est le deuxième élément le plus consommé entre 69 et 83 %, puis le phosphore entre 39 et 58 % (Tableau 11). De plus les différences observées sont minimales entre des eaux entrantes dans les claires (riches en éléments minéraux) et les eaux ayant séjourné, dont la réserve initiale est plus faible du fait de son utilisation par le phytoplancton des claires.

Ces résultats sont en concordance avec ceux de Robert *et al.* (1979) sur les eaux des claires ostréicoles de Vendée, pour les éléments azote et phosphore. Par contre pour le silicium, ce sont 35 % de la réserve initiale qui sont consommés en plus dans notre présente étude.

#### 3-6-2-2 Le cas des enrichissements en azote minéral sous forme nitrates (NO<sub>3</sub>)

L'ajout de 100 μmoles de nitrates, quantité suffisante pour ne pas être en conditions limitantes, pour les enrichissements (N, NP, NSi), fait chuter par rapport aux Témoins, la consommation de la réserve initiale en azote (50% en moins) (Figures 25 et 26). Si l'on compare les deux claires, on peut s'apercevoir après séjour de l'eau dans celles-ci, que la quantité d'azote minéral consommée est plus forte de 10 % environ dans la claire sans huître que dans la claire contenant des huîtres. L'hypothèse serait qu'une source nutritive, non prise en compte, serait utilisée au détriment de la réserve en azote minéral dissous, cette source nutritive dépendrait de la présence des huîtres, phénomène déjà observé par Robert *et al.* (1979).

Pour ce qui concerne les consommations en silicates pour ces enrichissements, on note qu'entre 87 et 99 % de la réserve en silicate sont consommés pour les enrichissements N et NP, comme pour les témoins, le fait d'ajouter des nitrates n'augmente ni ne diminue la prise de silicates. Ceci se vérifie également si l'on compare les enrichissements NSi et Si (Figures 27 et 28.).

Pour les phosphates, les consommations sont équivalentes à celles des témoins (entre 37 et 63 % de la réserve initiale pour les enrichissements N et NSi). L'ajout de phosphates (NP) couplé à l'azote augmente légèrement la prise de ceux-ci (comparaison P et NP). Cependant on doit noter une

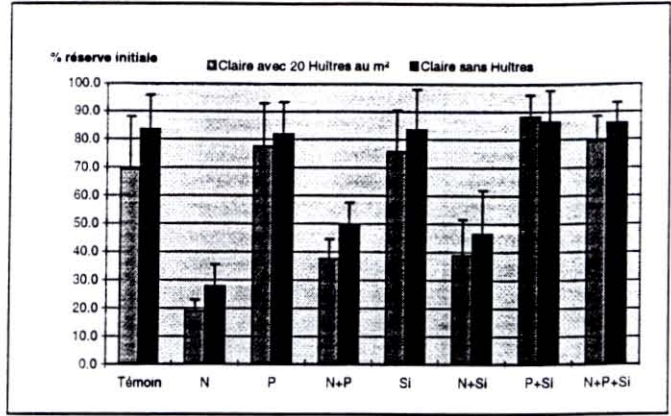
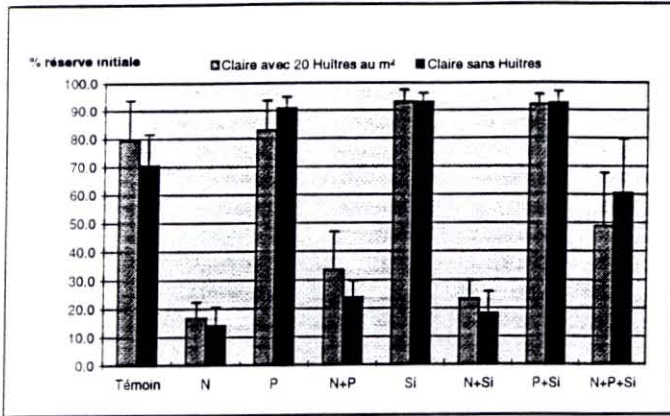
Tableau 11 : Estimation des consommations en sels nutritifs en pourcentage de la réserve initiale pour les différents enrichissements après culture de la diatomée *Haslea ostrearia* entre To et la fin de la phase exponentielle de croissance.(moyenne ± intervalle de confiance 95 %)

		Consommation des sels nutritifs en pourcentage de la réserve initiale					
		N		Si		P	
		avec Huîtres	sans Huître	avec Huîtres	sans Huître	avec Huîtres	sans Huître
Témoin	EE	79 ± 14	70 ± 11	96 ± 2	88 ± 7	56 ± 11	56 ± 12
	ES	69 ± 18	83 ± 12	90 ± 10	97 ± 2	39 ± 15	58 ± 17
N	EE	17 ± 6	14 ± 6	96 ± 2	95 ± 3	61 ± 11	59 ± 9
	ES	19 ± 4	28 ± 8	97 ± 3	99 ± 1	42 ± 16	56 ± 17
P	EE	83 ± 11	91 ± 4	97 ± 1	95 ± 2	31 ± 5	35 ± 4
	ES	77 ± 16	82 ± 12	98 ± 3	98 ± 3	23 ± 4	27 ± 4
N+P	EE	33 ± 13	24 ± 6	93 ± 4	87 ± 8	35 ± 7	42 ± 4
	ES	37 ± 7	49 ± 8	92 ± 9	96 ± 4	41 ± 2	42 ± 3
Si	EE	93 ± 4	93 ± 3	55 ± 8	42 ± 13	47 ± 16	57 ± 10
	ES	76 ± 15	83 ± 14	45 ± 11	36 ± 13	74 ± 23	61 ± 26
N+Si	EE	23 ± 7	18 ± 8	48 ± 7	36 ± 15	37 ± 14	63 ± 13
	ES	39 ± 13	46 ± 15	48 ± 14	38 ± 17	59 ± 24	55 ± 27
P+Si	EE	92 ± 4	93 ± 4	69 ± 11	56 ± 15	36 ± 10	46 ± 3
	ES	88 ± 8	86 ± 11	50 ± 8	37 ± 12	33 ± 5	33 ± 7
N+P+Si	EE	49 ± 19	60 ± 19	58 ± 15	71 ± 17	53 ± 14	70 ± 10
	ES	79 ± 9	86 ± 8	65 ± 12	63 ± 19	60 ± 12	68 ± 8

Tableau 12 : Estimation des quantités nécessaires en éléments nutritifs en µmoles pour produire 10<sup>6</sup> cellules pour les différents enrichissements après culture de la diatomée *Haslea ostrearia* entre To et la fin de la phase exponentielle de croissance.(moyenne ± intervalle de confiance 95 %)

		Quantité nécessaire (µmoles) pour produire 10 <sup>6</sup> cellules					
		N		Si		P	
		avec Huîtres	sans Huître	avec Huîtres	sans Huître	avec Huîtres	sans Huître
Témoin	EE	2.1 ± 0.5	2.1 ± 0.3	1.5 ± 0.4	1.4 ± 0.3	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01
	ES	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.3 ± 0.3	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.02
N	EE	2.2 ± 1.0	1.8 ± 1.1	1.5 ± 0.3	1.5 ± 0.3	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
	ES	2.6 ± 1.0	3.4 ± 1.2	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.3	0.02 ± 0.02	0.03 ± 0.02
P	EE	2.2 ± 0.6	2.6 ± 0.5	1.5 ± 0.4	1.4 ± 0.3	0.18 ± 0.03	0.21 ± 0.02
	ES	0.4 ± 0.0	0.2 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.2	0.19 ± 0.08	0.19 ± 0.06
N+P	EE	3.6 ± 1.7	2.8 ± 1.2	1.4 ± 0.4	1.3 ± 0.3	0.21 ± 0.04	0.25 ± 0.03
	ES	4.2 ± 0.8	5.3 ± 1.3	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.3	0.30 ± 0.07	0.29 ± 0.08
Si	EE	1.3 ± 0.4	1.3 ± 0.1	2.8 ± 1.0	2.0 ± 0.6	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
	ES	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	2.5 ± 0.7	1.9 ± 0.7	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01
N+Si	EE	1.3 ± 0.5	1.0 ± 0.5	2.4 ± 0.7	1.5 ± 0.6	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00
	ES	2.0 ± 0.5	2.4 ± 0.8	2.6 ± 0.7	2.3 ± 1.0	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01
P+Si	EE	1.1 ± 0.4	1.2 ± 0.4	2.5 ± 0.6	1.9 ± 0.4	0.08 ± 0.02	0.10 ± 0.03
	ES	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	2.5 ± 0.6	2.1 ± 0.6	0.10 ± 0.02	0.12 ± 0.03
N+P+Si	EE	2.2 ± 0.6	2.5 ± 0.9	2.5 ± 0.8	2.2 ± 0.4	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.03
	ES	2.7 ± 0.3	2.5 ± 0.2	2.2 ± 0.4	2.1 ± 0.3	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0.01





Figures 25 et 26 : Consommation d'azote minéral dissout total en pourcentage de la réserve initiale pour les deux claires (Eaux entrantes et ayant séjourné dans les claires)

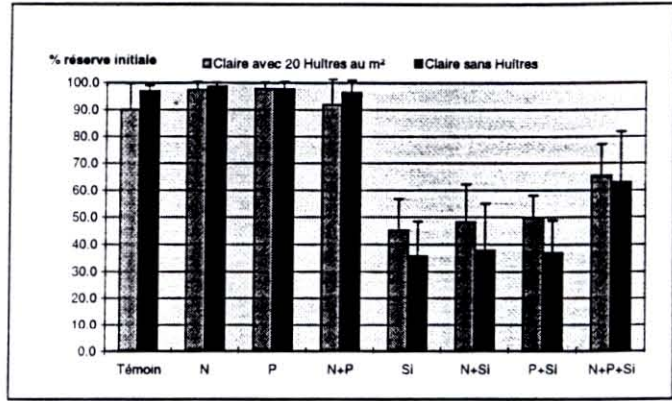
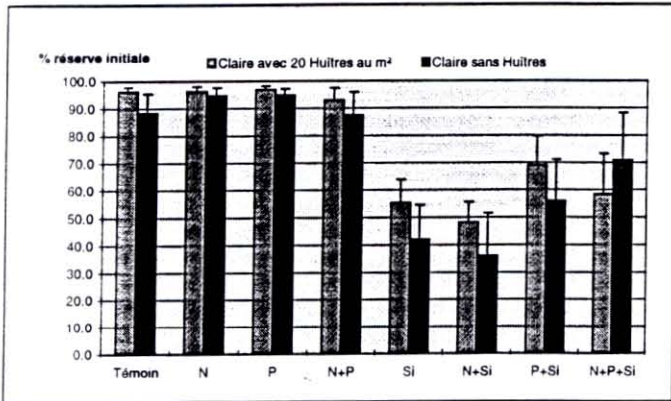


Figure 27 et 28 : Consommation de silicate minéral dissout en pourcentage de la réserve initiale pour les deux claires (Eaux entrantes et ayant séjourné dans les claires)

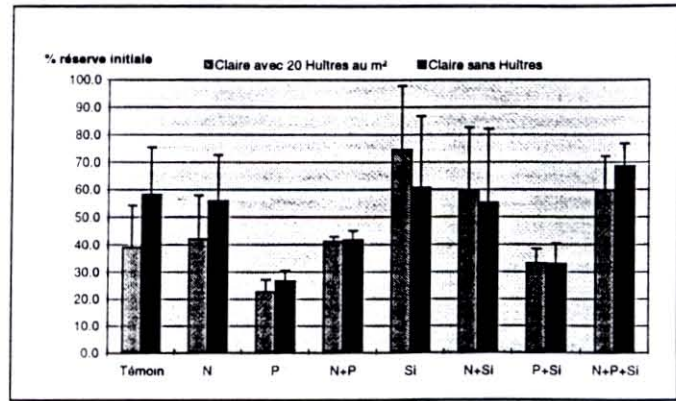
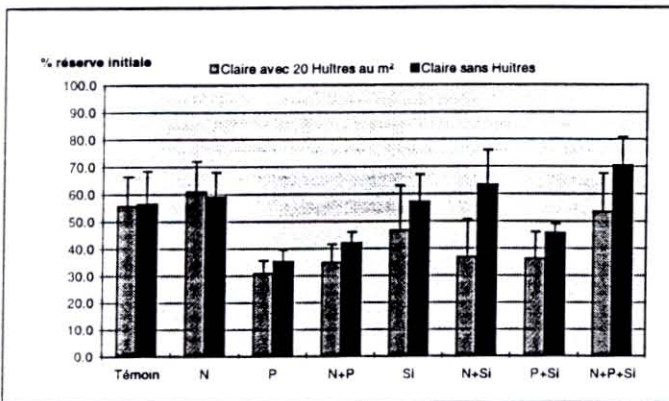


Figure 29 et 30 : Consommation de phosphore minéral dissout en pourcentage de la réserve initiale pour les deux claires (Eaux entrantes et ayant séjourné dans les claires)

**EAUX ENTRANTES**

**EAUX AYANT SEJOURNÉ**

grande variabilité des teneurs en phosphates estimées (sensibilité de la méthode de dosage trop faible pour les faibles concentrations)(Figures 29 et 30).

### 3-6-2-3 Le cas des enrichissements en silicates sous forme $SiO_3$

En ajoutant 100  $\mu$ moles de silicates, quantité suffisante pour ne pas être en conditions limitantes, et équivalente pour certains enrichissements à la quantité en azote minéral dissous ajoutée ; On s'aperçoit qu'entre 36% et 69% de la réserve initiale sont consommés (enrichissements Si, NSi, PSi) alors que dans les témoins et les autres enrichissements (N, P, NP, 87 à 99 % de la réserve initiale est utilisée).L'ajout de silicates et d'azote (NSi) augmente la prise d'azote uniquement pour des eaux ayant séjourné dans les claires, par rapport à l'enrichissement N.

### 3-6-2-4 Le cas des enrichissements en Phosphates sous forme $PO_4$

Si l'on compare les enrichissements Témoin, N, NSi, Si, aux enrichissements P, NP, PSi, la prise en phosphore minéral dissous est plus faible autour de 10% pour ces derniers. Par contre si l'on compare PSi et P, la prise de phosphates augmente légèrement avec un ajout de silicates.

### 3-6-2-5 Le cas de l'enrichissement NPSi

Cet enrichissement est le plus équilibré de tous et ceci dans tous les cas, avec un rapport N/Si/P proche de 16/16/1 correspondant au rapport d'assimilation par les algues de Redfield (1934). On remarquera donc que pour les silicates et le phosphore minéral dissous, les consommations sont presque identiques quelque soit le type d'eau (eau entrante ou ayant séjourné dans les claires), par contre pour ce qui concerne l'azote total minéral dissous la prise d'azote ( $NO_3$ ) est plus élevée de près de 30% pour des eaux ayant stabulé, appauvries par le développement du phytoplancton, par rapport aux eaux entrantes plus riches.

**Remarques :** Comme nous venons de le voir la consommation en sels nutritifs, exprimée en pourcentage de la réserve initiale, apporte des informations sur l'utilisation des sels nutritifs par *Haslea ostrearia*. En observant les différents enrichissements, on confirme donc que la silice est le premier facteur limitant. Cependant la consommation exprimée en pourcentage de la réserve initiale ne tient pas compte de la densité numérique en cellule obtenue après culture. Ainsi la réserve initiale peut être complètement consommée alors que la densité numérique en cellules obtenue peut être faible ou inversement.

### 3-6-3 Rendements d'utilisation des sels nutritifs

Nous avons donc analysé les consommations en terme de production cellulaire, c'est à dire soit exprimés en  $\mu$ moles d'azote, silice ou phosphore consommées pour produire  $10^6$  cellules, ou par  $\mu$ g de chlorophylle *a* produites, ou bien encore en nombre de cellules ou  $\mu$ g de chlorophylle *a* produites par  $\mu$ moles d'azote, de silice ou de phosphore utilisées. Les résultats exprimés en terme de quantité nécessaire (en  $\mu$ moles) d'azote, de silicates et de phosphates pour produire  $10^6$  cellules figurent dans le tableau 12.



### 3-6-3-1 Le cas des eaux non enrichies - Les témoins

Nous ferons la distinction entre des eaux entrantes et des eaux ayant séjourné dans les claires. Tout d'abord si l'on s'intéresse aux eaux entrantes. Nous voyons que pour produire  $10^6$  cellules, 2.1  $\mu$ moles d'azote, 1,4 à 1,5  $\mu$ moles de silicates, et 0,02 à 0,03  $\mu$ moles de phosphore ont été nécessaires.

Pour des eaux ayant séjourné dans les claires, 0,2 à 0,3  $\mu$ moles d'azote, 1,0 à 1,3  $\mu$ moles de silicates, et 0,02 à 0,03  $\mu$ moles de phosphates. Cela ne nous permet pas évidemment de connaître le facteur limitant par contre, ceci nous renseigne sur les besoins de l'algue.

On voit donc qu'entre des eaux qui entrent dans les claires, et des eaux ayant séjourné dans ces claires il y a une différence importante pour l'élément azote, que cette différence est moindre pour les silicates, et nulle pour le phosphates.

### 3-6-3-2 Le cas de l'azote

Si l'on regarde la figure 24, la même quantité de cellule est produite entre des eaux entrantes et des eaux ayant séjourné (différence non significative). La figure 15 nous montre par contre que la quantité d'azote est entre 11 et 15 fois plus faible après séjour de l'eau, alors qu'entre 6 à 10 fois plus d'azote sont nécessaires pour des eaux entrantes pour produire la même quantité d'algue. Il y aurait donc un gaspillage quant à l'utilisation de l'azote de la part d' *Haslea ostrearia* pour des eaux entrantes dans les claires. De plus, il semble que *Haslea ostrearia* ait la capacité de moduler sa physiologie en fonction des quantités en nutriments présents, notamment l'azote.

### 3-6-3-3 Le cas des silicates

Quelle que soit la claire, et la qualité de l'eau (Eau entrante ou eau ayant séjourné), la quantité produite de cellules par  $\mu$ moles de silice utilisées est équivalente (entre 0,8 à 1,1.  $10^6$  cellules produites par  $\mu$ moles utilisées). Les besoins en silice restent identiques après séjour de l'eau dans les claires, on peut confirmer l'hypothèse selon laquelle cet élément est le facteur limitant. On peut remarquer en effet que les besoins en silice sont plus importants que ceux en azote, ceci pour les eaux appauvries (eaux ayant séjourné), même si ces eaux présentent toujours un déficit en azote par rapport à la silice ( $N/Si < 1$ ) (voir figure 19). En effet la réserve en azote des eaux ayant stabulé est épuisée, alors qu'il reste toujours en moyenne entre 8,5 et 11  $\mu$ moles de silicates.

### 3-6-3-4 Le cas des phosphates

On observe une variabilité importante des valeurs, les intervalles de confiance sont très importants par rapport à la valeur moyenne. Les biomasses produites, entre des eaux nouvelles (entrantes) et des eaux ayant séjourné sont équivalentes comme nous l'avons déjà signalée (pour les témoins Figure 23 et 24), et nous pouvons remarquer comme pour les silicates que les quantités nécessaires pour produire  $10^6$  cellules sont équivalentes entre les deux types d'eaux.

### 3-7 Expérimentations en Mésocosmes - Premiers résultats

Après avoir estimé les besoins en sels nutritifs (N, P, Si), il nous a semblé intéressant de stimuler un bloom de navicules en conditions naturelles. C'est à dire au sein d'une claire ostréicole, tout en étant tributaire au maximum des conditions environnementales (T°, Eclairage, pluviométrie...). Nous avons donc utilisé la technique de culture en mésocosmes pour réaliser un suivi de population d'*H. ostrearia* sur une longue période.

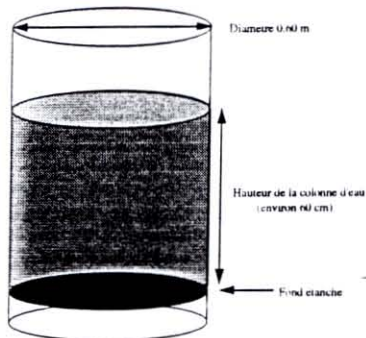


Figure 31 : Dessin d'un mésocosme

Des cylindres en PVC transparent ont été confectionnés (figure 31) avec les dimensions suivantes (Diamètre de 60 cm, Hauteur 1 m, épaisseur 10 mm). Pour une hauteur d'eau dans la claire de 60 cm, le volume utile est de 170 Litres. Afin d'éliminer l'impact du sédiment sur la colonne d'eau, chaque cylindre a été obstrué par un fond étanche (figure 31) lors de certaines expérimentations.

Trois séries d'expériences ont été réalisées au cours de l'année, la première au CREMA-L'HOUMEAU entre le 12/12/96 et le 22/01/97, la seconde et la troisième à La station IFREMER La Tremblade du 11 au 21/04/97 et du 5 au 12/6/97 respectivement.

#### 3-7-1 Expérimentation en période Hivernale (L'HOUMEAU)

Cette première étude avait pour but de connaître la faisabilité d'expériences avec les mésocosmes in situ dans les claires, permettant de préciser si l'ajout d'enrichissement permettait le maintien, l'installation et le développement d'une population d'*Haslea ostrearia*. Afin d'éliminer l'influence éventuelle du sédiment les trois mésocosmes possédaient un fond étanche en PVC.

Nous avons donc immergé trois mésocosmes : un mésocosme témoin sans enrichissement mais contenant l'eau de la claire nouvellement entrée lors de la dernière marée de vives eaux (Nuit du 11 au 12/12/96), le mésocosme 1 et le mésocosme 2 contenaient également la même eau, mais ont été enrichis en sels nutritifs N+P+Si, après que l'on est introduit *Haslea ostrearia* à deux concentrations différentes dans ces deux mésocosmes. En effet le calcul des rendements d'utilisation des sels nutritifs par la navicule pour l'enrichissement N+P+Si, nous a permis d'estimer un rapport moyen N/Si/P de 12.3/14/1. En simulant une croissance de nos deux populations de départ aux concentrations de 1000 et 2500 cellules /mL pour les mésocosmes 1 et 2, avec un taux de division constant de 0,25 division.jour<sup>-1</sup> emprunté à la littérature pour cette espèce et cette période de l'année, nous avons pu estimé la quantité nécessaire de chaque élément. Les résultats figurent dans le tableau 13.

Tableau 13 : Concentrations en navicules et en sels nutritifs introduites dans les mésocosmes au début de l'expérimentation

	Concentration en Navicule introduit (cell.mL <sup>-1</sup> )	Concentration en nitrates ajoutée (μmoles.L <sup>-1</sup> )	Concentration en silicates ajoutée (μmoles.L <sup>-1</sup> )	Concentration en phosphates ajoutée (μmoles.L <sup>-1</sup> )
Témoin	0	0	0	0
M 1	1000	90,5	103,2	7,4
M 2	2500	226,3	258,0	18,4



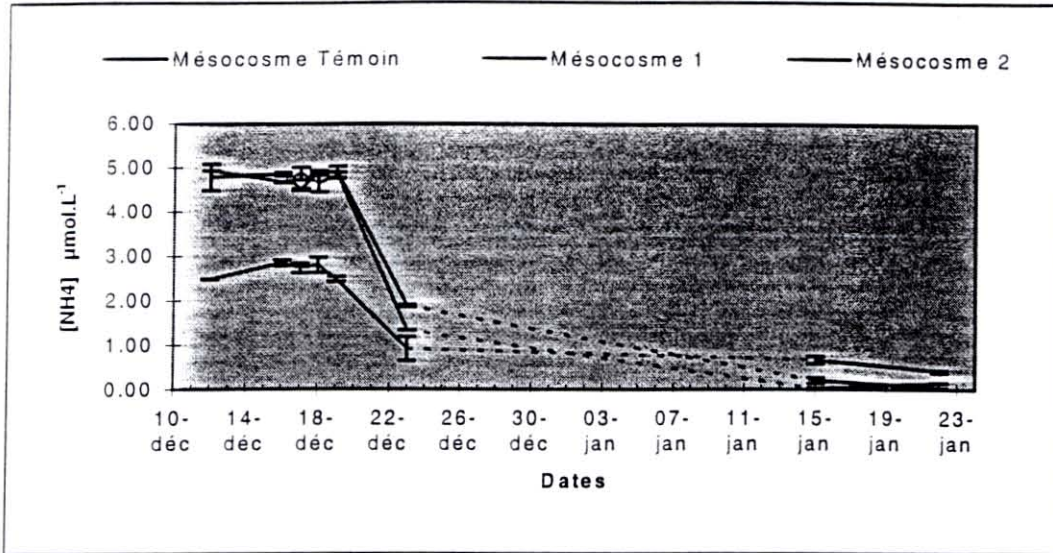


Figure 32 : Evolution de la concentration en azote ammoniacal dissous dans les trois mésocosmes

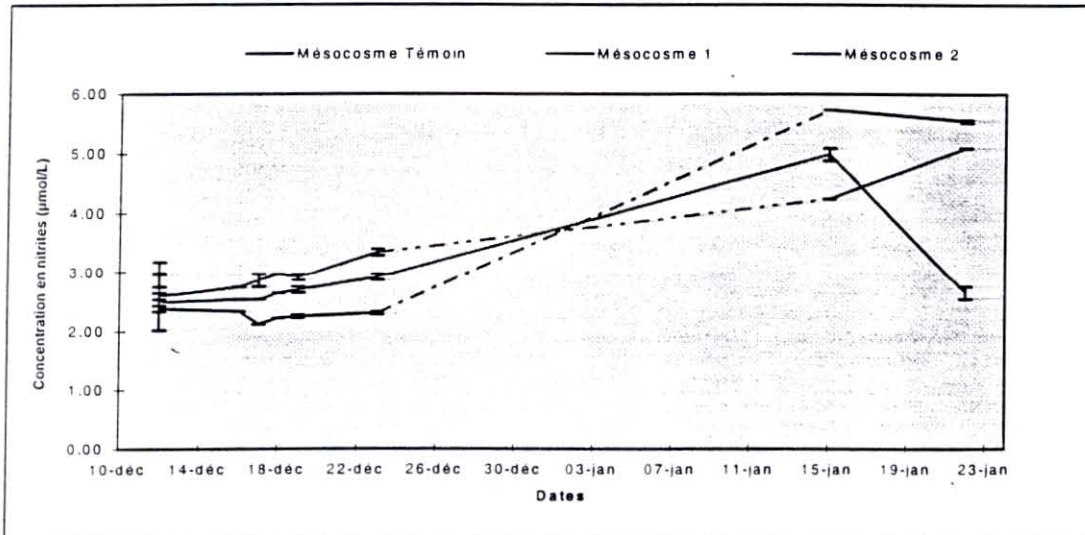


Figure 33 : Evolution de la concentration en nitrites dans les trois mésocosmes

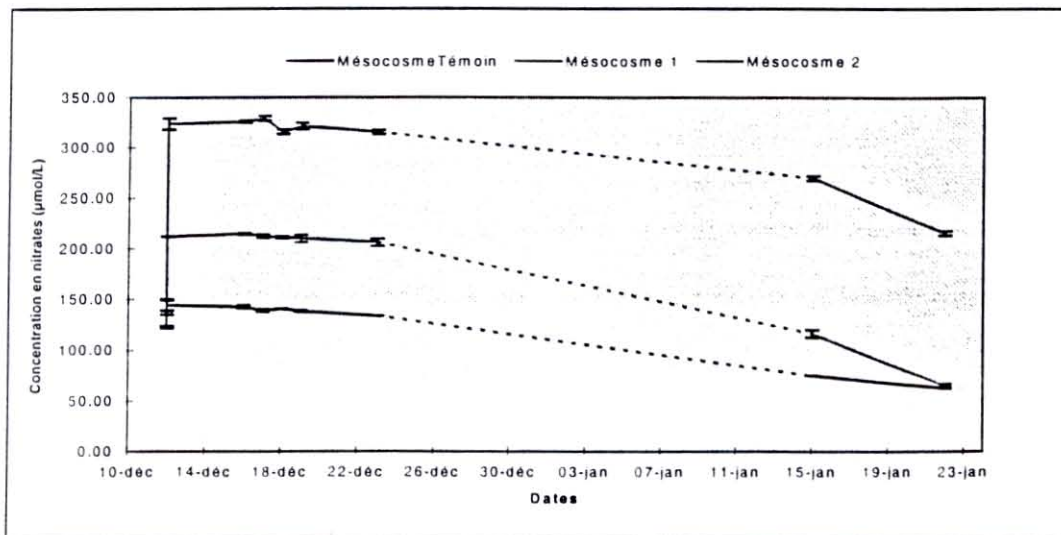


Figure 34 : Evolution de la concentration en nitrates dans les trois mésocosmes

Les concentrations figurant dans le tableau 13, ne tiennent pas compte des quantités déjà présentes de chaque sels nutritifs dans l'eau de mer, elles correspondent uniquement aux apports qui ont été effectués.

**Remarque :** Pendant la période d'étude des conditions climatiques particulières ont persisté pendant près de trois semaines (entre le 23/12/96 et le 15/01/97, froid intense, gel de l'eau de surface des claires et des mésocosmes). Durant cette période l'échantillonnage n'a pu être réalisé, sur les différents graphiques, les courbes se retrouvent en pointillées.

### *3-7-1-1 Evolution des sels nutritifs*

Ces prélèvements ponctuels nous ont permis de suivre une certaine évolution au cours du temps pour l'ammoniaque, les nitrites, les nitrates, les silicates et les phosphates.

#### **L'azote ammoniacal (figure 32)**

L'azote ammoniacal, malgré des concentrations légèrement différentes pour le mésocosme 2 au départ, suit une évolution similaire dans les trois mésocosmes au cours du temps. Après une semaine une forte baisse due à une consommation importante se produit, nous le verrons plus tard elle est accompagnée par le développement des populations phytoplanctoniques après une période de latence de 7-8 jours.

#### **Les nitrites (figure 33)**

On s'aperçoit que dans les trois enceintes entre le début de l'expérimentation et sa fin, les teneurs en nitrites ont augmenté, passant de 2,5 à 5,5  $\mu\text{moles.L}^{-1}$ . La baisse brutale, après augmentation, dans le mésocosme 1 entre le 15/01 et le 23/01 correspond vraisemblablement à un mauvais échantillonnage. Cette augmentation par contre dans les mésocosmes, de la teneur en nitrites traduit une forte activité microbienne.

#### **Les nitrates (figure 34)**

Tout d'abord on doit signaler que la concentration initiale en nitrates de l'eau utilisée pour l'expérimentation était comprise entre 120 et 140  $\mu\text{moles}$ , concentration largement suffisante pour ne pas être en conditions limitantes. Dans le mésocosme 1 et 2 après enrichissements, les concentrations respectives en nitrates étaient de 212 et 320  $\mu\text{moles.L}^{-1}$ . Après 41 jours de suivi on remarque (figure 33) que dans les trois mésocosmes les concentrations en nitrates ont fortement diminué. Soit respectivement plus de 50 % de la réserve initiale pour le mésocosme témoin, 70 % de la réserve initiale pour le mésocosme 1 et seulement 35 % dans le mésocosme 3.

#### **Les silicates (figure 35)**

En fin d'expérimentation la concentration en silicates dans les trois mésocosmes a elle aussi diminué. Pour le mésocosme témoin près de 98,5 % de la réserve initiale ont été consommés, près de 70 % pour le mésocosme 1 et seulement 25 % pour le mésocosme 2.



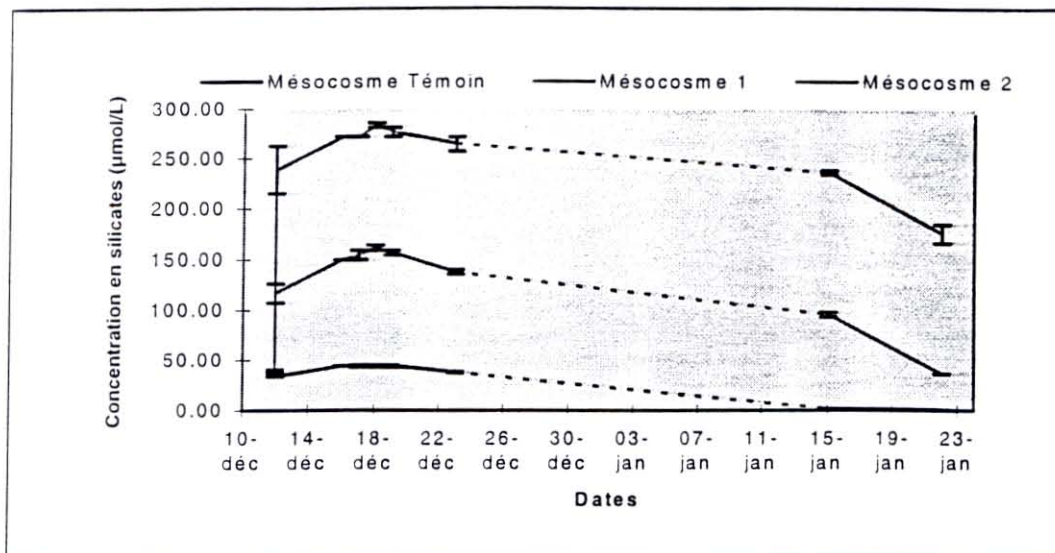


Figure 35 : Evolution de la concentration en silicates dans les trois mésocosmes

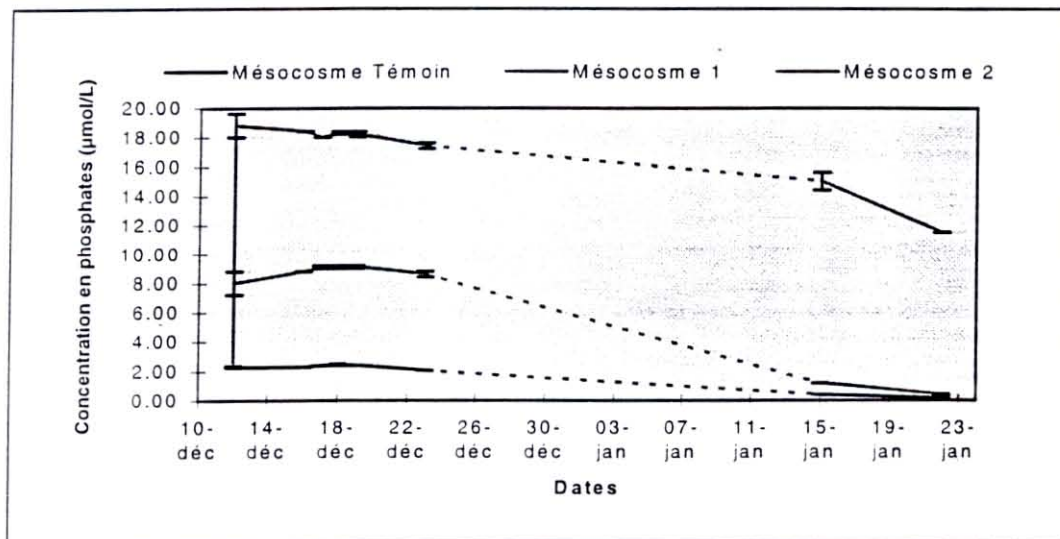


Figure 36 : Evolution de la concentration en phosphates dans les trois mésocosmes

### Les phosphates (figure 36)

Comme pour les nitrates, les concentrations en phosphates diminuent dans les trois mésocosmes. Pour le témoin et le mésocosme 1 ces concentrations deviennent presque nulles (ne reste respectivement que 7,5 et 5,5 % de la réserve initiale). Dans le mésocosme 2, par contre près de 60 % de la réserve initiale subsiste après 41 jours de suivi.

#### 3-7-1-2 Suivi des populations phytoplanctoniques

Lors de chaque prélèvement, des échantillons d'eau sont récoltés, un comptage des cellules algales au microscope optique est alors effectué, en s'intéressant surtout à *Haslea ostrearia*. On peut noter dans les mésocosmes 1 et 2, où l'algue avait été introduite que les deux populations se sont maintenues et de plus développées. Après 41 jours de culture malgré des conditions climatiques peu favorables, on a réussi à multiplier par 6 environ les concentrations initiales, allant ainsi jusqu'à une concentration de 12000 cellules/mL dans le mésocosme 2 et 7000 cellules/mL dans le mésocosme 1 (Fig. 37). Par contre dans le mésocosme témoin, où aucun enrichissement n'a été réalisé, la concentration en *Haslea ostrearia*, est faible seulement quelques individus étaient présents au début de l'expérimentation.

À To, en effet la population phytoplanctonique dans les trois mésocosmes est identique, par contre (Figure 38) après 41 jours de cultures on s'aperçoit que nous n'obtenons pas la même composition phytoplanctonique dans les trois mésocosmes.

Dans le mésocosme témoin un peuplement assez riche s'est installé, constitué principalement d'espèces en chaînes (*Skeletonema costatum*, *Leptocylindrus sp*, *Chaetoceros sp*) et d'espèces comme *Nitzschia closterium*, *Nitzschia sigma...* Ainsi la densité numérique en cellules est proche de 180000 cellules/mL. Dans le mésocosme 1, où la densité numérique en cellule initiale en *Haslea ostrearia* était de 1000 cell./mL, on retrouve le même peuplement, que dans le mésocosme témoin, cependant les densités numériques en cellules sont beaucoup plus faibles.

Dans le mésocosme 2, beaucoup moins d'espèces sont présentes la richesse spécifique est beaucoup moindre, et l'espèce majoritaire est *Haslea ostrearia*.

Il semblerait donc que le fait d'introduire *Haslea ostrearia* à une densité importante initialement, modifie à long terme la composition spécifique d'un peuplement naturel, par des mécanismes de compétition interspécifique qu'il reste à préciser. Pourtant cette algue assez grosse se divise de façon beaucoup moins rapide que les diatomées en chaînes comme *Skeletonema costatum*, *Leptocylindrus sp*, *Chaetoceros sp* lui conférant donc un désavantage compétitif.

#### 3-7-2 Expérimentations en période printanière (La Tremblade)

Lors de cette expérience, 6 mésocosmes ont été immergés dans la claire n° 5 du marais expérimental de la station IFREMER La Tremblade (Fig. 1). L'influence de plusieurs facteurs a pu être étudiée : influence de l'enrichissement sur la production phytoplanctonique, influence des huîtres (excrétion, consommation...), influence de l'ensemencement en *H. ostrearia*.

Les mésocosmes ont été immergés avec un fond étanche en PVC (pas d'influence du sédiment), les huîtres introduites dans certains mésocosmes ont été mises à la densité de 20 au



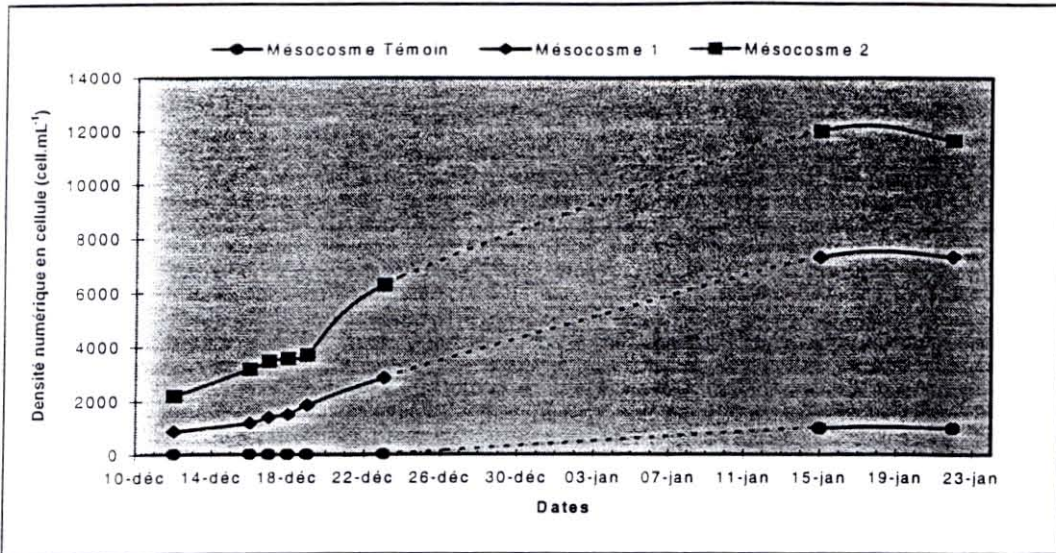


Figure 37 : Evolution dans les trois mésocosmes de la densité numérique en cellule pour *Haslea ostrearia*

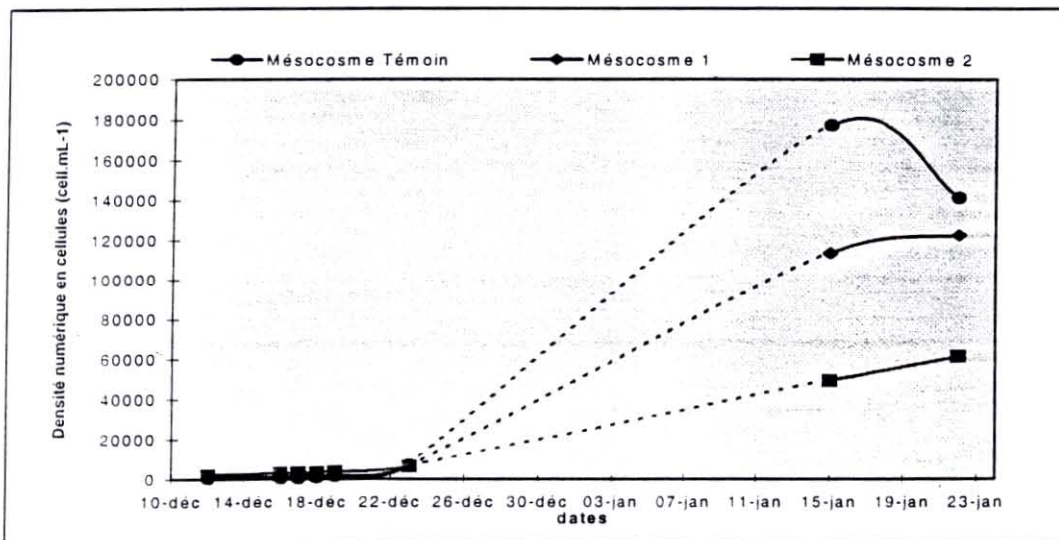


Figure 38 : Evolution des densités numériques en cellules observées dans les trois mésocosmes toutes espèces de diatomées confondues

m<sup>2</sup> soit 5 huîtres par mésocosme à T0, tandis que pour d'autres mésocosmes *H. ostrearia* a été introduite à la densité de 2000 cellules.mL<sup>-1</sup>.

Tableau 14 : Description des différents mésocosmes immergés dans la claire n°5.

Mésocosmes	
M1	Témoin
M2	+N+P+Si
M3	+Huîtres
M4	+N+P+Si+Huîtres
M5	+N+P+Si+ <i>H. ostrearia</i>
M6	+N+P+Si+ <i>H. ostrearia</i> +Huîtres

Après 10 jours, l'expérience est arrêtée, seul un bilan entre T0 et T+10 est réalisé. Les teneurs en sels nutritifs sont consignées dans la figure 39. Nous avons ensuite comparé les différentes concentrations entre T0 et T+10, une analyse de variance avec un test de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0.05$ ) est réalisée (Tableau 15).

Tableau 15. ANOVA à un facteur (Test de Kruskal-Wallis,  $\alpha=0,05$ ) sur les teneurs en sels nutritifs dans les différents mésocosmes au début et en fin d'expérience.

	T0		T+10	
	H	P	H	P
Azote minéral dissous	17.79	<0.01	21.82	<0.001
Silicates dissous	17.55	<0.01	22.18	<0.001
Phosphore minéral dissous	18.51	<0.01	21.97	<0.001

Les concentrations en sels nutritifs N minéral dissous ( $\text{NO}_2+\text{NO}_3+\text{NH}_4$ ), en silicates et en phosphore minéral dissous diffèrent significativement pour chaque mésocosmes entre le début et la fin de l'expérimentation. Pour l'ammoniaque, les nitrates, les silicates ainsi que le phosphore minéral dissous une forte baisse des concentrations est constatée, par contre seules les concentrations en nitrites ont augmenté dans 4 des 6 mésocosmes (voir Fig. 39), signe d'une probable activité microbienne.

Les comparaisons multiples réalisées par des tests SNK mettent en évidence à T+0 des différences significatives au seuil de 5% pour l'azote minéral dissous, les silicates et le phosphore minéral dissous entre deux groupes homogènes de mésocosmes (groupe M1 et M3) et (groupe M2, M4, M5, M6), cette différence logique s'explique par l'enrichissement réalisé. Après 10 jours d'expérimentations, les tests SNK montrent des différences significatives entre tous les mésocosmes, sauf entre M1 et M3 pour ce qui concerne l'azote minéral dissous et le phosphore minéral dissous, et entre M1 et M4 pour les silicates.

Les diminutions en sels nutritifs après dix jours d'expérimentations sont donc le reflet d'une production phytoplanctonique dans les différents mésocosmes, cependant si des différences significatives s'observent pour la majorité des mésocosmes, le témoin (M1) et le mésocosme contenant des Huîtres (M3) semblent se comporter de la même façon vis à vis de l'azote minéral dissous et du phosphore minéral dissous. L'influence éventuelle des huîtres sur ces deux sources nutritives n'est pas établie (excrétion, rétention...).



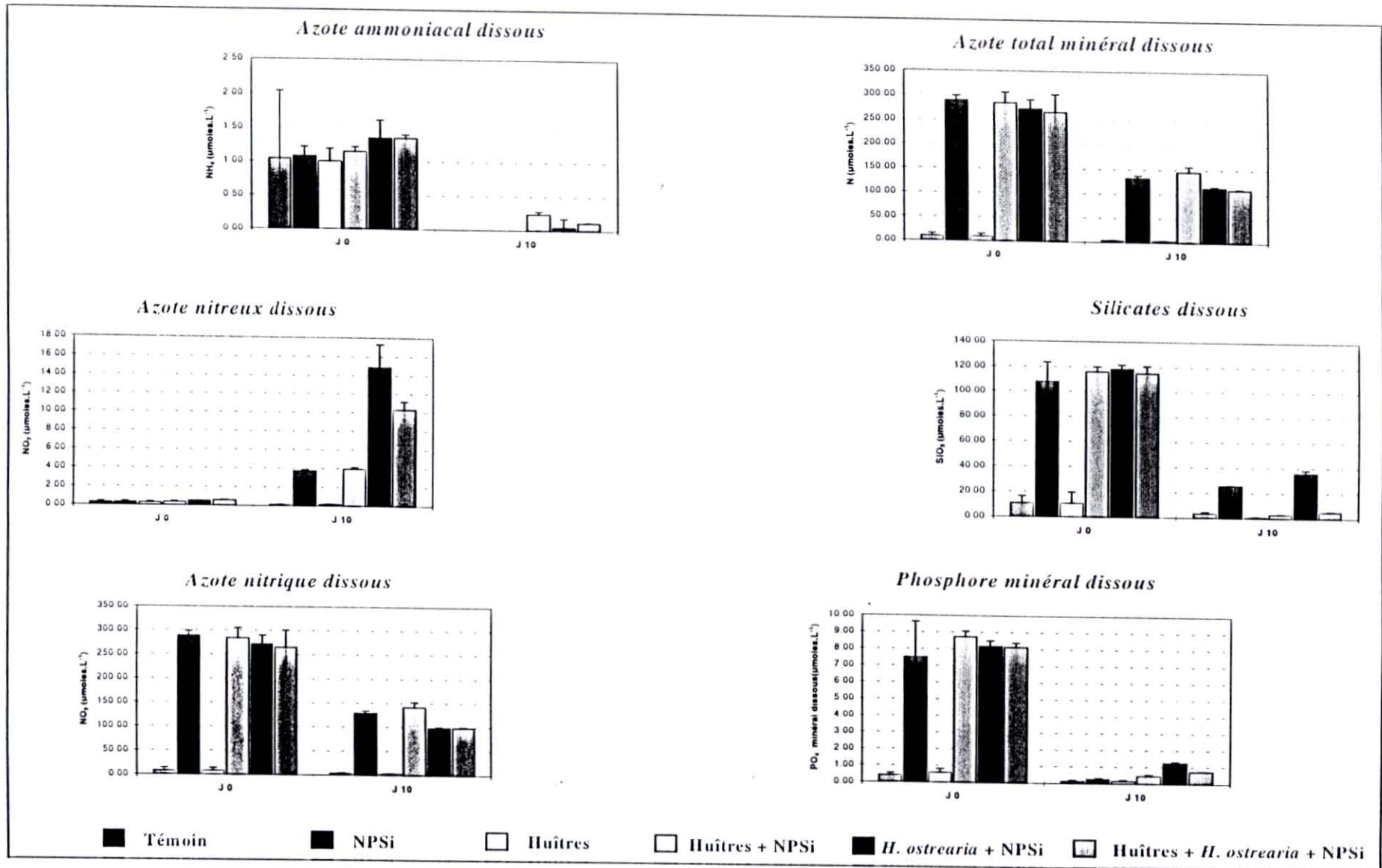


Figure 39 : Concentrations en µmoles.L<sup>-1</sup> des différents sels nutritifs à T0 et T+10 dans les six mésocosmes immergés dans la claire n°5

En parallèle il est intéressant de regarder les concentrations en chlorophylle *a* et phéopigments au sein des mésocosmes pour avoir une idée de la production phytoplanctonique (Fig. 40).

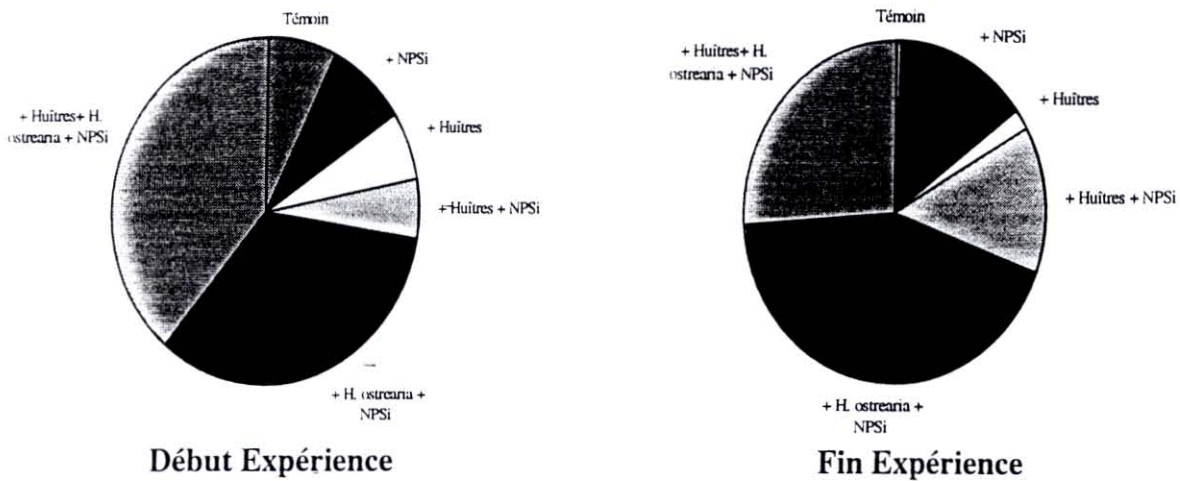


Fig. 40 : Répartition des teneurs en Chlorophylle *a* + Phéopigments par rapport à la somme totale des concentrations dans les différents mésocosmes.

En début d'expérience 2 groupes homogènes de mésocosmes se distinguent ; le premier groupe (M1, M2, M3 et M4) et le second groupe où *H. ostrearia* a été introduite à la densité de 2000 cellules.mL<sup>-1</sup> (M5 et M6). Par contre en fin d'expérience, les concentrations en pigments sont différentes dans la plupart des mésocosmes. Une seconde analyse peut être faite en regardant le tableau 16.

Tableau 16: teneurs en pigments totaux (Chlorophylle *a* et Phéopigments) en µg.L<sup>-1</sup> dans les différents mésocosmes en début et en fin d'expérience et facteur multiplicatif en prenant le témoin comme référence.

Mésocosmes	Début expérience		Fin expérience	
	moyenne ± int. conf.	Facteur multiplicatif	moyenne ± int. conf.	Facteur multiplicatif
Témoin	3.08 ± 0.87		4.50 ± 0.45	
+N+P+Si	3.41 ± 3.05	1	96.36 ± 24.31	21
+Huîtres	2.70 ± 0.97	1	13.18 ± 12.20	3
+N+P+Si+Huîtres	2.39 ± 0.53	1	97.02 ± 32.28	22
+N+P+Si+ <i>H. ostrearia</i>	14.05 ± 4.66	5	297.63 ± 84.28	66
+N+P+Si+ <i>H. ostrearia</i> +Huîtres	16.28 ± 0.27	5	179.92 ± 63.80	40

Plusieurs conclusions peuvent être faites après examen de ce tableau :

- ☒ La seule présence des Huîtres permet de multiplier la biomasse par 3 (cette valeur tient compte de la consommation du phytoplancton par les huîtres).
- ☒ Le fait d'enrichir permet de produire 22 à 23 fois plus de biomasse par rapport au témoin.
- ☒ En introduisant *Haslea ostrearia* et en enrichissant, la quantité en pigments totaux peut être multiplié par 66, la présence d'huîtres ramenant cette valeur à 40.



De plus pour apprécier le phénomène de verdissement, la concentration en marennine externe (présente à l'état dissous dans l'eau de mer) a été estimée (Fig. 41).

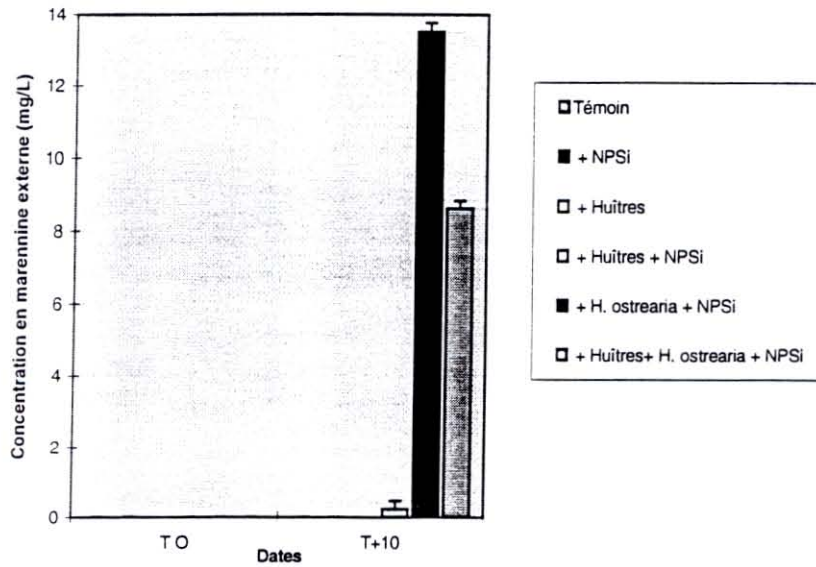


Fig. 41 : Evolution de la concentration en marennine externe en  $\text{mg.L}^{-1}$  entre T0 et T+10 dans les six mésocosmes.

A T0, aucune trace de marennine n'est détectée dans l'eau des mésocosmes, par contre après 10 jours d'expérimentation nous pouvons noter de très fortes concentrations observées pour 2 mésocosmes sur 6. Après avoir inoculé *H. ostrearia* en conditions naturelles, on s'aperçoit que la population introduite s'est maintenue et s'est développée. La présence d'huîtres dans le mésocosme 6, induit une diminution de la concentration soulignant une consommation d'*Haslea ostrearia*, et de fait une fixation du pigment sur les branchies des huîtres. Après l'expérimentation en effet quelques individus ont été disséqués, ils présentaient tous une forte coloration des branchies.

L'analyse des échantillons fixés de phytoplancton devrait permettre de connaître les espèces s'étant développées dans chaque mésocosmes, cette analyse est en cours actuellement.

## 4 Conclusion Générale

### 4-1 Points de Blocage

#### 4-1-1 Période d'échantillonnage

Pour le moment en 1996, pour des raisons d'entretien des claires (préparation traditionnelle des bassins pour la période d'affinage des huîtres s'effectuant entre septembre et décembre), la mise à sec des bassins (parage et gralage) s'est réalisée entre mai et fin août, empêchant un suivi estival. De plus il s'est avéré que cette période d'entretien a duré trop longtemps, causant un problème d'étanchéité des claires après remise en eau. En conséquence cette année, le parage et le gralage s'effectueront sur une période plus courte et plus tardive (entre août et septembre), ce qui permettra des expérimentations en période estivale qui correspondent à la deuxième phase du programme initial.

#### 4-1-2 Suivi du verdissement dans les claires expérimentales

Depuis le début de l'étude sur le site expérimental de La Tremblade, le phénomène de verdissement ne s'est pas observé dans les claires. Par contre la réserve (R) (voir figure 1) a verdi mais le phénomène n'a pu se maintenir suite à des conditions climatiques peu favorables conjuguées à un cycle de vives eaux qui a dilué le phénomène naissant (apport d'eau nouvelle). La difficulté majeure restant que le phénomène de verdissement lorsqu'il se produit et s'observe est la conjugaison de conditions favorables qui vraisemblablement sont antérieures dans le temps aux conditions observées durant le phénomène.

#### 4-1-3 Induction de la prolifération d'*H. ostrearia*

Les expérimentations en mésocosmes *in situ* qui débutent n'ont pas permis pour le moment d'orienter les blooms provoqués vers la dominance d'*H. ostrearia* sans introduire cette dernière de façon artificielle (inoculum). L'utilisation des mésocosmes en combinant plusieurs facteurs comme la présence d'huître, un enrichissement correspondant aux besoins nutritionnels de l'algue, ainsi que l'inoculation de l'algue à différentes concentrations devraient permettre de mesurer l'impact de ces facteurs sur le peuplement phytoplanctonique, et plus précisément sur la navicule. Une expérience de ce type est prévue en période automnale.

### 4-2 Points forts

#### 4-2-1 Comparaisons des deux claires expérimentales

Nous l'avons vu, les cycles de nutriments sont identiques dans les deux claires. L'azote est l'élément le plus abondant dans les eaux d'alimentation, les silicates et les phosphates se retrouvant en déficit par rapport à l'azote dissous. Après séjour de l'eau dans les claires, le "pool" initial de nutriments a fortement diminué. Les formes azotées se retrouvent alors en déficit par rapport aux silicates et phosphates. De plus, la claire contenant les huîtres présente des caractéristiques légèrement différentes. Il semble en effet que la présence des huîtres à la densité de 20 au m<sup>2</sup> ait une influence directe sur certains paramètres (sur les teneurs en pigments totaux et caroténoïdes par



consommation des micro-algues se développant dans la claire, et sur les concentrations en ammoniacque (excrétion)).

Il sera donc intéressant de vérifier si ces différences observées, d'une part entre les positions dans les cycles d'alimentation, et d'autre part celles dues à la présence des mollusques, sont capables de modifier la fertilité potentielle des eaux pour la diatomée-test *Haslea ostrearia*.

#### **4-2-2 Résultats des bio-essais**

Comme lors de l'étude précédente (Turpin et Hamon, 1995), la silice apparaît comme étant le premier facteur limitant la production de la diatomée *Haslea ostrearia*. Phosphore et azote ne semblent pas avoir le même rôle que le silicium dans ce cas précis. Par contre, on peut remarquer que pour des eaux entrant dans les deux claires, l'enrichissement P+Si permet d'obtenir les densités cellulaires les plus fortes, et que pour des eaux qui ont séjourné dans les claires, l'enrichissement permettant la meilleure production (en nombre de cellules par mL) est l'enrichissement N+P+Si.

De plus l'analyse des tests biologiques permet de dire, que même si entre les dates de prélèvements il existe des différences significatives quant aux densités numériques en cellules observées après culture de l'algue test, les positions dans le cycle d'alimentation des claires ne modifient pas la fertilité potentielle pour *Haslea ostrearia*. Pourtant l'on pouvait s'attendre à une toute autre constatation, étant donné que les teneurs en sels nutritifs étaient largement différentes.

Si l'on compare également les deux claires ostréicoles, aucune différence significative n'est observée vis à vis de la fertilité potentielle. La présence des huîtres ne modifie pas cette dernière vis à vis de la diatomée test.

De plus les différents sels nutritifs sont utilisés de façons diverses par la diatomée *Haslea ostrearia*, diversité qui est fonction de la nature même de l'élément, de la présence des huîtres dans certains cas, mais aussi de la qualité des eaux (eaux entrantes ou bien eaux ayant stabulé entre deux marées de vives eaux). Les témoins traduisent l'utilisation des sels nutritifs présents et nous renseignent donc sur les besoins réels de l'algue. Tout d'abord pour l'azote minéral dissous, les eaux entrantes dans les claires sont des eaux riches en composés azotés (eaux de la Seudre). Lorsque ces eaux séjournent l'espace d'un renouvellement (entre deux marées de vives eaux), elles s'appauvrissent en sels nutritifs du fait du développement de phytoplancton dans ces claires. Si ces eaux considérées comme "pauvres en sels nutritifs" sont utilisées pour produire *Haslea ostrearia*, le résultat obtenu est paradoxal, en effet en fin de phase exponentielle les densités numériques en cellules sont équivalentes à celles obtenue avec des eaux dites riches (entrantes dans les claires). Par contre les quantités de sels nutritifs utilisées sont différentes uniquement pour l'azote minéral. L'algue serait donc capable d'adapter sa physiologie en fonction de la quantité d'azote disponible dans l'eau. Il y aurait une surconsommation d'azote lorsque cet élément n'est pas en condition limitante.

D'un point de vu pratique pour des eaux entrantes dans les claires lors des marées de vives eaux les rendements d'assimilation moyens estimés pour *Haslea ostrearia* sont de 12.3/14/1 (N/Si/P).

#### **4-2-3 Suivi des populations de diatomées**

La variabilité spatiale observée met en évidence le fait que la répartition des populations de diatomées n'est pas homogène dans la colonne d'eau. L'hypothèse émise supposant une répartition homogène du peuplement au sein des claires doit être rejetée, certains paramètres physiques (par exemple le vent,...) sont susceptibles d'influencer cette répartition.

En conséquence nous allons modifier la stratégie d'analyse des échantillons tout en tenant compte cependant de la variabilité spatiale au sein des claires ainsi, pour chaque date, 10 mL de chaque échantillon (sous-unité spatiale) seront prélevés et homogénéisés. Ainsi un nouvel échantillon de 60 mL regroupant les six points de chaque claire sera analysé tenant compte de ce fait de la variabilité spatiale. Pour le moment l'analyse avec cette nouvelle stratégie est en cours.

#### 4-2-4 Expérimentations en Mésocosmes

##### 4-2-4-1 Expérimentations au CREMA-L'HOUMEAU

Après 41 jours de suivi, nous pouvons donc dire que dans les trois mésocosmes un peuplement phytoplanctonique s'est installé et s'est développé. Avec des conditions climatiques très particulières, froid intense avec gel de l'eau de surface pendant plusieurs jours, les populations de microalgues se sont maintenues, et même multipliées.

En ajoutant *Haslea ostrearia* au peuplement présent au départ de l'expérimentation, nous avons montré que la richesse spécifique était plus faible dans le mésocosme où elle était introduite en plus grand nombre. Lors des prochaines expérimentations, nous nous efforcerons de comprendre et de déterminer les facteurs qui peuvent favoriser le développement d'*Haslea ostrearia* (présence d'huîtres, enrichissement N/Si/P (12.3/14/1)...).

##### 4-2-4-1 Expérimentation à LA TREMBLADE

En période printanière, après 10 jours d'expérimentation en mésocosmes nous avons pu montrer *in situ* :

- Que le seul fait d'introduire des huîtres permet de multiplier la production phytoplanctonique nette (biomasse produite-biomasse consommée) d'un facteur 3 par rapport au témoin.
- Que l'enrichissement en N/P/Si permet de multiplier la biomasse d'un facteur 21, l'analyse des peuplement phytoplanctonique nous renseignera sur la diversité spécifique et les différentes espèces produites.
- Qu'il est possible d'obtenir un verdissement, en provoquant et en maintenant le bloom d'*Haslea ostrearia*, après l'avoir inoculé à la densité de 2000 cell.mL<sup>-1</sup>. La concentration en marennine obtenue étant de 13.5 mg.L<sup>-1</sup>, ce qui conduit à un verdissement intense des branchies des mollusques immergés.



## **Annexes**

Tableau annexe : Liste de présence-absence des différentes espèces de diatomées rencontrées lors de la période d'échantillonnage (Janvier-Avril 96) dans les deux claires ostréicoles du marais expérimental de la station IFREMER La Tremblade. (Classification taxonomique selon Round *et al.*, 1990)

CLASSE	SOUS CLASSE	ORDRE	FAMILLE	ESPECES	Claire avec huîtres	Claire sans huître		
<b>COSCINODISCOPHYCEAE (CENTRALES)</b>	Thalassiosirophycidae	Thalassiosirales	<i>Thalassiosiraceae</i>	<i>Thalassiosira decipiens</i>	+	+		
				<i>Thalassiosira (faltax)</i>		+		
				<i>Thalassiosira (rotula)</i>	+			
				<i>Thalassiosira sp1</i>		+		
				<i>Thalassiosira sp2</i>	+	+		
				<i>Skeletonemataceae</i>				
				<i>Skeletonema costatum</i>	+			
				<i>Lauderiaceae</i>				
				<i>Lauderia annulata</i>		+		
				Coscinodiscophycidae	Coscinodiscales	<i>Heliopeltaceae</i>	<i>Actinoptychus (splendens)</i>	+
	<i>Actinoptychus undulatus</i>		+					
	Melosirales	<i>Melosiraceae</i>	<i>Melosira juergensii</i>				+	
			<i>Melosira nummuloïdes</i>				+	+
	Biddulphiophycidae	Triceratiales	<i>Paraliaceae</i>	<i>Paralia sulcata</i>	+	+		
<i>Triceratiaceae</i>				<i>Ondotella mobiliensis</i>	+			
<b>FRAGILARIOPHYCEAE (ARAPHIDES, PENNALES)</b>	Fragilariophycidae	Fragilariales	<i>Fragilariaceae</i>	<i>Plagiogrammaceae</i>				
				<i>Dimeregramma (minor ou marinum)</i>	+			
				<i>Fragilaria intermedia</i>	+			
				<i>Synedra sp (ulna)</i>	+			
				<i>Thalassionematales</i>	<i>Thalassionemataceae</i>	<i>Thalassiothrix sp</i>	+	+
<b>BACILLARIOPHYCEAE (RAPHIDES, PENNALES)</b>	Bacillariophycidae	Naviculales	<i>Diploneidaceae</i>	<i>Diploneis (didyma)</i>	+	+		
				<i>Diploneis sp1</i>	+	+		
				<i>Diploneis sp2</i>		+		
				<i>Diploneis sp3</i>	+	+		
				<i>Diploneis (bombus)</i>		+		
				<i>Naviculaceae</i>				
				<i>Haslea ostrearia</i>	+	+		



CLASSE	SOUS CLASSE	ORDRE	FAMILLE	ESPECES	Claire avec huitres	Claire sans huitre
<b>BACILLARIOPHYCEAE</b> (RAPHIDES, PENNEES)	Bacillariophycidae	Naviculales	<i>Naviculaceae</i>	<i>Navicula gregaria</i>	+	+
				<i>Navicula sp1</i>	+	+
				<i>Navicula sp2</i>	+	+
				<i>Navicula sp3</i>		+
				<i>Navicula sp4</i>	+	
				<i>Navicula sp6</i>	+	+
				<i>Navicula sp7</i>	+	+
				<i>Navicula sp8</i>	+	+
				<i>Navicula sp9</i>		+
				<i>Navicula sp10</i>	+	+
				<i>Navicula sp11</i>	+	+
				<i>Navicula sp12</i>	+	+
				<i>Navicula sp13</i>	+	+
				<i>Navicula sp14</i>	+	+
				<i>Navicula sp15</i>		+
				<i>Navicula sp16</i>	+	
				<i>Navicula sp17</i>	+	+
				<i>Navicula sp18</i>	+	+
				<i>Navicula sp19</i>	+	+
				<i>Navicula sp20</i>	+	+
				<i>Navicula sp21</i>	+	+
				<i>Navicula sp22</i>	+	+
				<i>Navicula sp23</i>		+
				<i>Navicula sp24</i>	+	+
				<i>Navicula sp25</i>		+
				<i>Navicula sp26</i>	+	
				<i>Navicula sp27</i>		+
				<i>Navicula sp28</i>	+	+
				<i>Navicula sp29</i>	+	
				<i>Navicula sp30</i>	+	+
				<i>Navicula sp31</i>	+	
				<i>Navicula sp32</i>	+	
				<i>Navicula sp33</i>	+	+
				<i>Navicula sp34</i>		+
				<i>Navicula sp35</i>		+

CLASSE	SOUS CLASSE	ORDRE	FAMILLE	ESPECES	Claire avec huitres	Claire sans huitre
<b>BACILLARIOPHYCEAE</b> (RAPHIDES, PENNEES)	Bacillariophycidae	Naviculales	<i>Naviculaceae</i>	<i>Pleurosigma (angulatum)</i>	+	
				<i>Gyrosigma (hippocampus)</i>		+
				<i>Gyrosigma sp1</i>	+	+
		Thalassiosiphales	<i>Catenulaceae</i>	<i>Amphora hybrida</i>	+	
				<i>Amphora coffeaformis</i>	+	+
				<i>Amphora ostrearia</i>	+	+
				<i>Amphora sp1</i>		+
				<i>Amphora sp2</i>		+
				<i>Amphora sp3</i>		+
				<i>Amphora sp4</i>		+
				<i>Amphora sp7</i>	+	
				<i>Amphora sp8</i>	+	
				<i>Amphora sp9</i>	+	
				<i>Amphora sp10</i>	+	
				<i>Amphora sp11</i>	+	
				<i>Amphora sp12</i>	+	
				<i>Amphora sp13</i>	+	+
				<i>Amphora sp14</i>		+
				<i>Amphora sp16</i>	+	+
	<i>Amphora sp17</i>	+				
	Bacillariales	<i>Bacillariaceae</i>	<i>Nitzschia acicularis</i>	+	+	
			<i>Nitzschia apiculata</i>	+	+	
			<i>Nitzschia bilobata</i>		+	
			<i>Nitzschia closterium</i>	+	+	
			<i>Nitzschia compressa var constricta</i>	+	+	
			<i>Nitzschia compressa var 1,2</i>	+		
			<i>Nitzschia granulata</i>	+	+	
			<i>Nitzschia longissima ssp1</i>	+	+	
			<i>Nitzschia longissima ssp2</i>	+	+	
			<i>Nitzschia longissima ssp3</i>	+	+	
			<i>Nitzschia longissima ssp4</i>		+	
			<i>Nitzschia lorenziana var incurva</i>	+		
<i>Nitzschia lorenziana var subtilis</i>			+	+		



CLASSE	SOUS CLASSE	ORDRE	FAMILLE	ESPECES	Claire avec huîtres	Claire sans huître
				<i>Nitzschia navicularis</i>	+	+
				<i>Nitzschia sigma</i>	+	+
<b>BACILLARIOPHYCEAE (RAPHIDES, PENNEES)</b>	Bacillariophycidae	Bacillariales	<i>Bacillariaceae</i>	<i>Nitzschia (filiformis)</i>	+	+
				<i>Nitzschia sp2</i>	+	+
				<i>Nitzschia sp3</i>		+
				<i>Nitzschia sp4</i>		+
				<i>Nitzschia sp5</i>	+	
				<i>Nitzschia sp6</i>	+	
				<i>Nitzschia sp7</i>	+	+
				<i>Nitzschia sp8</i>		+
				<i>Nitzschia sp9</i>		+
				<i>Nitzschia sp10</i>		+
				<i>Nitzschia sp11</i>	+	+
				<i>Nitzschia sp12</i>	+	+
				<i>Nitzschia sp13</i>	+	
				<i>Nitzschia sp14</i>	+	
				<i>Nitzschia sp15</i>	+	
				<i>Nitzschia sp16</i>		+
				<i>Nitzschia sp17</i>	+	
				<i>Nitzschia sp18</i>		+
				<i>Nitzschia sp19</i>	+	
				<i>Nitzschia sp20</i>		+
				<i>Nitzschia sp21</i>	+	
				<i>Nitzschia sp22</i>	+	
		Surirellales	<i>Surirellaceae</i>	<i>Surirella (brighwellii)</i>	+	+
				<i>Surirella (fastuosa)</i>		+
				<i>Surirella (fluminensis)</i>	+	
				<i>Surirella (ovalis)</i>	+	+
				<i>Surirella (ovata)</i>	+	+
				<i>Surirella sp 1</i>	+	
				<i>Campylodiscus sp1</i>		+
				<i>Campylodiscus sp2</i>	+	

## Bibliographie

- Berland, B. R., Bonin, D. J., Maestrini, S. Y. & Pointier, J.-P., 1973 a. Etude de la fertilité des eaux marines au moyen de tests biologiques effectués avec des cultures d'algues. II Limitation nutritionnelle et variabilité de l'inoculum. *Ins. Rev. Gesamten Hydrobiol.*, **58** (2) : 203-220.
- Blanchard, G., Chrétiennot-Dinet, M.-J., & Robert J.-M., 1988. Méthode simplifiée pour l'extraction du microphytobenthos par le gel de silice Ludox. *C.R. Acad. Sci., Paris, série III*, **307** : 569-576.
- Daget, J., 1976. Les modèles mathématiques en écologie. Masson Ed., Paris. 172 pp.
- De Jonge, V. N. & Bouwman, L. A., 1977. A simple density separation technique for quantitative isolation of meiobenthos using the colloïdal silica Ludox. *TM. Mar. Biol.*, **42** : 143-148.
- Grasshoff, K. & Johannsen, H., 1972. A new sensitive and direct method for the automatic determination of ammonia in sea water. *J. Cons., Cons. Int. Explor. Mer*, **34** : 516-521
- Koroleff, K., 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. ICES,C.M. 1969/C :9 Hydr. Comm.
- Lorenzen, C. J., 1967. Determination of Chlorophyll and Pheopigments : spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, **12** : 343-346.
- Maestrini, S.Y. & Robert, J.-M., 1981. Rendements d'utilisation des sels nutritifs et variations de l'état des cellules de trois diatomées des claires à huîtres de Vendée. *Oceanol. Acta*, **4** (1) : 13-21.
- Margalef, R., 1958. Information theory in ecology. *Gen. Syst.*, **3** : 36-71.
- Mullin, J.B. & Riley, J.P., 1955. The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Anal. Chim. Acta*, **12** : 162-170.
- Murphy, J. & Riley J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, **27** : 31-36.
- Nassiri, Y., Robert J.-M., Rincé, Y., Ginsburger-Vogel, T., 1997. The cytoplasmic fine structure of the diatom *Haslea ostrearia* in relation with marennine production. *Phycologia*, (in press).
- Neuville, D., 1978. Les diatomées des claires ostréicoles . Contribution des techniques de culture *in vitro* à l'étude de leur biologie. *Thèse Doct. Etat, Université de Poitiers*, 279 p.
- Redfield, A. C., 1934. On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. *In James Johnstone Memorial Volume*, The University Press, Liverpool, 176-192.
- Rincé, Y., 1993. Les diatomées marines de la région de Basse-Loire : Inventaire, distribution spatio-temporelle et devenir expérimental des peuplements naturels d'écosystèmes ostréicoles. *Thèse Doct. Etat, Biologie, Université Nantes* . 489 pp.



Robert, J.-M., Maestrini, S. Y., Bagès, M. & Dréno J.-P., 1979. Estimation au moyen de tests biologiques de la fertilité pour trois diatomées des eaux des claires à huitres de Vendée. *Océanol. Acta.*, **2** (3), 275-286.

Robert, J.-M., 1983. Fertilité des eaux des claires ostreicoles et verdissement : Utilisation de l'azote par les diatomées dominantes, *Thèse Doct. Etat, Biologie, Université Nantes* : 281 pp + Annexes.

Round, F. E., Crawford, R. M. & Mann, D.G., 1990. The Diatoms; Biology & Morphology of the genera. Cambridge University Press. 747 p.

Simonsen, R., 1974. The diatom plankton of the Indian Ocean expedition of R/V *Meteor* 1964-5. "Meteor" *Forsch. - Ergebnisse Reihe D*, **19**, 1-107.

Solorzano, L., 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.*, **14** : 799-801.

Strickland, J. D. H. & Parsons T. R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.*, **167** : 1-311.

Turpin, V. & Hamon, R., 1995. Etude des paramètres limitants de la production d'*Haslea ostrearia* Simonsen en conditions naturelles de gestion hydraulique d'un marais expérimental. Rapport de contrat n° 94 55 26014, IFREMER- Université de Nantes (EP 61 CNRS, ISOMer), : 15pp., 20 pl. h.t., annexes.

Utermöhl, H., 1958. Zur vervollkommung der quantitativen phytoplankton-Methodik. *Int. Ver. Theoret. Angaw. Limnol.*, **9** : 1-38.