



## F.Bio 2004-04 : Protocole standard pour la comparaison et le testage des caractéristiques de différents lots d'*Artemia*

Dominique PHAM (dpham@ifremer.fr)

### 1 – Introduction

La comparaison et l'évaluation de la qualité de lots d'*Artemia* sont souvent d'actualité. Des nouveaux stocks sont régulièrement achetés par les écloséries, pas toujours au même fournisseur et parfois avec des origines géographiques variées. Un protocole standard a été mis au point au LAC afin de réaliser les tests comparatifs. Sa mise en oeuvre permet de comparer différents lots dans des conditions reproductibles et d'utiliser des critères objectifs.

### 2 – Matériel



- Ballons de 2 litres (3 par lots à comparer)
- Arrivées d'air individuelles (tubes de verre jusqu'au fond du ballon)
- Bac recevant les ballons et servant de bain-marie
- 1 résistance chauffante de 300 watts avec thermorégulation
- 1 pompe de recirculation pour homogénéiser l'eau du bain-marie
- 1 sonde d'enregistrement automatique de la température
- 20 g d'*Artemia* de chaque lot à tester. Si possible prélever 2-4g par boîte ou sachet pris au hasard dans le lot. Conserver au sec, au frais et à l'abri de la lumière.
- 1 loupe binoculaire avec micromètre oculaire
- 1 balance de précision à 0.1g
- petit matériel divers : seau, éprouvette graduée de 1 l, pipettes de 1 ml, cuves de comptage

### 3 – Conditions de déroulement du test

- durée : 24 heures
- température : 28-30°C
- salinité : 30‰
- lumière naturelle > 2000 lux
- ballons remplis à 2 litre avec 2g de cystes/litre
- pH : 8-8.5

### 4 – Protocole suivi

① Estimation du nombre de cystes d'*artémia* dans 4 g :

4g de cystes d'artémia sont pesés à 0,1 g près et disposés dans un seau rempli avec 10 litres d'eau de mer. Après agitation, 5 échantillons de 1 ml sont prélevés à l'aide d'une pipette graduée et le nombre de cystes par prélèvement est compté sur une Cuve de Dolphus. La moyenne des 5 échantillons permet de calculer le nombre de cystes présents dans les 4 g introduits initialement. Cette opération est réalisée pour chaque lot.

② Préparation de la solution mère à 30 ‰ de salinité :

Dans un bac de 100 litres, 15 litres d'eau de mer filtrée à 1µm sont préparés. A l'aide d'un réfractomètre, la salinité est mesurée puis de l'eau douce est ajoutée pour atteindre une salinité de 30‰. Chaque ballon est rempli avec 2 litres de la solution mère.

③ Préparation du bain-marie :

La cuve est placée à l'extérieur (luminosité naturelle), remplie avec de l'eau douce, puis une résistance y est plongée de manière à maintenir l'eau des ballons à 30°C (un test à blanc est réalisé la veille de l'expérience). Une fois la température stabilisée, les ballons sont placés dans le bain-marie.

④ Ensemencement des ballons :

L'ensemencement des ballons se fait de manière aléatoire à partir d'une table de nombre au hasard. Un bullage permet la mise en suspension permanente des cystes dans l'eau.

⑤ Prise des paramètres à étudier :

Un enregistrement en continu (toutes les 15 minutes) de la température du bain-marie est réalisé. Une vérification de la température du bain est effectuée en journée toutes les heures.

24 heures après l'ensemencement, chaque ballon est vidé dans des éprouvettes graduées de 1 litre puis dans un seau, jusqu'à obtenir 10 litres. Après un bon brassage, 5 prélèvements de 1 ml sont effectués avec une pipette graduée de 1 ml, et sont comptés :

- Le nombre de cystes non éclos
- Le nombre de nauplii
- L'activité des nauplii
- La couleur des nauplii (fraichement éclos N1 ou éclos depuis au moins 6h N2)



Le taux d'éclosion de chaque échantillon est déterminé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'éclosion} = \frac{\text{Nombre de nauplii}}{\text{Nombre de nauplii} + \text{nombre de cystes non éclos}}$$

Des mesures de la taille des cystes (20) et de la longueur des nauplii (20) après éclosion sont également effectuées.

⑥ Les critères quantitatifs des lots de cystes d'*Artemia* sont comparés à l'aide d'une analyse de variance sur Stview.