



**ÉCOCEAN**

Environnement littoral et marin

**Digestibilité de l'algue**  
**Skeletonema costatum**  
**par la palourde japonaise**  
**Ruditapes philippinarum**

Eléments d'optimisation  
appliqués à la vénériculture  
intensive en marais

Contrat ECOCEAN-La Rochelle n° 90 1208  
Contrat IFREMER n° 90 5526080

*Etude réalisée par P.-G. SAURIAU*

Janvier 1991

HOTEL D'ENTREPRISE - AVENUE MARILLAC  
17000 LA ROCHELLE  
TEL. 46 45 43 42 FAX. 46 44 71 16

Optimisation de la vénériculture intensive en marais

**SOMMAIRE**

INTRODUCTION	3
1. METHODE D'ASPERSION	5
2. DIGESTIBILITE DE SKELETONEMA COSTATUM	7
2.1. Méthodologie	7
2.1.1. Poste expérimental de filtration	7
2.1.2. Protocole expérimental in vitro	7
2.1.3. Protocole expérimental in situ	7
2.1.4. Protocole de prélèvement des fécès	8
2.1.5. Rendement d'absorption	8
2.2 Résultats et discussion	10
2.2.1. Taux de digestibilité in vitro	10
2.2.2. Taux de digestibilité in situ	10
3. TRANSPORT IN SITU DES CHAINES DE SKELETONEMA COSTATUM	11
3.1. Méthodologie	11
3.2 Résultats et discussion	11
CONCLUSION	13
ANNEXE 1	15

## INTRODUCTION

Réalisé à la station IFREMER de BOUIN, l'élevage intensif en claires ostréicoles du Mollusque Bivalve *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve), appelé communément palourde japonaise, a nécessité la mise au point et la maîtrise de nombreux paramètres aquacoles. Cette recherche qui arrive à son terme a été abordée en plusieurs phases successives et complémentaires (Baud & Haure, 1989; Baud *et al.* 1990).

La première phase de l'élevage a été réalisée en 1988. Elle consistait à tester la faisabilité biologique de l'élevage intensif en utilisant un système en circuit ouvert (Baud *et al.*, 1990) et en utilisant une ressource alimentaire phytoplanctonique mono-spécifique. L'algue *Skeletonema costatum* (Grev.) est en effet produite de façon continue de Mars à Novembre à partir d'eau salée souterraine (Baud, 1988). La souche naturelle de *S. costatum* provient de la Baie de Bourgneuf (Rincé, 1979) et est utilisée par répiquages successifs dans des bacs de production algale d'une capacité voisine de 50 m<sup>3</sup>. Divers paramètres relevant des techniques aquacoles ont ainsi été testés : densité de palourdes, quantité de nourriture et vitesse de la tranche d'eau en circulation. Mais ce système intensif nécessite, d'une part, une production algale très importante et, d'autre part, des volumes d'eau de mer très conséquents du fait du fonctionnement de la claire en circuit ouvert. Ceci soulève donc la question d'une meilleure gestion des coûts de l'élevage et principalement ceux liés aux volumes de nourriture et d'eau de mer utilisés.

La seconde phase de l'élevage, suite à cette première étape de faisabilité biologique, a été réalisée en 1989. Les buts de cette seconde phase étaient de tester une réduction des coûts de l'élevage tout en cherchant à optimiser les rendements de croissance de la palourde japonaise. La réduction des coûts de cet élevage intensif en marais passe ainsi par une limitation des volumes d'eau de mer utilisés et par une limitation de la quantité de nourriture phytoplanctonique injectée dans l'élevage. Ainsi un système d'élevage intensif en circuit semi-fermé a été réalisé. Les paramètres testés ont été le taux de renouvellement en eau de mer, la quantité de nourriture injectée et les vitesses de la masse d'eau (Sévérin, 1990).

En parallèle aux tests de ces nouvelles conditions d'élevage, une série d'expérimentations a été conduite; expérimentations qui ont fait l'objet du précédent rapport ECOCEAN/IFREMER (Sauriau, 1990). Ces expérimentations avaient pour buts de résoudre deux questions fondamentales, à savoir (1) qu'elle est la loi de décantation de l'algue *Skeletonema costatum* et (2) y-a-t'il adéquation entre les paramètres contrôlés de l'élevage intensif et les exigences écophysologiques de la palourde japonaise ?

Les conclusions issues de cette première série d'expérimentations peuvent être succinctement résumées comme suit :

### (1) Loi de décantation de *Skeletonema costatum*

Les vitesses de décantation mesurées *in vitro* sont faibles, de l'ordre de 0,5 à 2 m/24 heures pour une gamme de température de 11 à 30°C. Dans la mesure où des résultats acquis *in vitro* peuvent être transposés *in situ*, ils infirment l'hypothèse émise d'une rapide décantation de la nourriture phytoplanctonique distribuée dans le système d'élevage. Les gradients de nourriture algale observés dans les claires expérimentales seraient alors directement imputables à la dynamique propre du système de distribution de cette nourriture ainsi qu'à l'activité de filtration des Mollusques.

L'emploi d'une technique de cassage des chaînes de *Skeletonema costatum*, selon le protocole de Gouabau (1989) et Jaouen (1989), un moment recommandé pour réduire la décantation des algues, ne répond donc pas à l'objectif fixé initialement. En revanche, et c'est sans doute là l'atout majeur de cette technique, l'analyse des résultats de son action sur les colonies algales de *S. costatum* a clairement montré que la diminution de la taille moyenne des colonies s'accompagne d'une libération potentielle de matière organique particulaire et dissoute (Sauriau & Baud, *in prep*).

## (2) Exigences écophysiologicals de la palourde

Les exigences écophysiologicals de la palourde japonaise sont connues avec assez de précision depuis les travaux de Bernard (1983) et de Gouletquer *et al.* (1989). Cependant il est apparu nécessaire de vérifier et d'adapter ces connaissances car dans le cas présent la nourriture utilisée est d'une origine exclusivement phytoplanctonique, monospécifique et pluridispersée en taille avec des colonies de *Skeletonema costatum* pouvant atteindre 100 à 200  $\mu\text{m}$  de longueur (Sauriau, 1990; Baud & Haure, données non publiées). Les séries d'expérimentations se sont alors attachées à la détermination du seuil de pseudo-fécès ainsi qu'à la détermination des valeurs seuil de débits compatibles avec les capacités d'assimilation du Mollusque cultivé.

- La détermination du seuil de pseudo-fécès fourni des valeurs de 350 à 400 cellules/ $\mu\text{l}$ .

- Le test de débits expérimentaux variables montrant que les taux d'assimilation passent par un optimum permet de fixer les limites inférieures et supérieures des taux de renouvellement des masses d'eau dans les claires ostréicoles expérimentales.

- Le test d'une nourriture algale dont les colonies sont préalablement fractionnées montre malgré une grande variabilité des mesures qu'il y a augmentation de 10 à 20% des taux de captures et d'assimilation par rapport à une nourriture algale de *Skeletonema costatum* dont les colonies n'ont pas subi une action de cassage. Ces résultats laissent supposer que la fonction de capture des particules sestonique par le Mollusque, plutôt que la fonction de filtration, peut être directement influencée soit par la structure en taille des particules (Bayne & Newell, 1983; Bernard, 1983) soit par la présence de matière organique particulaire ou dissoute.

La troisième phase de l'élevage, suite à cette première série d'expérimentation, a été réalisée durant l'année 1990. Les différents résultats obtenus au cours de cette première série d'expérimentations ont permis la mise en place d'un nouveau type de protocole expérimental d'élevage intensif de la palourde japonaise en claires ostréicoles ainsi qu'une meilleure définition des paramètres ostréicoles appliqués à cet élevage.

Préalablement à la mise en place de cette nouvelle technique d'élevage intensif de la palourde japonaise, une seconde série d'expérimentations a été conduite. Les buts de cette seconde série d'expérimentations ont été de valider les résultats obtenus *in vitro* par leur comparaison avec des résultats obtenus directement dans le système d'élevage intensif, à savoir (1) qu'elle est le taux de digestibilité de l'algue *Skeletonema costatum* et (2) y-a-t'il accord entre la loi de décantation de *S. costatum* observée expérimentalement et la distribution des colonies de *S. costatum* dans les claires ostréicoles expérimentales ?

Le présent rapport se scinde donc en trois volets. Le premier expose la genèse de l'application à l'aquaculture intensive d'une technique employée en agriculture intensive. Le second volet s'attache à comparer les

résultats des calculs de taux de digestibilité acquis, d'une part, *in vitro* sous des conditions de débit circulant et de type de nourriture variables et, d'autre part, *in situ* par prélèvement des palourdes directement dans le système d'élevage. Enfin le dernier volet contient l'analyse de la distribution spatiales des colonies algales de *Skeletonema costatum* dans une claire ostréicole expérimentale.

## 1. METHODE D'ASPERSION

A partir des expérimentations de 1989, il est apparu que l'un des points de blocage à l'application en grandeur réelle de la technique d'élevage intensif de *Ruditapes philippinarum* en claires ostréicoles semblait être la présence d'un gradient de croissance des palourdes japonaises, gradient corrélé à une distribution ponctuelle de la nourriture phytoplanctonique dans les claires expérimentales. Cet effet de "race-way" est en partie lié au trajet de la masse d'eau dans le sens longitudinal de la claire expérimentale.

L'élimination de cet effet de gradient qui se traduit aussi bien sur la croissance des coquilles que sur la croissance des tissus organiques peut se faire en modifiant le mode de distribution de la nourriture phytoplanctonique. Cependant, une distribution goutte-à-goutte en plusieurs points de la claire ostréicole pose plus de difficultés qu'elle n'en résoud avec des problèmes de tyauterie et de colmatage des systèmes de distribution.

En se basant sur un raisonnement analogique, c'est-à-dire à partir d'observations des techniques d'irrigation pratiquées dans l'agriculture intensive de maïs, il a été proposé d'appliquer la méthode d'aspersion qui sert à l'irrigation des cultures agricoles à la distribution de la nourriture phytoplanctonique dans les claires ostréicoles.

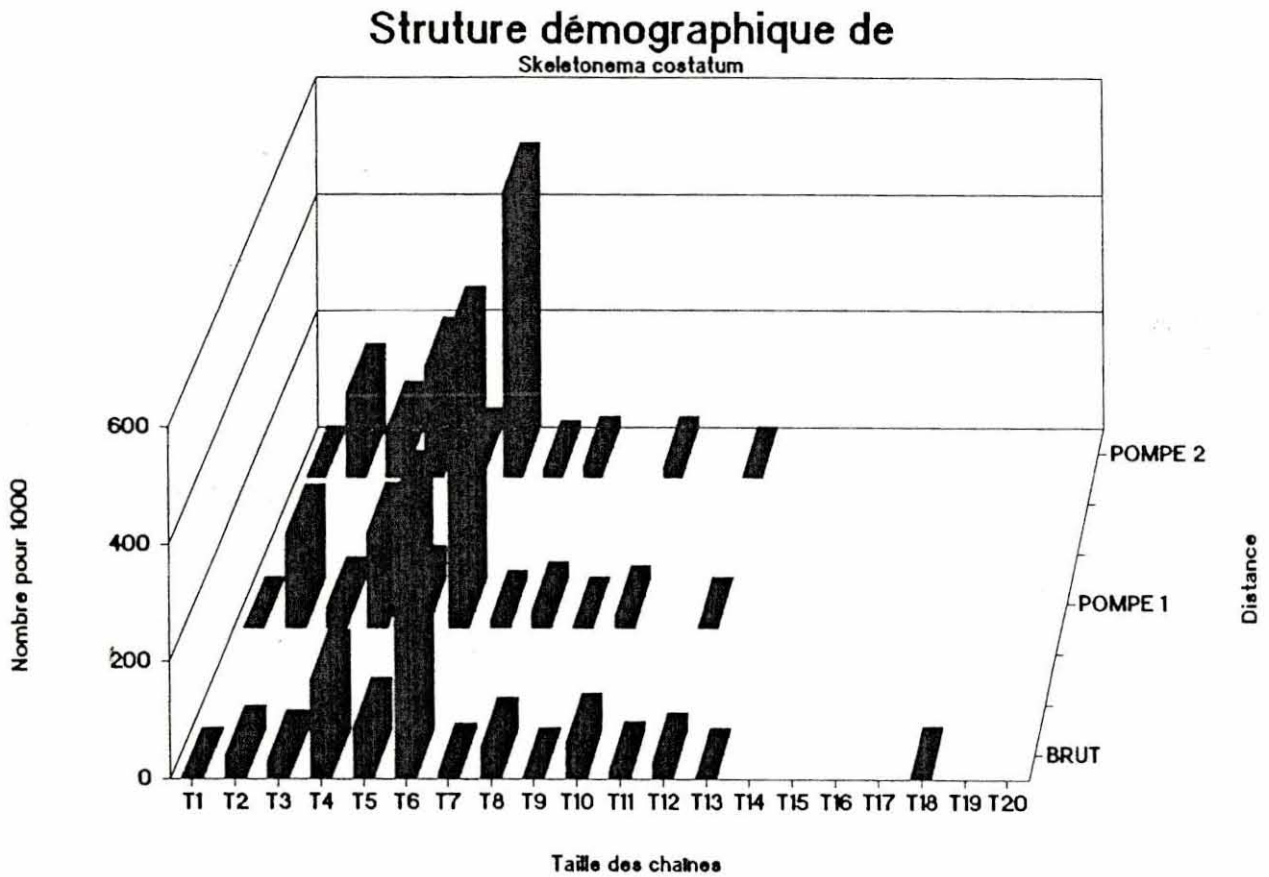
L'application de cette méthode d'aspersion à l'élevage intensif de la palourde japonaise impliquant une conception radicalement différente de la claire ostréicole et une mise au point délicate d'un nouveau matériel agricole a été réalisée en 1990 par l'IFREMER BOUIN.

Les résultats de l'élevage intensif de *Ruditapes philippinarum* avec une distribution par aspersion de la nourriture algale sur la surface de la claire montrent que les performances de croissance du Mollusque sont beaucoup plus homogènes sur l'ensemble de la claire (Baud 1990, comm. pers.). Il apparaît, en plus de ce gain en homogénéité de croissance, que du fait des niveaux de compressions de la suspension algale dans le système de distribution (pompes et buse de distribution), qu'il existe un très net effet de cassage des colonies algales de *Skeletonema costatum* avant leur arrivée sur la surface de la claire ostréicole (Baud 1990, comm. pers.). Cet effet de cassage n'est d'ailleurs pas particulier aux nouvelles pompes utilisées, bien qu'il soit plus nettement décelable, car il avait déjà été noté dans les conditions d'élevage de 1989 (Fig. 1).

Les performances de croissances de *Ruditapes philippinarum* dans ce nouveau système d'élevage semblent alors bénéficier d'un double avantage, c'est-à-dire (1) une distribution homogène de la suspension algale de *Skeletonema costatum* sur l'ensemble de la claire ostréicole et (2) une réduction en taille de la population algale distribuée. Cette réduction de la variabilité en taille des colonies de *S. costatum* doit s'accompagner, d'une part, d'une diminution de la production de pseudo-fécès liés à la consommation des très grandes colonies algales par le Mollusque, d'après les résultats de Gouletquer *et al.* (1989) et, d'autre part, d'une

augmentation des taux de captures et d'assimilation des algues par le Mollusque, d'après les résultats expérimentaux de Sauriau (1990).

Figure 1. Comparaison des structures démographiques d'une population de *Skeletonema costatum* dans le bac de culture (bac), dans le bac de dilution après passage dans le corps d'une première pompe (pompe 1) et dans la claire ostréicole après passage dans le corps d'une seconde pompe (pompe 2). Protocole d'élevage expérimental de l'année 1989.



## 2. DIGESTIBILITE DE SKELETONEMA COSTATUM

Les taux de digestibilité de *Skeletonema costatum* sont obtenus soit *in vitro* en condition de débit circulant constant, soit *in situ* par le recueil des fécès des Mollusques dans de l'eau filtrée sur 0,45 µm.

D'un point de vue méthodologique, Deslous-Paoli & Jousset (1987) ont montré que le temps de séjour des biodépôts dans le système expérimental a une incidence non négligeable sur leur composition biochimique. Une modification du protocole de prélèvement des biodépôts est alors proposée.

### 2.1. Méthodologie

#### 2.1.1. Poste expérimental de filtration

Le poste expérimental de filtration est celui utilisé à la station IFREMER La Tremblade avec quelques modifications. La suspension algale de *Skeletonema costatum* est préparée dans un bac thermostaté de 120 litres et homogénéisée par bullage. Cette suspension est ensuite injectée par simple gravité dans un bol d'expansion avec agitateur magnétique puis distribuée dans 10 débitmètres qui alimentent les 10 postes de stabulation où sont situés les palourdes (Fig. 2). Les animaux proviennent de l'élevage intensif et ne sont pas préalablement acclimatés à une température constante.

#### 2.1.2. Protocole expérimental *in vitro*

Les palourdes utilisées ont une taille de 33-34 mm (longueur antéro-postérieure totale) pour une masse sèche sans cendre voisine de 0,6-0,7 g. La température expérimentale est ajustée à 20 °C (19,5 à 20,5°C). La salinité de l'eau puisée en claires ostréicoles est de l'ordre de 33-36‰. La concentration algale est de 200 cellules/µl, ce qui correspond à la concentration utilisée dans l'élevage expérimental intensif. Cette valeur est fixée après avoir déterminé le seuil de production de pseudo-fécès (Sauriau, 1990).

Deux paramètres sont testés :

- le débit circulant à concentration algale constante. 5 débits sont testés de manière à couvrir une large gamme de débits réels pouvant être employés dans l'élevage expérimental : ce sont 6 l/h, 3 l/h, 1,2 l/h 0,6 l/h et 0,3 l/h

- le type de nourriture. Deux types de nourriture sont comparés à concentration algale constante :

- 1 : une population naturelle (chaînes non-cassées),
- 2 : une population cassée (chaînes cassées).

#### 2.1.3. Protocole expérimental *in situ*

Les palourdes sont prélevées dans la claire ostréicole selon le gradient de croissance : leur masse sèche sans cendre varie de 0,5 à 2 g. La claire est quadrillée en 32 cases (8 x 4) et dans chaque case 10 palourdes sont prélevées. Elles sont alors lavées, rincées avec de l'eau de mer filtrée à 0,45 µm et placées dans un bol d'eau de mer filtrée à 0,45 µm.

## Optimisation de la vénériculture intensive en marais

En parallèle à ce prélèvement de palourdes, un volume fixe d'eau de la claire est prélevé dans chacune des 32 cases à mi-hauteur dans la colone d'eau. Les teneurs en matière organique et minérale du seston de la colone d'eau sont alors déterminées.

### 2.1.4. Protocole de prélèvement des fécès

De manière à essayer de réduire les pertes de matière organiques consécutives au séjour des fécès dans le bac où est situé la palourde, il est apparu nécessaire de procéder de la manière suivante :

- les fécès sont prélevées le plus rapidement possible après leur formation (moins de 2 à 3 minutes),
- le volume d'eau prélevé en même temps que les fécès est alors immédiatement placé dans un récipient réfrigéré par de la glace ou autre système, ce qui a pour effet de glacer le prélèvement liquide.

### 2.1.5. Rendement d'absorption

Le rendement d'absorption est estimé d'après la méthode du ratio de Conover (1966) basée sur la mesure simultanée de la teneur d'un traceur non-digéré dans les biodépôts et dans la nourriture fournie au bivalve. Ce traceur non-digéré est la teneur en éléments minéraux obtenue par la calcination à 450 °C pendant une heure de la matière sèche récoltée (Anonymes, 1988).

Le taux de digestibilité (DC) s'exprime par :

$$DC = 100 (1 - (Tn * Eb) / (Tb * En))$$

Tn : % du traceur minéral dans la nourriture,  
Tb : % du traceur minéral dans les biodépôts,  
En : % de l'élément dans la nourriture,  
Eb : % de l'élément dans les biodépôts.

Lorsque les concentrations algales sont situées en-dessous du seuil de pseudo-fécès (350 à 400 cellules/ $\mu$ l), il n'y a pas production de pseudo-fécès. Les biodépôts sont alors constitués uniquement de fécès. Le taux de digestibilité s'écrit alors :

$$DC = 100 (1 - (Tn * Ef) / (Tf * En))$$

Tn : % du traceur minéral dans la nourriture,  
Tf : % du traceur minéral dans les fécès,  
En : % de l'élément dans la nourriture,  
Ef : % de l'élément dans les fécès.



Optimisation de la vénériculture intensive en marais

Figure 2 : Montage expérimental pour le test des paramètres de débit et de type de nourriture phytoplanctonique sur les capacités écophysologiques de la palourde japonaise.

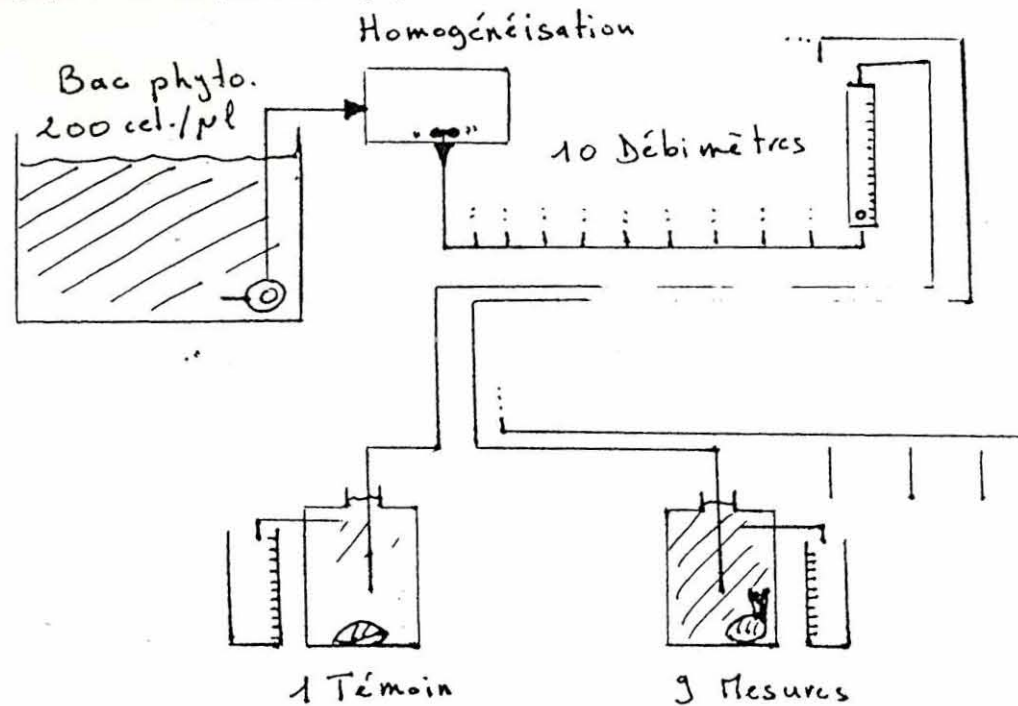
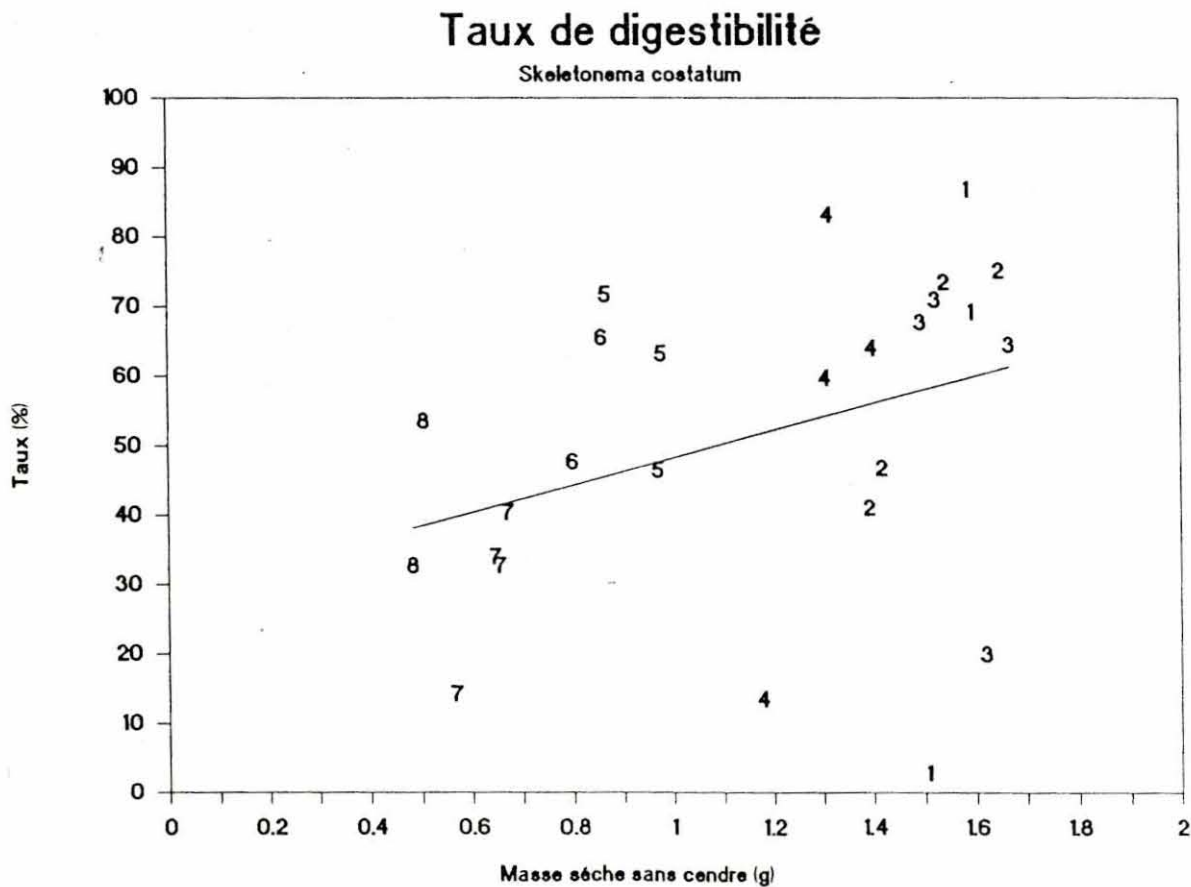


Figure 3 : Graphe de dispersion du taux de digestibilité de l'algue *Skeletonema costatum* en fonction de la masse sèche sans cendre des tissus de *Ruditapes philippinarum* et de la position des palourdes dans la claire (1 à 8 m).



## 2.2 Résultats et discussion

### 2.2.1. Taux de digestibilité in vitro

Les résultats des taux de digestibilité obtenus *in vitro* selon des conditions variables de débits et de qualité de nourriture ne sont pas reproductibles. Une très forte variabilité apparaît avec spécialement des teneurs en matière organique des fécès plus élevée que dans la nourriture fournie aux palourdes. Ces résultats donnent alors des taux de digestibilité négatifs.

Ce type de résultat est également retrouvé par Barillé (1990) lors de l'estimation des taux de digestibilité de la navicule *Haslea ostrearia* par l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Il obtient cependant des résultats reproductibles en augmentant la concentration de la nourriture fournie aux huîtres, ce qui a pour effet d'augmenter la précision de la mesure du seston organique et minéral. Cette dernière constatation laisserait supposer que les mesures de digestibilité sont extrêmement sensibles aux artefacts méthodologiques.

### 2.2.2. Taux de digestibilité in situ

La mesure du taux de digestibilité moyen quel que soit la position des palourdes dans la claire expérimentale en fonction de la taille des palourdes (Fig. 2) fournit aussi des résultats très variables mais qui sont plus reproductibles.

La droite de régression linéaire entre le taux de digestibilité et la masse sèche sans cendre ne fournit pas de résultats significatifs au seuil usuel de 5% :

pende  $b = 19,63 \pm 20,82$

ordonnée à l'origine  $a = 28,68 \pm 42,51$

coefficient de corrélation  $r = 0,353$  non significatif à 5%

pourcentage de variance expliquée  $r^2 = 0,125$

nombre d'observations 26

Une valeur de 51,5% est retenue pour estimer la valeur moyenne du rendement d'absorption *in situ*. Cette valeur moyenne globale est cependant nettement inférieure à celle prédite par les équations de Gouletquer et al. (1989), équations qui prédisent pour un taux de matière minérale de *Skeletonema costatum* proche de 25 à 30%, un rendement d'absorption de 77%. Il faut cependant noter, pour expliquer cette différence, que le type de nourriture testée par Gouletquer et al. (1989) est estuarien, plurispécifique et contient une fraction non négligeable de seston minéral.

La prise en compte de la position des palourdes dans la claire exprimée par la distance (m) entre le point de distribution de la nourriture et le prélèvement (chiffres de 1 à 8 dans la Fig. 3) laisserait suggérer une relation entre la position, donc le taux de croissance des palourdes, et le rendement d'absorption : plus la palourde est proche du point de distribution de la nourriture et donc plus sa croissance est rapide plus le rendement d'absorption serait élevé.

Les présents résultats obtenus *in situ* ne permettent pas de statuer sur la validité de cette hypothèse du fait de la trop forte variabilité des mesures : au seuil usuel de 5%, aucun coefficient de la régression n'est significativement différent de zéro.

### 3. TRANSPORT IN SITU DES CHAINES DE SKELETONEMA COSTATUM

Les résultats acquis sur la décantation *in vitro* de *Skeletonema costatum* en 1989 (Sauriau, 1990) ont été confrontés à ceux obtenus *in situ*.

#### 3.1. Méthodologie

Cette expérience faite partie d'un ensemble de mesures réalisées sur une claire ostréicole expérimentale conjointement par le CREMA-l'HOUMEAU et l'IFREMER BOUIN. L'ensemble de ces résultats seront présentés par J.-L. Martin ultérieurement. Seule la partie concernant la distribution spatiale de *Skeletonema costatum* dans la claire expérimentale sont ici présentés.

Le protocole expérimental consistait à disposer sur le sol de la claire expérimentale 32 assiettes disposées régulièrement dans le sens de la largeur (4 assiettes) et dans le sens de la longueur (8 assiettes). Le fonctionnement de la claire n'est pas modifié et l'expérience a duré une douzaine d'heures.

Chaque assiette est sensée recueillir l'ensemble des particules sestoniques situées à son aplomb pendant la durée de l'expérience.

Seule est mesurée la structure démographique de la population. Une estimation de la densité cellulaire n'a pas été possible du fait des dilutions effectuées au cours des manipulations et entraînant de ce fait le dépassement du seuil de précision des comptages optiques sur cellule de Malassez.

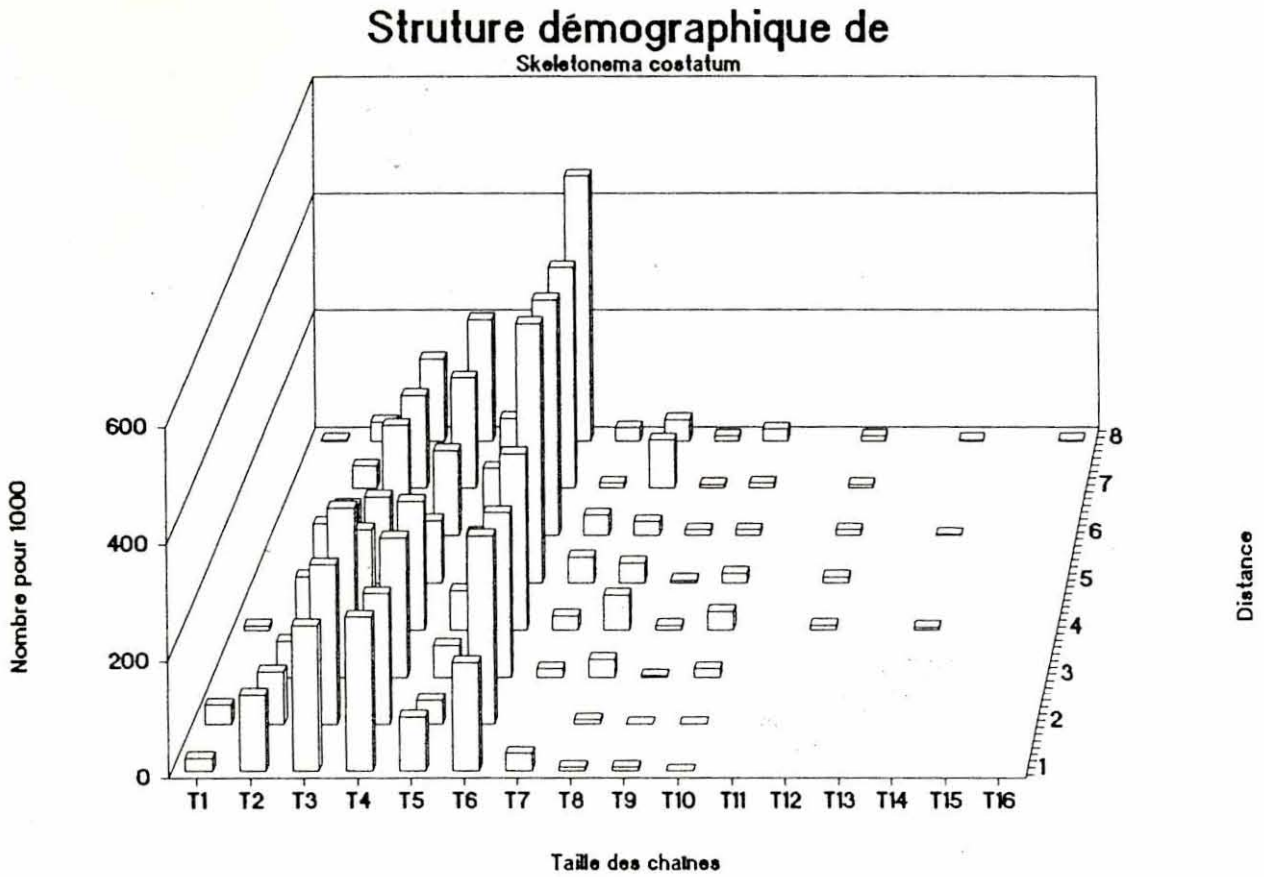
#### 3.2 Résultats et discussion

La distribution spatiale associée à la structure démographique de *Skeletonema costatum* telle que recueillie pendant une douzaine d'heures montre qu'il apparaît une proportion plus forte de longues chaînes (T6 à T16) au fur et à mesure que la distance au point de distribution de la nourriture algale augmente.

Ce résultat n'est valable qu'en proportion des tailles de *Skeletonema costatum* car la quantité totale de cellules phytoplanctoniques estimées par des mesures de chlorophylle montre un très net gradient décroissant entre 1 et 8 m (Martin, com. pers.).

Les résultats obtenus ici sont complémentaires des résultats obtenue sur la décantation verticale de *Skeletonema costatum* : les longues chaînes de *S. costatum* sédimentent verticalement plus rapidement que les chaînes plus courtes (Sauriau, 1990) mais sont aussi susceptibles d'être transportées horizontalement plus loin que les chaînes les plus courtes (la distance testée ici est inférieure à 10 m).

Figure 4 : Distribution spatiale longitudinale (1 à 8 m) à partir du point de distribution de la suspension algale et structure démographique (chaîne de 1 à 16 colonies, T1 à T16) de *Skeletonema costatum* dans la claire expérimentale.



## CONCLUSION

Les séries d'expérimentations engagées à propos de la mise au point de l'élevage intensif de *Ruditapes philippinarum*, la palourde japonaise, en claires ostréicoles ont permis d'apporter des réponses précises à certaines des hypothèses émises sur le fonctionnement du système expérimental d'élevage et d'affiner la connaissance de certains des processus physiologiques mis en jeu.

Elles ont aussi permis, par comparaison avec les techniques utilisées dans l'agriculture intensive, de proposer une nouvelle technique aquacole de distribution de la suspension algale phytoplanctonique, à savoir une distribution par aspersion. L'application de cette technique et la conception de la claire expérimentale associée à ce type de distribution de nourriture ont été réalisées par l'IFREMER BOUIN en 1990.

La phase de modélisation des processus de croissance de la palourde japonaise cultivée en intensif a été réalisée en 1990 par Bensch *et al.* (1990). Les données acquises dans les séries d'expérimentation de 1989 (Sauriau, 1990) et dans le présent travail ont alors été utilisées comme données de base à cette modélisation.

La question de la variabilité des mesures de digestibilité et leur non reproductibilité reste posée. La forte variabilité des résultats obtenus sur les taux de digestibilité d'une nourriture monoalgale de type *Skeletonema costatum* vis-à-vis d'une nourriture de type estuarienne (Gouletquer *et al.*, 1989) laisse suggérer l'existence de plusieurs biais méthodologiques et de plusieurs facteurs qui influencent ces résultats :

- biais dû à la variabilité des mesures de seston organique et minéral. Une solution serait d'augmenter la concentration de nourriture ou d'augmenter les quantités de fécès mesurées,
- biais dû à la présence dans les fécès d'une matrice organique provenant de la desquamation du tube digestif et de la sécrétion de mucus nécessaire au transport des particules capturées,
- facteur lié à la vitesse du transit intestinal qui dépend du volume de la ration ingérée et de la taille de la palourde. Lorsque la vitesse du transit intestinal est élevée, cela peut induire une faible digestibilité de la ration ingérée,
- facteur lié à la présence de matière minérale dans la nourriture d'origine estuarienne. Ceci permet sans aucun doute d'expliquer les valeurs plus fortes des rendements d'absorption obtenus par Gouletquer *et al.* (1989).

**BIBLIOGRAPHIE**

- Anonymes, 1988. Bilan énergétique chez les mollusques bivalves : terminologie et méthodologie. *Vie Marine*, N° Hors Sér. 7 : 1-68.
- Barillé L., 1990. Etude expérimentale de la rétention et du tri particulaire chez *Crassostrea gigas* : utilisation de régimes alimentaires monospécifiques composés d'*Haslea ostrearia*. Rap. D.E.A. d'Océanographie, Université d'Aix-Marseille II : 26 p.
- Baud J.-P., 1988. Utilisation des eaux salées souterraines de la Baie de Bourgneuf pour le prégrossissement intensif de Mollusques filtreurs. *Mémoire IFREMER/D.R.V.* : 1-127.
- Baud J.-P., Haure J., 1989. La culture intensive de bivalves en marais. *Poster E.A.S., Bordeaux 2-4 Octobre 1989.*
- Baud J.-P., Haure J., Garnier J., 1990. Effet de l'apport de phytoplancton (*Skeletonema costatum*) sur la croissance et les variations de la composition biochimique de la palourde japonaise, *Ruditapes philippinarum* cultivée en marais. *Océanis* (sous presse).
- Bayne B.L. & Newell R.C., 1983. Physiological energetics of marine molluscs. In : "The mollusca" Saleuddin A.S.M. & Wilbur K.M. (eds.), 4 (1) : 407-515.
- Bensch A., Bacher C., Baud J.-P., Martin J.-L., 1990. Modélisation de la croissance de *Ruditapes philippinarum* dans un système expérimental. *Haliotis* 20 (in press).
- Bernard F.R., 1983. Physiology and the mariculture of some Northeastern Pacific bivalve molluscs. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.*, 63 : 1-24.
- Conover R.J., 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 11 : 338-345.
- Deslous-Paoli J.-M., Jousset J., 1987. Transformation du matériel fecal de *Crassostrea gigas* : évolution biochimique à court terme. *Océanis*, 13 (4-5) : 581-584.
- Gouabau X., 1989. Procédés de concentration des microalgues marines (*Skeletonema costatum*, *Haslea ostrearia*) : centrifugation-Microfiltration tangentielle. Aspects technico-économiques. D.E.A., I.U.T. St-Nazaire, Génie des procédés, Université de Nantes : 62 p.
- Gouletquer P., Héral M., Deslous-Paoli J.M., Prou J., Garnier J., Razet D., Boromthanarat W., 1989. Ecophysiologie et bilan énergétique de la palourde japonaise d'élevage *Ruditapes philippinarum*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 132 : 85-108.
- Jaouen P., 1989. Etude des techniques de séparation par membrane dans le domaine des pêches et des cultures marines. *Thèse de Doctorat, E.N.S.M., Université de Nantes, France* : 155 p.
- Rincé Y., 1979. Cycle saisonnier des peuplements phytoplanctoniques et microphytobenthiques des claires ostréicoles de la baie de Bourgneuf. *Rev. Algol.*, 14 N.S. : 297-313.
- Sauriau P.-G., 1990. Etude de la physiologie de la palourde japonaise cultivée en intensif avec *Skeletonema costatum*. Eléments d'optimisation appliqués à la vénériculture intensive *Rapport ECOCEAN/IFREMER* : 46 p.
- Sauriau P.-G., Baud J.-P., 1990. Mesure de la rétention de *Skeletonema costatum* par *Ruditapes philippinarum* (Mollusque, Bivalve) en fonction de la longueur des colonies algales : principes méthodologiques. *Haliotis* (in press).
- Sauriau P.-G., Baud J.-P., (in prep). The diatom *Skeletonema costatum* in aquaculture : extension of its use by artificial chain breakage.

**ANNEXE 1**

Texte présenté au  
Symposium International de Biologie appliquée à  
l'Aquaculture des Mollusques marins  
Brest, Novembre 1990.

Soumis pour publication à la revue Haliotis.

Mesure de la rétention de *Skeletonema costatum* par *Ruditapes philippinarum* (Mollusque, Bivalve) en fonction de la longueur des colonies algales : principes méthodologiques.

SAURIAU Pierre-Guy & BAUD Jean-Pierre \*

Laboratoire de Biologie Marine  
2 rue de la Houssinière, 44072 NANTES CEDEX 03

\*I.F.R.E.M.E.R., Polder des champs, 85230 BOUIN

**ABSTRACT** : Determination of retention efficiency of *Skeletonema costatum* costatum by *Ruditapes philippinarum* (Mollusca, Bivalvia) related to the size of the diatom algae : methodological aspects.

In intensive rearing studies of Manila clam *Ruditapes philippinarum*, the use of unialgal blooms of *Skeletonema costatum* could influence physiological performances of the mollusc (pseudofaeces production and particule retention efficiency) because of the polymorphous variability in size as well as in shape of this diatom species. An attempt was made to express the data obtained by measurements by the Coulter Counter not as a fonction of the relative size of a dummy particle but in relation to the size of the *Skeletonema costatum* chains. Application of the method is discussed in relation to ecophysiological studies.

**RESUME** :

La mise au point de l'élevage intensif de la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* en claires ostréicoles à partir d'une nourriture mono-algale de *Skeletonema costatum* pose de nombreuses difficultés. En parallèle à la maîtrise des techniques aquacoles, il est apparu nécessaire de quantifier l'influence du polymorphisme de cette diatomée coloniale sur les capacités écophysologiques du bivalve. A cet effet, un protocole est proposé permettant d'exploiter en détail les données issues des compteurs de particules : les résultats sont exprimés non pas en fonction du volume d'une particule fictive mais en fonction de la taille moyenne réelle des chaînes de *Skeletonema costatum*. L'application de la méthode est discutée.

**INTRODUCTION**

La présence d'eau salée souterraine de composition minérale constante et à faible profondeur dans le sous-sol des marais de l'Ouest de la France a permis de promouvoir dans les Pays de Loire l'aquaculture intensive de la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* (Adam et Reeve) à partir d'une nourriture phytoplanctonique mono-spécifique de *Skeletonema costatum* Greville (Baud et Dréno, 1987; Baud et Haure, 1989). Après la maîtrise des techniques permettant d'effectuer le prégrossissement (Baud et Bacher, 1990) et le demi-élevage de *R. philippinarum* (Baud et Haure, 1989), la mise au point de l'élevage intensif jusqu'à une taille commerciale a nécessité le test et la quantification des effets de nombreux paramètres. Outre l'optimisation des divers paramètres aquacoles permettant de minimiser les coûts de production tout en maximisant les performances de croissance de *R. philippinarum* (e.g. Baud et al., 1990) il est apparu nécessaire de déterminer l'éventuelle influence de la variabilité morphologique de la nourriture monospécifique utilisée. En effet, *Skeletonema costatum* est une diatomée coloniale qui forme des chaînes de longueur et de diamètre valvaire variables (Berland et al., 1973; Hasle, 1973; Paasche, 1973). Cette forte variabilité morphologique peut alors



avoir deux conséquences majeures. La première concerne une possible répartition spatiale non homogène de l'algue aussi bien verticalement qu'horizontalement dans la colonne d'eau du système d'élevage, du fait d'une vitesse de sédimentation corrélée à la longueur des colonies (Smayda et Boleyn, 1965). La seconde conséquence consiste en une non-équiprobabilité de rétention de toutes les classes de tailles algales par le filtre branchial de la palourde japonaise (Bernard, 1983; Gouilletquer et al., 1989). La résolution de ces deux questions passe alors par la prise en compte de la variable "longueur de chaîne algale" lors des études de cinétique de sédimentation algale et des études écophysiologicals de rétention de *Skeletonema costatum* par le mollusque. Or les moyens analytiques classiquement utilisés pour ce faire, i.e. un compteur de particule, ne permettent pas de tenir compte directement de cette variable.

Le but du présent travail est d'exposer la méthode de calcul, simple au demeurant, qui permet de transformer les résultats volumétriques obtenus par le compteur de particule en résultats métriques de façon à recomposer la structure de fréquences de longueur de la population algale analysée.

#### METHODOLOGIE

Le principe méthodologique est le suivant :

- le compteur de particules fournit des résultats exprimés en unité de volume d'une particule supposée sphérique (Samain et al., 1985).

Soit  $V_{sp}$  le volume et  $D$  le diamètre de la particule fictive :

$$V_{sp} = \pi D^3 / 6 \quad (\text{formule 1})$$

- une chaîne de *Skeletonema costatum* peut être assimilée à un cylindre de diamètre  $d$  et de longueur  $l$  (Ricard, 1987; Round et al., 1990).

Soit  $V_c$  le volume cylindrique de cette particule :

$$V_c = \pi d^2 l / 4 \quad (\text{formule 2})$$

Trois conditions sont requises pour pouvoir poser l'égalité des formules 1 et 2. Ces hypothèses sont :

##### 1. Diamètre valvaire intrachaîne constant

Bien qu'il puisse exister des exceptions, principalement démontrées expérimentalement (Round et al., 1990), les divisions cellulaires nécessaires au mode de reproduction végétatif des diatomées s'accompagne généralement d'une diminution du diamètre valvaire de la cellule algale (Round, 1972). Ce phénomène n'est cependant pas illimité car lorsque la diminution du diamètre valvaire atteint 60 à 80% de la valeur initiale, il y a induction d'une reproduction sexuée (Drebes, 1977). Ces phénomènes de reproduction sexuée peuvent aussi être induits par des facteurs de l'environnement et ils aboutissent alors à la formation d'auxospores : c'est l'auxosporulation. Le diamètre valvaire reprend alors sa valeur maximale (Drebes, 1977).

Toute population naturelle de *Skeletonema costatum* est ainsi constituée d'un mélange de colonies de diamètre très variable. Dans le cas de la culture de *S. costatum* sur eau de forage, le diamètre valvaire prend des valeurs extrêmes allant de 2,5  $\mu\text{m}$  à 10  $\mu\text{m}$  pour une moyenne de l'ordre de 4 à 5  $\mu\text{m}$  (Fig. 1). Le polymorphisme se traduit aussi en longueur avec un nombre de cellules par colonie variant de 2 à 20 pour une valeur modale de 6 cellules par colonies, ce qui correspond à une taille de 50  $\mu\text{m}$ . Il est rarement observé dans ce milieu de culture des chaînes de plus de 20 cellules (taille supérieure à 160  $\mu\text{m}$ ).

Au sein d'une même chaîne de *Skeletonema costatum*, les divisions cellulaires successives induisent une diminution de diamètre valvaire entre la cellule mère et les cellules filles formées. Cette diminution dépend, en théorie, d'une part du nombre de divisions cellulaires et, d'autre part, de l'épaisseur de la paroi des valves

siliceuses. D'après Hasle (1973) l'épaisseur des valves de *Skeletonema costatum* peut être estimée à environ  $220 \cdot 10^{-3} \mu\text{m}$ , valeur confirmée par nos propres observations en microscopie électronique à balayage. Ainsi pour une chaîne de 8 cellules formée après 3 divisions successives et d'un diamètre moyen de  $5 \mu\text{m}$ , la perte de diamètre entre la cellule mère et la plus petite cellule doit atteindre  $1,32 \mu\text{m}$  soit 26,4% du diamètre initial : le calcul est  $3 \times (0,220 \times 2) / 5$ . Or, l'observation d'échantillons de *Skeletonema costatum* en microscopie électronique à balayage montre qu'à l'échelle d'une colonie la diminution de diamètre valvaire est négligeable. Il apparaît par exemple sur la figure 2 une colonie de 12 cellules dont le diamètre valvaire reste voisin de  $5 \mu\text{m}$  (cette colonie possède bien 12 cellules car l'observation de l'échantillon a été effectuée à un stade de division cellulaire pour lequel les processus renforcés qui unissent deux cellules filles sont encore enveloppés du cingulum. Pour preuve, il apparaît au centre de la figure 2 une colonie de 4 cellules à un stade de division ultérieur pour lequel le cingulum commence à se déchirer et laisse apparaître les processus renforcés unissant deux cellules filles).

Cette divergence de résultat a été analysé par Round (1972). Il indique alors que pour de nombreuses espèces de diatomée la morphologie particulière du cingulum (formé de pièces siliceuses qui unissent l'épivalve et l'hypovalve) permet de compenser tout ou partie de la réduction en taille des valves imposée lors d'une division cellulaire.

En définitive, l'hypothèse d'une invariance du diamètre valvaire dans une chaîne algale de *Skeletonema costatum* n'est pas rejetée : le biais introduit par les diminutions successives de ce diamètre au cours des divisions cellulaires dans une même colonie est négligé. Round et al. (1990) indiquent que ce n'est qu'au bout de très nombreuses divisions cellulaires que la diminution du diamètre valvaire chez les diatomées est sensible.

## 2. Type de relation entre la longueur de la chaîne et le diamètre valvaire.

Une observation rapide de la morphologie des chaînes de *Skeletonema costatum* (Fig. 1 et 2) laisse supposer l'existence d'une relation entre la longueur de la chaîne et son diamètre valvaire. Il apparaît en effet de longues colonies de diamètre cellulaire petit à moyen et de courtes colonies voire des cellules isolées de fort diamètre. De manière à préciser cette relation et en évitant un possible artefact dû aux préparations nécessaires à l'observation en microscopie électronique à balayage, 200 chaînes algales ont été observées *in vivo* en microscopie optique. Les mensurations ont été effectuées au micromètre avec une précision de  $0,5 \mu\text{m}$ .

Le graphe de dispersion entre la longueur d'une colonie et son diamètre valvaire est représenté sur la figure 3. Bien que la dispersion du diamètre apparaissent plus élevée pour les chaînes de longueurs réduites, les résultats de la régression linéaire du diamètre à la longueur d'une colonie indiquent qu'au seuil usuel de 5% (Tableau I) :

- la pente de la droite de régression n'est pas significativement différente de 0,
- le coefficient de corrélation linéaire n'est pas significatif,
- l'hypothèse de dépendance linéaire entre le diamètre cellulaire et la longueur de la colonie de *Skeletonema costatum* est rejetée,
- l'estimation du diamètre valvaire moyen d'une colonie est  $d = 4,66 \pm 0,16 \mu\text{m}$  (n=200).

En définitive, l'hypothèse d'une indépendance linéaire entre le diamètre valvaire et la longueur de la colonie n'est pas rejetée.

### 3. Taux de coïncidence particulière voisin de zéro

Lors du fonctionnement du compteur de particule, le passage simultané de plusieurs particules dans l'orifice de la sonde permet de définir le taux de coïncidence. Il est possible de diminuer ce taux de coïncidence soit en augmentant le diamètre de la sonde (pour le cas de *Skeletonema costatum* une sonde de diamètre 100  $\mu\text{m}$  a été retenue), soit en diminuant la concentration de la suspension algale mesurée. C'est la solution qui a été adoptée. La suspension algale utilisée expérimentalement contient 200 cellules par  $\mu\text{l}$ . Une dilution au 1/5 permet de se rapprocher des conditions optimales de mesure au compteur de particules avec un taux de coïncidence variant de 0 à 5%.

Dans le cas contraire, lorsque le taux de coïncidence dépasse 5%, cela équivaut à mesurer plusieurs particules simultanément et à introduire un biais qui a pour conséquence de surestimer la proportion de chaînes algales de grand volume et donc de grande taille.

Ces trois hypothèses étant validées, l'égalité des formules 1 et 2 donne la valeur de la longueur de la chaîne de *Skeletonema costatum* (l) en fonction du diamètre valvaire (d) et du diamètre (D) du canal du compteur de particule.

La formule (3) est la suivante :

$$V_{sp} = V_c \Rightarrow l = 4 D^3 / 6 d^2$$

La détermination de d est expérimentale. Elle dépend de la population cultivée et des conditions de culture.

La détermination de D dépend du type de compteur de particules utilisé, du nombre de canaux disponibles, de l'étalonnage effectué et du type de sonde utilisée dont le diamètre de l'orifice doit être adapté à la taille des particules mesurées.

### RESULTATS

#### Loi de distribution du diamètre valvaire

A l'échelle de la culture de *Skeletonema costatum*, les effets de la diminution du diamètre valvaire au cours des divisions cellulaires étant de nature multiplicative, la loi de distribution du diamètre valvaire peut a priori être représentée par une loi lognormale. Cependant la comparaison par un test du Chi-2 de la distribution du diamètre valvaire mesuré en microscopie optique avec une distribution lognormale indique qu'au seuil de 5% l'écart est significatif ( $X^2$  calculé = 39,3 et pour 2 degrés de liberté  $X^2$  tabulé = 5,99). Cet écart s'explique pour l'essentiel par une trop forte proportion de colonies de diamètre 4,50 à 5,75  $\mu\text{m}$  (Fig. 4a). Ce résultat laisse supposer la présence d'une erreur systématique liée aux approximations des mesures lors de l'observation en microscopie optique.

Un nouveau jeu de mesures est alors réalisé sur les photographies prises en M.E.B. (Fig. 4b). La comparaison par un test du Chi-2 entre les deux distributions indique qu'au seuil de 5% l'hypothèse d'une loi de distribution lognormale du diamètre valvaire ne peut être rejetée :  $X^2$  calculé = 8,6 et pour 7 degrés de liberté  $X^2$  tabulé = 14,1.

#### Conversion des résultats bruts en longueur

L'utilisation d'un compteur de particule de type TA II avec une sonde de diamètre 100  $\mu\text{m}$  et d'un étalonnage du canal 11-12 à l'aide de particules sphériques de 18,6  $\mu\text{m}$  permet par application de la formule (3) de sélectionner les canaux du compteur de particules successibles de comptabiliser les chaînes de *Skeletonema costatum* (Tableau II).

Seuls les résultats numériques obtenus pour ces canaux sélectionnés seront utilisés par la suite dans le calcul des différents taux définis en écophysologie (Anonymes, 1988).

#### Conversion des longueurs en nombre de cellules algales

Les résultats précédents doivent subir une seconde conversion. En effet, pour *Skeletonema costatum*, les concentrations algales dans le milieu de culture sont exprimées en nombre de cellules algales par unité de volume et non en nombre de colonies par unité de volume. Ce nombre est classiquement déterminé par observations en microscopie optique et numérations des colonies sur cellule de Malassez (Baud et Haure, données non publiées). L'expression des résultats en écophysologie se faisant sous une forme standard en équivalent énergétique (Anonymes, 1988), les teneurs énergétiques de la nourriture phytoplanctonique sont exprimées en Joules mais toujours par rapport à ce nombre de cellules algales par unité de volume de culture.

De ce fait, il est nécessaire d'appliquer aux données issues du compteur de particules et qui sont déjà transformées en longueur de chaîne algale, un facteur de conversion permettant d'exprimer les résultats en nombre de cellules algales. Les résultats de la régression linéaire du nombre de cellules à la longueur d'une chaîne de *Skeletonema costatum* fournissent la base du calcul de ce facteur de conversion (Fig. 5 et Tableau III).

Ainsi chaque canal du compteur de particules est affecté d'un facteur de conversion qui tient compte de la distribution de fréquences de longueur des colonies de *Skeletonema costatum* dans la classe de longueur affecté à ce canal. Par exemple, pour le modèle TA II, le canal 8-9 représente une longueur de chaîne algale comprise entre 24 et 48  $\mu\text{m}$  (Tableau II) ce qui correspond à des colonies de 3 à 6 cellules. Le facteur de conversion moyen affecté à ce canal est déterminé expérimentalement et a pour valeur 4,62 (Tableau II).

Il faut cependant noter que les valeurs de ces facteurs de conversion n'ont rien d'absolu. Ils dépendent étroitement de la structure de fréquences de longueur des colonies de *Skeletonema costatum* utilisée ainsi que de la classe de longueur algale affectée à chaque canal du compteur de particules.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

### Conditions d'application de la formule

L'application de la formule proposée à une population de *Skeletonema costatum* cultivée sur un milieu de culture différent ou provenant des eaux marines côtières ne doit se faire qu'après détermination du diamètre moyen (d) des colonies. En effet la morphologie de *S. costatum* est très plastique et dépend étroitement des conditions de l'environnement rencontrées au cours de la croissance algale (Hasle, 1973; Paasche, 1973; 1980); il en est d'ailleurs de même de sa composition biochimique pour les calculs des teneurs énergétiques (Gallagher et al., 1984).

Pour les mêmes raisons, la nature de la relation entre le diamètre valvaire et la longueur de la colonie doit être établie. En effet, la longueur d'une colonie dépend non seulement de la longueur des cellules mais aussi de la taille des processus renforcés qui lient deux cellules entre elles. Harrison et al. (1977) ont alors montré que le développement de ces processus est sous l'étroite influence de la teneur en silice du milieu de culture : en cas de déficit en silice, la longueur des processus renforcés diminue.

Dans le présent travail, il y a indépendance du diamètre valvaire et de la longueur de la colonie : il pourrait tout aussi bien être observé pour une autre population de *S. costatum* une relation d'allométrie dont les coefficients seraient significativement différents de zéro, ce qui nécessiterait une modification de la formulation proposée.

#### Précision des mesures

Les erreurs commises par l'approximation du volume d'une colonie de *Skeletonema costatum* par une formulation cylindrique semblent négligeables vis-à-vis des erreurs commises lors des comptages particuliers d'autant plus que le nombre moyen de cellules par colonie est proche de 6. Kajihara (1986) précise que le coefficient de variation (rapport de l'écart type à la moyenne) d'un comptage de 200 à 300 particules est l'ordre de 5% alors qu'une valeur de 1% peut être obtenue par un comptage de 5000 particules.

Une estimation de la variance de la longueur moyenne de la colonie (l) reliée à la variance du diamètre valvaire (d) peut être réalisée. Le fait que ces deux variables soient indépendantes permet d'annuler le terme de covariance. Si la loi de distribution de diamètre valvaire (d) suit une loi normale, les calculs classiques de variance paramétrique sont utilisables. Dans le cas contraire, les méthodes d'estimation non paramétriques de la variance sont recommandées (méthodes de ré-échantillonnage de type jackknife ou de type bootstrap).

#### Intérêt de la méthode

Le compteur de particule est classiquement utilisé en planctologie lors des suivis de croissance des espèces unicellulaires de forme sphérique (Maloney et al., 1962; Robert, 1987). Il permet d'apprécier les modifications du volume cellulaire moyen au cours de la croissance algale ainsi que de déterminer les densités algales des cultures, ceci sous certaines conditions de calibration (Robert, 1987) et uniquement pour certaines espèces unicellulaires (Maloney et al., 1962; Robert et His, 1987). En effet certains biais apparaissent, la principale source de biais entre les comptages au compteur de particules et les comptages optiques sur hématimètre (cellule de Malassez par exemple) ayant pour origine la présence de débris cellulaires dans le milieu de culture (Robert, 1987).

La mise au point de la détermination des densités d'algues coloniales de type *Skeletonema costatum* par compteur de particules semble envisageable mais n'a pas été pour le moment testée. Elle repose pour l'essentiel sur le principe ici exposé avec en complément la détermination du nombre moyen de cellules par unité de longueur de colonie algale. Ceci permet alors d'apporter un facteur multiplicatif à chaque canal du compteur de particules et d'en convertir les résultats bruts en nombre de cellules algales par unité de volume du milieu de culture. Cependant, comme le souligne Robert (1987), la présence de débris cellulaires peut biaiser ce résultat. Inversement, l'utilisation d'un compteur de particules avec un pouvoir de résolution élevé (nombre élevé de canaux) permettrait de mieux séparer deux colonies dont le nombre de cellules algales diffère d'une unité : le modèle TA II possède 12 canaux alors que le modèle Multi Sizer possède 256 canaux avec une possibilité de modifier le spectre de taille analysé.

Le compteur de particule est aussi classiquement utilisé en écophysiologie pour déterminer le spectre de rétention selon la taille des particules nutritives (Bernard, 1983; Anonymes, 1988). Généralement, lorsqu'ils sont exprimés en fonction de la taille des particules, les résultats se fondent sur l'utilisation directe du diamètre d'une particule imaginaire de taille sphérique, chaque classe de diamètre sphérique

correspondant à un canal du compteur de particules (Bernard, 1983; Gouletquer et al., 1989). Cette démarche s'avère valide et réaliste lorsqu'il n'y a aucune connaissance *a priori* sur la morphologie précise des particules de nourriture consommée, nourriture le plus souvent de nature très hétérogène (particules minérales, détritiques organiques, bactéries, mélange d'algues de plusieurs espèces). Cette démarche s'avère cependant inappropriée dans les études expérimentales de nutrition dès lors que la source de nourriture algale est monospécifique, d'une morphologie s'éloignant de beaucoup d'une sphère et dont le volume peut être déterminé par un modèle géométrique simple.

L'exemple de *Skeletonema costatum* traité ici tente ainsi d'illustrer une démarche qui prend en compte le polymorphisme (diamètre et longueur) de la nourriture retenue par le filtre branchial de *Ruditapes philippinarum*, polymorphisme qui, sans aucun doute, n'est pas sans influencer les capacités de rétention du filtre branchial du mollusque (Bernard, 1983). La suite logique de cette démarche est de l'appliquer à d'autres espèces algales utilisées en écophysiologie expérimentale dans la mesure où la morphologie de l'algue est connue. Il en est ainsi de la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen utilisée par Barillé et al. (sous presse) pour l'étude expérimentale du tri et de la rétention particulaire chez *Crassostrea gigas* Thunberg et dont le volume cellulaire peut être décrit par un modèle géométrique proche du tonneau (Moreau, 1989).

#### BIBLIOGRAPHIE

- ANONYMOUS, 1975. Proposals for a standardization of diatoms terminology and diagnoses. *Nova Hedwigia Beihefte*, 53 : 323-354.
- ANONYMES, 1988. Bilan énergétique chez les mollusques bivalves : terminologie et méthodologie. *Vie Marine H.S.* : 68 p.
- BARILLE, L., BOUGRIER, S., ROUILLARD, I., GEAIRON, P., ROBERT, J.-M., BARILLE, A.-L. et HERAL, M.,. Etude expérimentale de la rétention et du tri de particules de grande taille chez *Crassostrea gigas*. *Haliotis*, 20 (sous presse)
- BAUD, J.-P. et BACHER, C., 1990. Use of ground saline water for intensive rearing of *Ruditapes philippinarum* juveniles in a nursery system. *Aquaculture*, 88 : 157-178.
- BAUD, J.-P. et DRENO, J.-P., 1987. The use of saline, ground water for winter nursery of bivalve molluscs. *Poster Aquaculture Europe 1987 (European Aquaculture Society)*, 2 to 5 June 1987.
- BAUD, J.-P. et HAURE, J., 1989. Intensive rearing of Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) in ponds. *Poster, European Aquaculture Society, Bordeaux 2 au 4 octobre 1989.*
- BAUD, J.-P., HAURE, J. et GARNIER, J., 1990. Effets de l'apport de phytoplancton (*Skeletonema costatum*) sur la croissance et les variations de la composition biochimique de la palourde japonaise, *Ruditapes philippinarum* cultivée en marais. *Oceanis* (sous presse).
- BERLAND, F.R., BONIN, D.J., MAESTRINI, S.Y. et POINTIER, J.P., 1973. Etude de la fertilité des eaux marines au moyen de tests biologiques effectués avec des cultures d'algues. III. Réponses de la diatomée *Skeletonema costatum* à différentes concentrations d'éléments nutritifs. *Int. Revue Ges. Hydrobiol.*, 58 (3) : 401-406.
- BERNARD, F.R., 1983. Physiology and the mariculture of some northeastern pacific bivalve molluscs. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 63 : 24 p.

- DREBES, G., 1977. Sexuality. In : The biology of diatoms. Werner D. (ed.). Botanical Monographs Vol. 13, Blackwell Scientific Publications, Oxford, : 250-283.
- GALLAGHER, J.C., WOOD, A.M. et ALBERTE, R.S., 1984. Ecotypic differentiation in the marine diatom *Skeletonema costatum*: influence of light intensity on the photosynthetic apparatus. *Mar. Biol.*, 82 : 121-134.
- GOULLETQUER, P., HERAL, M., DESLOUS-PAOLI, J.M., PROU, J., GARNIER J., RAZET, D. et BOROMTHANARAT, W., 1989. Ecophysiologie et bilan énergétique de la palourde japonaise d'élevage *Ruditapes philippinarum*. *J. Exp. Mar. Ecol.*, 132 : 85-108.
- HARRISON, P.J., CONWAY, H.L., HOLMES, R.W. et DAVIS, C.O., 1977. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. III. Cellular chemical composition and morphology of *Chaetoceros debilis*, *Skeletonema costatum*, and *Thalassiosira gravida*. *Mar. Biol.* 43 : 19-31.
- HASLE, G.R., 1973. Morphology and taxonomy of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *Norw. J. Bot.* 20 : 109-137.
- KAJIHARA, M., 1986. Distribution of fragile particles in the sea determined by measurements by the Coulter Counter. *La mer* 24 : 11-20.
- MALONEY, T.E., DONOVAN, E.J., et ROBINSON, E.L., 1962. Determination of numbers and sizes of algal cells with an electronic particle counter. *Phycologia* 2 (1) : 1-8.
- MOREAU, C., 1989. Méthode des enrichissements différentiels adaptée à l'étude de l'action de métaux traces sur la croissance et le bleuissement de la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen en culture. Rap. D.E.A. Océanologie, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI : 27 p.
- PAASCHE, E., 1973. The influence of cell size on growth rate, silica content, and some other properties of four marine diatoms species. *Norw. J. Bot.*, 20 : 1978-204.
- PAASCHE, E., 1980. Silicon. In : The physiological ecology of phytoplankton. Morris I. (ed.). Studies in ecology Volume 7. Blackwell scientific publications, Oxford : 259-284.
- RICARD, M., 1987. Atlas du phytoplancton marin. Volume 2. Diatomophycées. Editions du CNRS, Paris : 297 p.
- ROBERT, R., 1987. Intérêt du compteur de particules ZB-ZBI et de l'analyseur C1000 pour la numération des algues unicellulaires de culture. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.* 49 (3 et 4) : 155-163.
- ROBERT, R. et HIS, E., 1987. Croissance et spectre de tailles de six algues utilisées pour la nutrition de larves de bivalves en éclosure, en culture non renouvelée. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 49 (3 et 4) : 165-173.
- ROUND, F.E., 1972. The problem of reduction of cell size during diatom cell division. *Nova Hedwigia*, 23 : 291-303.
- ROUND, F.E., CRAWFORD, R.M. et MANN, D.G., 1990. The diatoms. Biology & morphology of the genera. Cambridge University Press, Cambridge : 747 p.
- SAMAIN, J.-F., HIS, E., LOEILLET, C., MOAL, J., POULET, S. et ROBERT, R., 1985. Table ronde. Utilisation du compteur Coulter en milieu marin. Informations pratiques. *Oceanis*, 11 (5) : 481-485.
- SMAYDA, T.J. et BOLEYN, B.J., 1966. Experimental observations on the flotation of marine diatoms. II. *Skeletonema costatum* and *Rhizosolenia setigera*. *Limnol. Oceanogr.* 10 : 499-509.

#### REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier Y. Rincé et J.-M. Robert pour leurs conseils et critiques ainsi que R. Hamon pour les tirages photographiques. Les photographies en microscopie électronique à balayage ont été réalisées à l'Université de Nantes (M.E.B. type JEOL 100 Cx) sous la direction de A. Barreau et Y. Rincé.



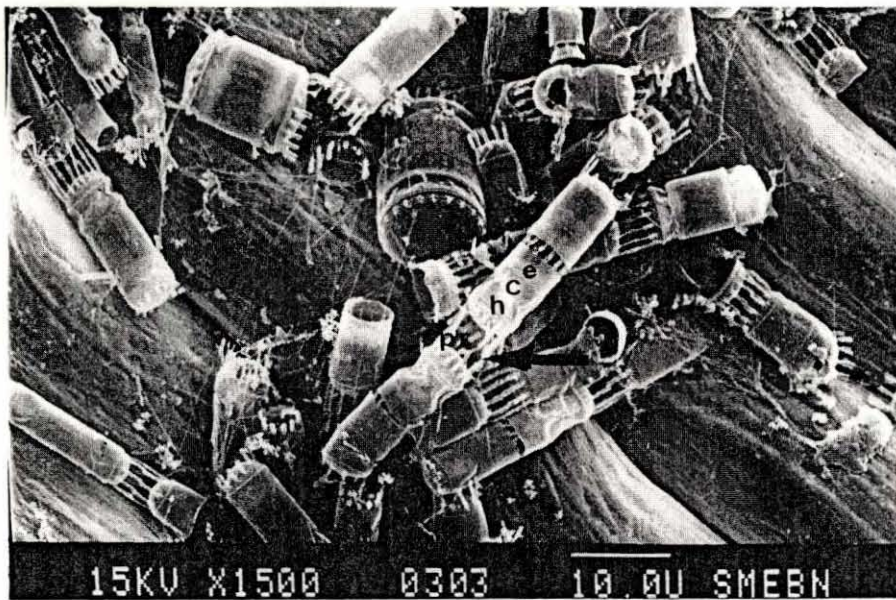


Fig. 1. Photographie prise en microscopie électronique à balayage d'un échantillon de colonies de *Skeletonema costatum* cultivée sur eau de forage. Mise en évidence du polymorphisme du diamètre valvaire. Echelle de 10  $\mu$ m. Selon la terminologie de Anonymous (1975) : e = épivalve, h = hypo- ou hypovalve, pr = processus renforcés et c = cingulum. Flèche : colonie de 4 cellules.

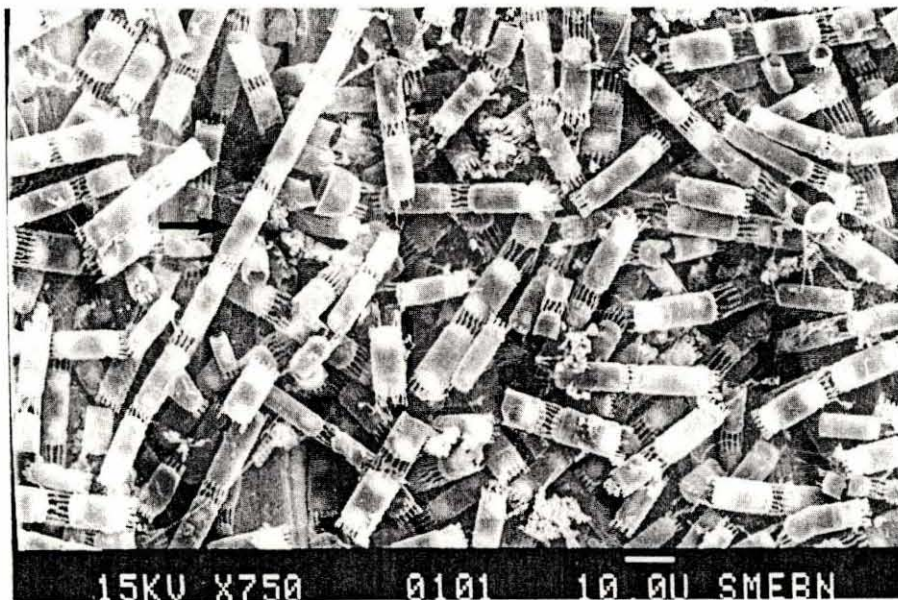


Fig. 2. Photographie prise en microscopie électronique à balayage d'un échantillon de colonies de *Skeletonema costatum* cultivée sur eau de forage. Mise en évidence du polymorphisme en longueur. Echelle de 10  $\mu$ m. Flèche : colonie de 12 cellules.

# Régression du diamètre à la longueur

*Skeletonema costatum*

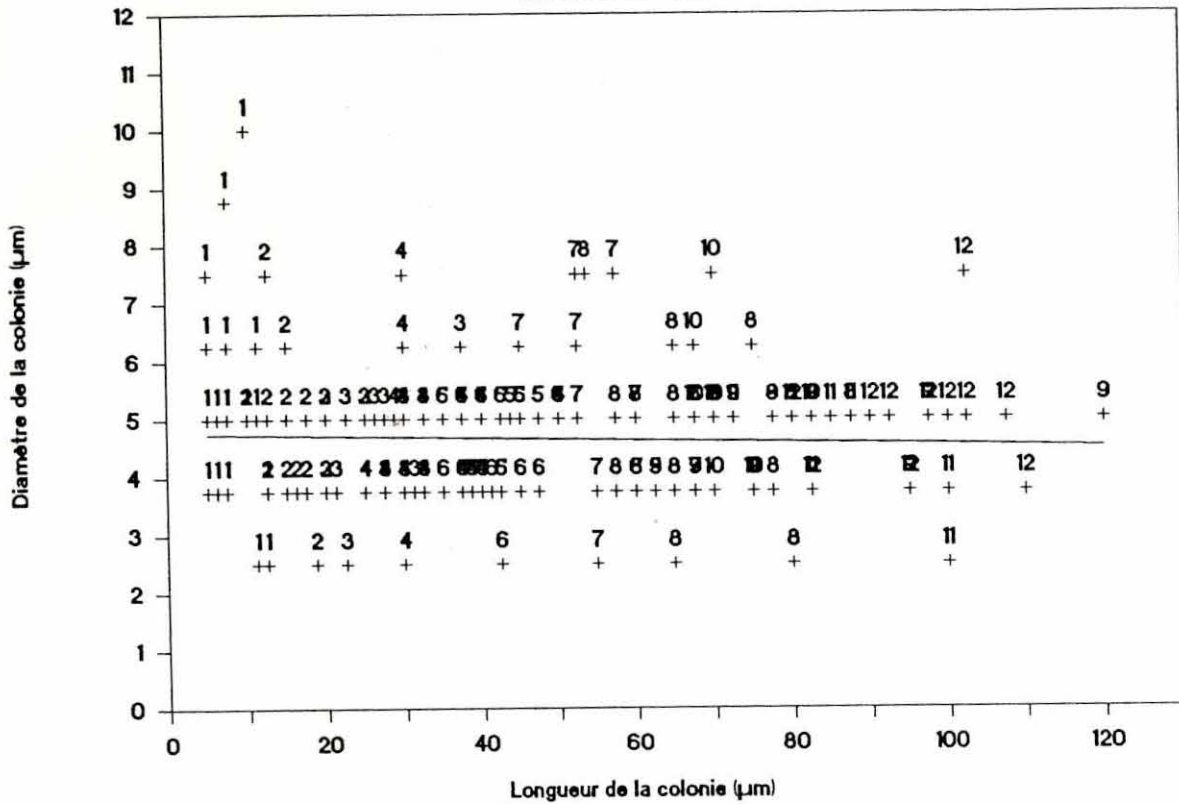


Fig. 3. Graphe de dispersion de la longueur au diamètre valvaire de *Skeletonema costatum*. La droite de régression linéaire est figurée. Le chiffre au-dessus de chaque valeur indique le nombre de cellules par chaîne algale.

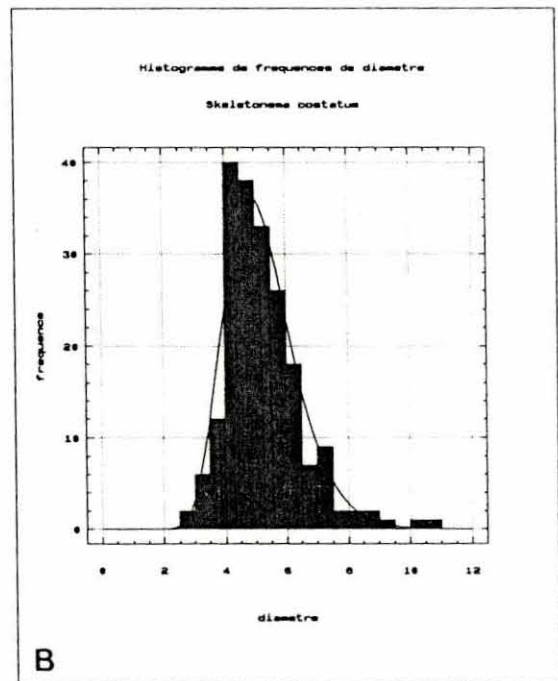
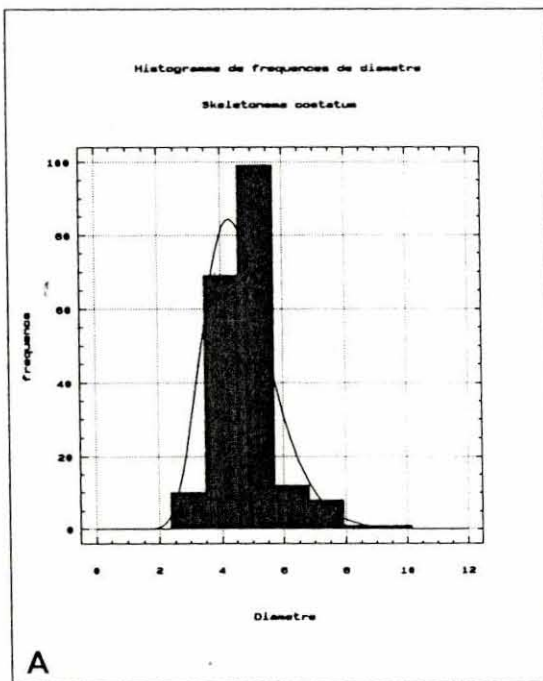


Fig. 4. Histogramme de fréquences de diamètre valvaire de *Skeletonema costatum*. a : mesures en microscopie optique (précision 0,75 µm, intervalle de classe 1,25 µm et n=200). b : mesures sur photographies en M.E.B. (précision 0,2 µm, intervalle de classe 0,5 µm et n=200).

# Régression du nombre cel. à la longueur

*Skeletonema costatum*

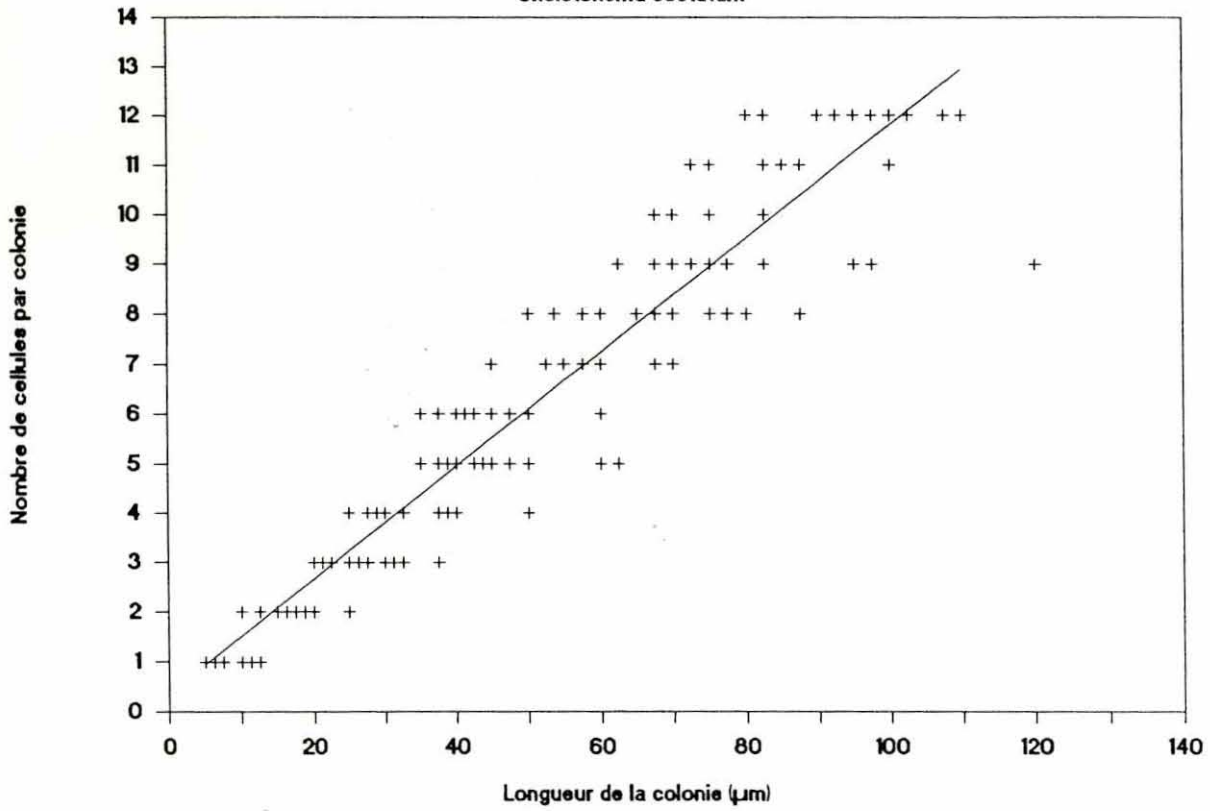


Fig. 5. Graphe de dispersion de la longueur au nombre de cellules algales constituant une chaîne de *Skeletonema costatum*. La droite de régression linéaire est figurée.

Tableau I : Résultats de la régression linéaire du diamètre à la longueur des colonies de *Skeletonema costatum*.

Paramètre	Estimation	Ecart type	T	Proba.
Ordonnée	4,75	0,16	29,6	$< 10^{-5}$
Pente	$-2,05 \cdot 10^{-3}$	$2,92 \cdot 10^{-3}$	-0,7	0,48
Coefficient de corrélation R :			-0,05	
Pourcentage de variance extrait $R^2$ :			$2,50 \cdot 10^{-3}$	
Nombre d'observations n :			200	

Tableau II : Correspondance entre le diamètre sphérique du compteur de particule type TA II et la longueur des chaînes de *Skeletonema costatum* (diamètre  $4,66 \pm 2,23 \mu\text{m}$ ). Les canaux sélectionnés sont ceux où peuvent apparaître une colonie de *S. costatum*.

Compteur de particules canal	diamètre sphérique ( $\mu\text{m}$ )	<i>Skeletonema costatum</i> Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Sélection des canaux	Facteur de conversion
1- 2	1,85	0,2	non	0
2- 3	2,33	0,4	non	0
3- 4	2,93	0,8	non	0
4- 5	3,69	1,5	non	0
5- 6	4,65	3,1	oui	1
6- 7	5,86	6,2	oui	1,07
7- 8	7,38	12,3	oui	2,19
8- 9	9,30	24,7	oui	4,62
9-10	11,72	49,4	oui	8,75
10-11	14,76	98,7	oui	11,04
11-12	18,60	197	non	0
12-13	23,43	395	non	0
13-14	29,53	790	non	0
14-15	37,20	1580	non	0
15-16	46,87	3161	non	0

Tableau III : Résultats de la régression linéaire de la longueur au nombre de cellules des colonies de *Skeletonema costatum*.

Paramètre	Estimation	Ecart type	T	Proba.
Ordonnée	0,381	0,141	2,70	0,007
Pente	0,114	0,002	44,65	$< 10^{-5}$
Coefficient de corrélation R			0,95	
Pourcentage de variance extrait $R^2$			0,91	
Nombre d'observations n			200	