

EVOLUTION DE COMMUNAUTES PHYTOPLANCTONIQUES
APRES FERTILISATION MODEREE

par

G. JACQUES, G. DE BILLY

Laboratoire Arago, 66650 Banyuls-sur-Mer

R E S U M E

Une des voies vers laquelle peut s'orienter l'aquaculture est la simple accélération des processus naturels sur des étendues marines ou saumâtres importantes. Dans cette optique, les auteurs se sont intéressés à l'effet sur des communautés naturelles de fertilisation modérée.

Une première série d'expériences (8) a été menée sur un bac extérieur de 3000 litres. Le développement d'une floraison de Diatomées après fertilisation est obtenue à tout coup. Le temps de latence, le niveau de production atteint, la composition des communautés finales sont assez variables mais le développement bactérien peut être négligé. Contrairement à de précédents résultats obtenus en petit volume, ces expériences ont toujours conduit à des communautés simplifiées, la plupart du temps dominées par la Diatomée *Skeletonema costatum*. La biomasse atteinte, après une fertilisation simulant une "remontée" d'eau profonde méditerranéenne est du même ordre de grandeur que les teneurs maximales relevées en région d'upwelling : de 20 à 30 mg Chl α .m⁻³.

Une seconde série d'expériences (4) a été réalisée avec un chémostat où le flux continu de sels nutritifs simule également une remontée. A l'état d'équilibre, la biomasse atteinte est voisine de celle observée en bac mais le fait remarquable est la grande souplesse d'adaptation des communautés plurispécifiques. L'état d'équilibre est atteint, pour un même enrichissement, avec des taux de renouvellement allant de 30% à 150 % par jour. La diversité est plus élevée que dans le bassin de grand volume et *Skeletonema costatum* joue un rôle négligeable. Les communautés sont dominées par *Nitzschia closterium* et par de petites formes de *Chaetoceros*: *C. simplex*, *C. insignis*, *C. curvisetus* notamment. Le problème du contrôle de la composition spécifique reste encore très délicat.

A B S T R A C T

One approach to the problem of aquaculture consists in a simple acceleration of natural processes in extended areas of salt or brackish water. From this point of view, the authors have been interested in the effect of moderate fertilization on natural communities.

A first series of experiments (8) was made in an external tank of 3000 liters. After fertilization, the development of flowering diatoms was obtained each time. The time of latency, the level of production reached, the composition of the final communities is to some extent variable, but bacterial development may be neglected. In contrast to earlier results, obtained in small volumes of water, these experiments have always led to simplified communities mostly dominated by the diatom *Skeletonema costatum*. The biomass reached, after a fertilization simulating "an upwelling" of mediterranean deep water, is of the same order as the highest amount observed in natural oceanic regions, from 20 to 30 mg Chl. *a*.m⁻³.

A second series of experiments (4) was made by means of a chemostat whereby a continual flux of nutrients also simulated an upwelling. In the equilibrium stage, the biomass reached is close to that observed in the tank, but the remarkable fact is the great flexibility of adaption of the plurispecific communities. The equilibrium state is reached (for the same enrichment) with the range of increased flux from 30% to 150% a day. The diversity is higher than in the large tank and the role of *Skeletonema costatum* is negligible. The communities are dominated by *Nitzschia closterium* and by smaller forms of *Chaetoceros* : in particular, *C. simplex*, *C. insignis*, *C. curvisetus*. The problem of control of the specific composition still persists.

M O T S - C L E S : Phytoplankton, Fertilisation, Chémostat.

K E Y W O R D S : Phytoplankton, Nutrient enrichment, Chemostat.

INTRODUCTION

L'eutrophisation de volumes limités d'eau de mer est un des moyens les plus puissants pour la recherche des éléments limitants. La simple cartographie des constituants de l'eau permet en effet rarement de déceler le facteur principal de croissance (BERLAND *et al.*, 1972). A côté de l'utilisation de souches d'algues tests, la fertilisation de communautés naturelles a été largement utilisée pour cette détection : dans les lacs (PARSONS *et al.*, 1972 ; SCHELSKE et STOERMER, 1972 - SCHELSKE *et al.*, 1974), dans l'Océan Indien (TRANter et NEWELL, 1963), le Pacifique nord (EPPLEY *et al.*, 1971 - GLOOSCHENKO et CURL, 1971), les régions d'upwellings africaines (JACQUES *et al.*, 1976) en Méditerranée (JACQUES *et al.*, 1973 - FIALA *et al.*, 1976 - BERLAND *et al.*, 1975) et dans les estuaires (TAKAHASHI *et al.*, 1975) etc...

La facilité d'obtention de floraisons plurispécifiques lors de ces expériences permet d'envisager d'accélérer les processus naturels sur des étendues plus importantes 1) soit à partir de fertilisation grâce aux déchets de l'activité humaine éventuellement ré-équilibrés, 2) soit à partir d'eaux profondes artificiellement "remontées".

En schématisant à l'extrême, l'aquaculture s'orienterait alors dans deux directions :

- 1) croissance à fort rendement, en volume modéré, d'espèces sélectionnées.

Dans ce premier mode, il s'agit en conditions artificielles, de développer avec un taux de multiplication très élevé des espèces sélectionnées pour certaines de leurs caractéristiques trophiques ou biochimiques. Soit qu'elles intéressent les industries pharmaceutiques, chimiques etc... soit qu'elles constituent la nourriture idéale d'espèces animales de grand intérêt commercial.

- 2) accélération de la production de communautés naturelles en grande surface.

Dans ce deuxième type, le but est d'accroître la production d'aires naturelles (baies, étangs saumâtres...) en demeurant dans une gamme voisine des maximums naturels des régions d'upwelling par exemple. Il faut se rappeler que dans ces régions, les centres de remontée, donc de fertilisation, couvrent une surface très réduite mais que leur influence bénéfique retentit sur une aire maritime vaste.

Notre propos se rattache à ce dernier point même si notre étude préliminaire ne porte que sur des volumes d'eaux très modestes. Nous avons abordé ce problème du développement, du maintien de floraisons plurispécifiques 1) par fertilisation ponctuelle d'un bac de 3000 litres, 2) par fertilisation continue (chémostat) d'un volume de 3 litres. L'intérêt essentiel de ces expériences était de tester le processus de fertilisation et de contrôler l'évolution des communautés, aspect trop souvent négligé.

1. EXPERIENCES SUR GRAND BAC

1.1. Matériel et techniques

Isolée dans un bac en fibre de verre, la masse d'eau de 3000 litres est replacée en milieu naturel (Fig.1). Ce système modeste se rapproche dans son principe de la sphère de STRICKLAND et TERHUNE (1961) et diffère des deux autres processus utilisables :

- l'isolement de volumes importants *in situ* dans des cylindres en polyéthylène souple (BERLAND *et al.*, 1975 - GOLDMAN, 1962
- SCHELSKE et STOERMER, 1971 - programme Cépex etc.....)
- l'isolement de grandes masses d'eau dans des enceintes montées sur la terre ferme ou les bateaux (EDMONDSON, 1955 - EPPLEY *et al.*, 1971 - STRICKLAND *et al.*, 1969 - RAYMONT et ADAMS, 1958 ...)

Notre système permet de bénéficier de l'éclairage solaire et d'une régulation thermique relative voisine du milieu naturel. L'installation d'appareillage de contrôle et de prélèvement se réalise sur le ponton qui permet d'accéder au grand bac. L'enceinte peut être remplie avec de l'eau du large pompée en mer puis transportée dans une grande outre souple (Fig.1). A terre, le transvasement s'effectue par pompage direct entre l'outre située sur le pont du navire et le grand bac (pompe en résine phénolique à impulseur en néoprène).

Lors de nos différentes expériences, l'enrichissement, réalisé le lendemain du remplissage du bac, permet d'obtenir des concentrations du même ordre de grandeur que les maximums méditerranéens:

P-PO ₄	: de 0,7 à 1,0 matg.m ⁻³
N-NO ₃	: de 7 à 10 matg.m ⁻³
Si-SiO ₄	: de 7 à 10 matg.m ⁻³
Fer	: de l'ordre de 10 mg.m ⁻³
Vitamines - B ₁	: de l'ordre de 200 mg.m ⁻³
- Biotine	: de l'ordre de 1 mg.m ⁻³
- B ₁₂	: de l'ordre de 1 mg.m ⁻³

L'agitation de l'eau est assurée par un bullage d'air comprimé à partir d'une rampe circulaire en PVC placée au fond du bac et d'un diamètre moitié de celui-ci. L'énergie solaire est mesurée en continu et les paramètres suivants sont pris en compte quotidiennement: températures à l'intérieur et à l'extérieur du bac, salinité, teneur en oxygène (constamment à saturation), concentration en chlorophylle et en phéophytine α , teneurs en sels nutritifs, production primaire et composition spécifique.

1.2. Déroulement des expériences

Compte tenu du volume limité du bac, l'évolution de la

X

température et de la salinité permettent de juger de la validité du procédé.

Un des points délicats dans ce type d'expérience est celui des variations thermiques, le bac représentant une faible masse d'inertie. En règle générale, la température diurne est supérieure à l'intérieur de l'enceinte comparée à celle du bassin. Ce n'est que par grand froid et ciel très couvert que les deux températures sont semblables. Entre 10 et 20°C, l'écart est de l'ordre de 0,5°C ; par forte chaleur, il se situe entre 1 et 2°C. Le maximum thermique fût de 27,2°C lors de l'expérience menée en août. Evidemment, la température extérieure n'est pas celle de la mer ouverte mais d'un bassin relativement clos. Ceci fait, qu'au maximum, la température du bac se situe à 5°C au-dessus du milieu naturel, ce qui reste dans une limite acceptable pour les processus biologiques.

La salinité constitue par contre un paramètre plus critique. Par temps sec, l'évaporation conduit à une élévation progressive de la salinité (Tableau 1). Cependant, exceptée la valeur de 43,0‰ rencontrée en juin, cette augmentation est certainement sans effet sur les algues. Par contre les précipitations violentes ont un effet immédiat qui peut être catastrophique : baisse de 2‰ en une journée lors des expériences de février avril et mai, mais surtout baisse de 5‰ en décembre (ce qui conduit à une salinité proche de 31‰ déjà rencontrée dans la région de Banyuls en surface lors des pluies automnales) et salinité descendant même à 10‰ en mai 1977, ce qui mit un terme à l'expérience.

Si le but poursuivi est de développer des floraisons, la solution du bac flottant, économique, est dans la plupart des cas viable sur le littoral méditerranéen, à l'exception de très fortes précipitations dont il faudrait se protéger. L'idéal est de placer l'enceinte dans un milieu dont la communication avec la mer ou la profondeur soient maximales.

Sur le plan du mélange vertical, l'agitation par bullage est bonne, ce pour une profondeur de l'ordre de 1 m jusqu'à des densités de plancton proches de 50 mg Chl α .m⁻³. Une comparaison de la production primaire *in situ* et du potentiel hétérotrophique entre la surface et le fond est claire à ce sujet (Tableau 2).

Un des autres problèmes à craindre avec ces enceintes de volume limité est le développement de films bactériens. Pour juger de l'activité globale des microorganismes, nous avons régulièrement suivi 1) la fixation de 14 C minéral à l'obscurité, 2) la fixation de 14 C - glucose, utilisé comme indice hétérotrophique.

La fixation de carbone minéral à l'obscurité qui présente une relation certaine avec la fixation par chimiosynthèse est élevée dans les tous premiers jours des expériences. Elle atteint alors de 50 à 100% de la production photosynthétique. Ce fait est normal puisque l'on s'adresse à une communauté que le choc physiologique a conduit en phase de sénescence. Mais, dès que la floraison s'amorce après fertilisation, la conjonction lumière + sels nutritifs fait totalement pencher la balance en faveur de l'autotrophie photosynthétique. La production "sombre" représente alors toujours moins de 10% de la fixation à la lumière et ce pourcentage diminue en même

Tableau 1 – Salinités maximales obtenues lors de différentes expériences «Grand Bac» menées à Banyuls.

Février	1976	:	38,3 ‰
Avril	"	:	38,4 ‰
Juin	"	:	43,0 ‰
Juillet	"	:	39,0 ‰
Décembre	"	:	38,7 ‰
Août	1977	:	38,7 ‰
Septembre	"	:	38,2 ‰

Tableau 2 – Production primaire (mgC.m⁻³ pour 4 heures) et fixation hétérotrophique (cpm) en surface et à 1 m au cours de deux expériences «Grand Bac».

Date	Production Primaire		Hétérotrophie	
	Surface	Fond	Surface	Fond
7 avril	0,8	0,8	2,1	2,3
9 avril	3,2	3,0	41,3	35,8
12 avril	45,2	37,9	7,5	5,1
13 avril	136,4	137,6	8,6	6,0
14 avril	154,4	148,0	18,6	9,7
15 avril	173,6	189,1	19,6	16,9
16 avril	114,8	98,7	12,6	13,2
6 mai	1,3	0,7	1,2	0,9
8 mai	23,9	20,4	25,4	20,7
9 mai	108,0	99,1	44,9	41,1
10 mai	443,0	601,0	21,1	21,4
11 mai	277,3	431,2	19,5	24,7
12 mai	231,1	268,4	47,3	40,3

Tableau 3 – Exemples d'évolution comparée de la production primaire (mgC.m⁻³ pour 4 heures) et de l'activité hétérotrophe (fixation de glucose exprimée en unités arbitraires : cpm) lors de trois expériences «Grand Bac».

	¹⁴ CO ₂	¹⁴ C-glucose		¹⁴ CO ₂	¹⁴ C-glucose		¹⁴ CO ₂	¹⁴ C-glucose
28/2	4,3	1,3	6/5	1,3	1,2	12/8	5,5	1,2
3/3	2,9	9,0	8/5	23,9	25,4	13/8	7,2	2,9
4/3	2,2	7,1	9/5	108,0	45,0	14/8	15,5	2,4
6/3	19,3	8,2	10/5	443,0	21,1	15/8	60,6	2,6
8/3	36,4	3,9	11/5	277,3	19,5	16/8	318,2	2,1
9/3	27,8	5,6	12/5	231,1	47,3	17/8	260,3	3,0
12/3	6,0	14,8				18/8	224,1	2,0
						19/8	223,4	19,6

temps que la production primaire s'élève. Lors de la floraison maximale elle représente moins de 1%.

L'évolution du potentiel hétérotrophique est du même type quoiqu'un peu plus complexe. Dans chacune des expériences, on note 1) l'augmentation rapide de l'indice hétérotrophique en début d'expérience pour les raisons identiques à celles exposées pour la fixation à l'obscurité du carbone. 2) l'augmentation assez marquée de l'assimilation de glucose juste après le maximum de production primaire. Ceci est analogue au schéma classique des régions d'upwelling où la zone du maximum de potentiel hétérotrophe ceinture celle du maximum de développement phytoplanctonique (Tableau 3).

L'examen des données de ces deux méthodes prouvent que les microorganismes se développent peu lors de ces expériences et ne gênent en rien leur déroulement. Ceci est d'ailleurs normal, la fertilisation minérale favorisant largement les algues autotrophes qui reçoivent de plus un fort éclaircissement.

1.3. Evolution de la biomasse et de la production après fertilisation.

Mis à part le cas de l'expérience arrêtée en raison d'une dilution trop forte liée aux précipitations, toute fertilisation est suivie d'une floraison de certaines des espèces d'origine (Fig. 2).

- Temps de latence

La phase de latence est d'une durée très variable. Le passage de cette phase à la croissance exponentielle n'est nullement lié à une augmentation de l'éclaircissement puisque les valeurs journalières moyennes pendant ces deux phases sont respectivement de :

février	:	1208	puis	861	joules.cm ⁻²
avril	:	1909	"	2064	"
mai	:	2744	"	1249	"
juin	:	2761	"	3038	"
juillet	:	2201	"	2757	"
décembre	:	683	"	406	"

Par contre, mis à part l'expérience de juin, pour des raisons mal déterminées (choc thermique d'origine, la température *in situ* étant de 8°C inférieure à celle du premier jour d'incubation ?), le temps de latence est d'autant plus court que l'on avance en saison, c'est-à-dire que la température et l'énergie globale sont plus élevées : 14 jours en décembre, 7 en février et avril, 3 en mai et juillet.

- Développement de la biomasse autotrophe

La phase exponentielle de croissance est par contre très voisine d'une expérience à l'autre : en 2 jours, la biomasse est multipliée par un facteur 5 à 10. Le maximum ne se maintient qu'une journée en dépit de l'absence de grazing et de sédimentation. La carence en sels nutritifs suffit à stopper la croissance et à ce que s'installe une dégradation des pigments ce qui retentit sur la teneur en chlorophylle α active qui nous sert ici de test de biomasse. Quelques jours après le maximum, la teneur en chlorophylle est réduite de 30 à 80%

(Tableau 4) :

Tableau 4. Teneurs en chlorophylle *a* à différents stades d'évolution lors des expériences "grand bac" (de février 1976 à août 1977).

	Février	Avril	Mai	Juin	Juillet	Mai	Août
Phase latence	0,10	0,12	0,04	0,10	0,02	0,11	0,55
Maximum	29,2	27,3	37,3	14,2	12,8	9,57	9,62
Fin expérience	22,0	16,6	13,7	2,0	5,2	6,7	7,8

- Evolution de la production et du rapport P / B

Production et biomasse évoluent relativement parallèlement. Le maximum de production est atteint en même temps ou juste avant celui de la biomasse chlorophyllienne ; il faudrait d'ailleurs vu la brièveté de la phase de croissance une analyse en continue pour détailler ces phénomènes. A ce niveau macroscopique, le schéma est donc classique de l'évolution d'un écosystème au cours du temps : tendance à l'accroissement de la biomasse qui représente la capitalisation de la production, ce, de manière asymptotique.

La production journalière maximale atteinte dans les différentes expériences varie entre 36 et 843 mgC.m⁻³ (Tableau 5), intervalle considérable puisque la fertilisation est identique. La biomasse maximale évolue dans une gamme plus restreinte entre 9,6 et 32,9 mg Chl *a*. m⁻³. Quant à l'efficacité biologique, indiquée par le rapport production / biomasse (P/B), elle présente une évolution régulière et remarquable (Tableau 5). Très élevée après la fertilisation, essentiellement en raison d'une biomasse à la limite de la détection, elle baisse régulièrement à partir du début de la phase exponentielle. Si l'on se place sur le plan de l'exploitation des algues, il est évident qu'il faut toujours maintenir le système à un stade primitif à fort rapport P/B. D'une expérience à l'autre, les rapports P/B sont très variables en valeur absolue, en grande partie en fonction de l'éclairement et de la température, paramètres avec lesquels ils s'élevèrent. A noter que l'efficacité énergétique production/biomasse/énergie radiante suit la même évolution que le rapport P / B.

1. 4. Consommation des éléments nutritifs

En mer, l'activité biologique intense n'affecte pas de manière sensible la composition relative en phosphore et azote minéraux. Il n'en va pas de même pour le silicium dont la consommation est liée à l'importance des Diatomées et dont la minéralisation est lente. Dans nos expériences en bac clos, si l'évolution relative des trois sels est assez semblable (Fig.3), un examen plus détaillé suscite quelques remarques :

1) Pour l'azote et la silice, à un degré moindre pour le phosphore, la disparition des formes minérales dans le milieu est brutale ; la plupart du temps une journée suffit pour une brusque réduction. Des faits identiques ont été observés par STRICKLAND *et al.* (1969) lors du développement en grand volume du Dinoflagellé *Cachonina niei* et ont été simulés par COSTE et SLAWYK (1974) sur des données de région d'upwelling : après une période d'une dizaine de jours au cours de laquelle le niveau de concentration ne diminue que faiblement, suit

Tableau 5 — Production primaire, biomasse chlorophyllienne et rapport P/B au cours du temps lors des expériences «Grand Bac».

	jour après fertilisation	P *	B **	P/B
Février 76	1	4,3	0,19	22,60
	6	2,2	0,26	8,50
	7	29,3	1,87	15,70
	9	136,4	14,00	9,70
	10	127,8	29,20	4,40
	13	56,0	22,00	2,50
Avril 76	1	0,8	0,07	11,40
	3	3,2	0,03	106,70
	6	45,2	1,42	31,80
	7	136,4	4,62	29,50
	8	154,4	21,90	7,05
	9	173,6	27,30	6,36
	10	114,7	22,00	5,21
Mai 76	1	1,3	0,05	26,00
	3	23,9	0,62	38,50
	4	108,0	3,20	33,80
	5	443,0	19,40	22,80
	6	277,3	32,90	8,40
	7	231,2	27,00	8,60
	Juin 76	1	0,6	0,02
8		13,8	0,03	460,00
9		27,0	0,38	71,00
10		199,7	2,07	96,40
11		842,9	14,20	59,30
12		312,0	7,90	39,50
Juillet 76	1	2,8	0,07	40,00
	4	123,6	2,82	43,80
	5	624,3	12,76	48,90
	6	561,3	7,66	73,30
	7	85,0	5,20	16,40
Décembre 76	1	4,6	0,19	27,20
	11	9,8	0,44	22,30
	13	15,6	0,86	18,10
	14	30,7	1,34	22,90
	15	37,9	4,49	8,44
	17	202,0	7,04	28,70
	18	227,8	18,71	12,20
	19	251,1	17,01	14,80
Août 77	1	5,5	0,03	183,30
	2	7,2	0,55	13,10
	4	60,6	6,14	9,80
	5	318,2	9,62	33,10
	6	260,3	7,81	33,30

* P : mgC.m⁻³ pour 4 heures

** B : mg.Chl a .m⁻³

une période brève où l'épuisement est total. Il faut noter qu'en région de remontée d'eau profonde, on ne rencontre d'ailleurs la plupart du temps que des situations extrêmes : eaux dans lesquelles l'activité biologique n'a pas commencé ou, au contraire, eaux épuisées en ressources minérales.

2) La cinétique d'assimilation du phosphore est plus variable que celle de l'azote. Ou bien elle est, comme pour azote et silice brute ou bien elle est plus progressive (février 1976, juillet 1976, mai 1977). Il y a même un cas où la disparition du milieu s'effectue dès le premier jour, bien avant tout développement phytoplanctonique. Ce comportement particulier semble indiquer qu'existerait un pool intracellulaire de phosphates qui servirait de régulateur : une telle figure n'a pourtant été nettement montrée actuellement que pour l'azote.

3) A partir du moment où le milieu d'enrichissement est équilibré en silice, ce sont les Diatomées et elles seules qui représentent la masse de la floraison. En se développant, elles éliminent tout autre groupe et consomment totalement les silicates.

4) Les rapports sels minéraux consommés / matière organique formée sont plus variables que lors d'expériences du même type menées en petit volume (FIALA *et al.*, 1976). En prenant comme bases le rapport pondéral carbone / chlorophylle *a* égal à 55 et le rapport en nombre d'atomes C / P égal à 106, la relation entre chlorophylle formée et phosphates consommés est de 23 mg/matg. Sur cette base, on s'aperçoit qu'en fonction du phosphore minéral consommé, il y a un déficit en chlorophylle lors des expériences d'été et un excès lors de celles d'hiver sans qu'une explication valable puisse être avancée (Tableau 6) :

Tableau 6. Teneur maximale en chlorophylle observée et calculée à partir du rapport théorique chlorophylle/phosphates de 23.

Expérience	Chl a mesurée	Chl a calculée
février 76	28	16
avril 76	28	18
mai 76	32	25
juin 76	7	14
juillet 76	6	7
mai 77	5	11
août 77	6	16

Il est évident qu'en milieu naturel, pour une fertilisation identique, la biomasse atteinte est très inférieure car le phytoplancton est éliminé par diffusion horizontale, sédimentation et surtout par l'action des herbivores. Ce quotient est habituellement de 7 en Méditerranée nord-occidentale lors de la floraison printanière (JACQUES *et al.*, 1973). Pour une fertilisation représentant le cas théorique d'une arrivée d'eau intermédiaire méditerranéenne en surface, le niveau atteint par la chlorophylle correspond aux valeurs extrêmes jamais relevées en région d'upwelling des côtes nord-ouest africaines quand les alizés soufflent régulièrement mais sans trop de violence.

2. FERTILISATION DE PLANCTON EN PETIT VOLUME ET EN FLUX CONTINU

2.1. Technique

2.1.1. Rappel théorique

Le chémostat est une technique qui permet le maintien d'une culture en continu ; un tel résultat est obtenu d'une part en contrôlant le taux de dilution de la culture par l'apport de milieu nutritif frais (avec élimination d'un égal volume de culture), et d'autre part, en maintenant l'un des facteurs de croissance à un taux limitant : c'est le facteur de contrôle. La croissance peut s'exprimer par μx , x étant la concentration des individus de la population au temps t_0 , et μ étant une constante spécifique de la population donnée, qui ne varie pas si les conditions demeurent stables. La valeur de cette constante est fonction du facteur limitant selon une relation du type Michaelis-Menten, obtenue pour des cinétiques enzymatiques, comme l'a démontré MONOD (1950) :

$$\mu = \mu_{\max} \left(\frac{s}{K_s + s} \right) \quad (1)$$

D'autre part, classiquement on peut écrire que l'accroissement de la biomasse de la culture est égal à sa croissance diminuée de l'élimination des cellules, soit :

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - Dx = x (\mu - D) \text{ avec, } (2)$$

x = concentration de la population au temps t_0 , D = taux de dilution et s = concentration du substrat limitant.

En combinant les relations (1) et (2), on observe que :

- lorsque le taux de croissance est égal au taux de dilution D , la culture a atteint un état stable.
- l'état stable s'autoentretient
- si un deuxième organisme est mis en compétition avec le premier il doit y avoir élimination de l'une des deux espèces selon les valeurs respectives de leur taux de croissance et du taux de dilution choisi et de la concentration du substrat.

2.1.2. Montage du chémostat (Fig. 4)

L'installation comprend 4 unités chémostatiques identiques. Chaque unité se compose d'un récipient en verre de 4 litres. L'agitation de la culture est assurée par un barreau magnétique maintenu à deux centimètres du fond par une tige centrale entraînée par un moteur à vitesse lente. Deux ouvertures latérales permettent d'une part, l'introduction de milieu frais, d'air ou de gaz carbonique, et d'autre part, l'évacuation de la culture et les prélèvements. L'évacuation a d'abord été réalisée par un système à double siphons qui s'est avéré peu pratique et source de contaminations, puis par un trop-plein à niveau, après percement d'un orifice à la base des flacons.

Placés au dessus des incubateurs et à l'abri de la lumière, quatre réservoirs en plastique d'une capacité de 20 litres, contiennent le milieu de culture frais. Celui-ci est distribué dans les incubateurs au moyen d'une pompe péristaltique multicanaux. Ce procédé a été choisi car il permet un débit régulier et continu, fonction du diamètre des tubes de pompe. L'ensemble de la tubulure a été réalisé en caoutchouc silicone très maniable et d'un entretien aisé : nettoyage à l'acide sulfochromique si nécessaire et autoclavage.

2.1.3 Conditions expérimentales.

Au cours de nos expériences, trois facteurs ont été maintenus constants :

- 1) la température : l'ensemble des quatre unités de chémostat a été disposé dans une chambre à température constante, réglée à 18°C.
- 2) L'éclairage : il est assuré par un ensemble de quatre tubes fluorescents "cool white" fonctionnant en continu, et fournissant une intensité lumineuse d'environ 5000 lux au niveau de chaque flacon.
- 3) Le milieu nutritif : il est constitué à partir d'eau de mer filtrée, à laquelle on ajoute les éléments suivants : (préalablement pesés, dissouts, répartis dans des tubes et conservés congelés) :

P-PO ₄	1	matg.m ⁻³
N-NO ₃	10	matg.m ⁻³
Si-SiO ₄	10	matg.m ⁻³
Fer EDTA	10	mg.m ⁻³
Vitamines	B ₁	200 mg.m ⁻³
	B ₁₂	1 mg.m ⁻³
	Biotine	1 mg.m ⁻³

La concentration de chacun des facteurs nutritifs est un peu supérieure aux plus fortes valeurs trouvées en Méditerranée.

L'apport de ces différents éléments est calculé de façon à ce qu'il soit identique pour chacun des quatre incubateurs quelque soit le taux de dilution.

Quant à l'agitation, nous en avons étudié plus en détail ses effets. Pour un taux de dilution identique (Fig. 5), la biomasse augmente en fonction inverse de l'agitation : pour des vitesses de rotation de l'ordre de 20, 60 et 100 t.mn⁻¹, on observe que lorsque les cultures ayant le même taux de dilution atteignent le plateau, la biomasse correspondante est respectivement de 36,25 et 13 mg. Chl. a.m⁻³. C'est pourquoi, dans le cadre de nos expériences nous avons réglé la vitesse au minimum, soit environ 20 t.mn⁻¹.

Avant chaque expérience, l'ensemble de l'appareillage est soigneusement lavé à l'acide chlorhydrique dilué (sulfochromique si nécessaire), puis rincé abondamment à plusieurs eaux. Nous avons également utilisé l'autoclavage des incubateurs, mais, outre l'inconvénient de la manipulation et la possibilité de "lavage de silicates" que cela peut occasionner au cours de l'expérience cela ne semble pas indispensable : nous n'avons pas observé de contamination bactérienne au cours des essais.

2.1.4 Mise en route des expériences.

Une semaine environ avant le début d'une expérience, une centaine de litres d'eau de mer est prélevée au large de Banyuls-sur-mer à faible profondeur. Une partie (20 litres) est mise en culture close, puis enrichie avec le milieu précédemment décrit. Le reste est filtré sur membrane de $0,8\mu$ de porosité, puis conservé jusqu'à la mise en route du chémostat, en bidons de plastique, dans la chambre à température constante (18°C).

Lorsque la culture close se trouve en phase exponentielle de croissance (teneur en chlorophylle comprise entre 5 et 10 mg.m^{-3}), le chargement des incubateurs est alors effectué ; agitation et alimentation en milieu frais sont mises en route.

2.1.5 Déroulement d'une expérience.

La mise en route effectuée, le débit est contrôlé par mesure du volume recueilli à la sortie de chacun des incubateurs : des écarts ont été trouvés, pouvant aller jusqu'à ± 10 à 15% de la valeur théorique.

La biomasse est mesurée par dosage de la teneur en chlorophylle a (méthode fluorométrique) et par comptage des espèces phytoplanctoniques. Ceci nécessite un prélèvement de 100 à 150 ml toujours effectué à la même heure et immédiatement remplacé par un égal volume de milieu frais dans les incubateurs.

2.2 Biomasse, production en fonction du flux

Les premiers résultats ont été obtenus à partir d'expériences effectuées à différentes périodes de l'année : décembre, février, mars, août. Les taux de renouvellement ont été choisis, dans un premier temps pour couvrir la gamme de 30%, 60%, 80% et 100%, puis ensuite la gamme de 125% et 145% en 24 heures.

Pour des taux de renouvellement de 30%, 60% et 145%, on peut observer l'existence d'une montée très nette de la teneur en chlorophylle les deux premiers jours, puis d'une chute, et enfin d'une remontée progressive et parfois importante, avant l'établissement du plateau correspondant à l'état stable, entre le quatrième et le huitième jour.

Pour des taux de renouvellement intermédiaires de 80%, 100% et 125%, lors de deux expériences, le plateau n'était pas encore atteint au quatorzième jour (expérience 1) ni même au trentième jour (expérience 2), la remontée se faisant par palier ou en dent de scie.

On peut également constater (Fig.6) que la production journalière de chlorophylle a est d'autant plus forte que les taux de dilution sont élevés et que la biomasse instantanée est faible, ceci jusqu'au taux de renouvellement de 125 % (taux de dilution : $5,2 \cdot 10^{-2}$). En effet, à 145 % (taux de dilution : $6,0 \cdot 10^{-2}$), on observe une baisse de la production de chlorophylle a .

2.3 Conclusions sur les expériences en chémostat.

Ces premiers résultats montrent de toute évidence, une influence importante du taux de dilution sur la production et sur la sélection des espèces. En jouant sur différents facteurs (température, lumière, éléments nutritifs, taux de dilution...), il est possible d'accroître fortement le rendement.

Par contre, il est très difficile, actuellement de maintenir en culture continue la diversité des espèces présentes dans les incubateurs en début d'expérience (GOLDMAN et RYTHÉ, 1976). Il semble qu'il y a effectivement et conformément à la théorie (cf. § 2.1.1), un phénomène de compétition qui échappe au contrôle de l'expérimentateur et qui serait dû aux relations complexes et variables entre les espèces : ces relations peuvent être influencées par la température, la lumière, l'agitation (GOLDMAN et RYTHÉ, 1976), mais également par des phénomènes d'inhibition (ELBRACHTER, 1976 - PRATT, 1966), par la concentration des éléments nutritifs, par les différences entre les constantes d'affinité pour les facteurs limitants etc... Cette compétition réelle s'ajoute à l'artéfact de dilution provoquant ce que JANNASCH (1974) appelle "l'exclusion sélective".

Pour notre part nous avons choisi de se rapprocher des conditions trouvées en Méditerranée lors des blooms phytoplanktoniques. En culture close, ces conditions permettent de conserver une diversité très grande des espèces en fin d'expériences (JACQUES *et al.*, 1973) ; par contre, en culture continue, on constate l'apparition du phénomène "d'exclusion sélective" : en cherchant à augmenter le taux de dilution, la production s'est accrue, mais très probablement aussi, la sélection.

3. EVOLUTION DES COMMUNAUTES

1.1 Présentation

En mer, suite à un apport de sels nutritifs à partir d'eau profonde, on observe le plus souvent une floraison plurispécifique de Diatomées de petite taille, donc à fort pouvoir de multiplication. La dominance ultérieure d'une seule espèce est généralement le reflet d'une pression sélective d'un des facteurs du biotope et la succession naturelle est parfois remarquable comme cela a été démontré en été en Manche (GRALL et JACQUES, 1964).

En conditions artificielles, quand on recherche un rendement élevé, l'idéal est d'obtenir une chaîne courte : une espèce phytoplanktonique + un herbivore particulièrement adapté à sa consommation. Dans l'optique d'une fertilisation en grand volume de

communautés naturelles, il y a au contraire intérêt à éviter de déséquilibrer les communautés : de nombreuses espèces, de nombreuses interconnexions et voies trophiques permettront un meilleur rendement et une meilleure adaptation à des changements dans le milieu.

Le contrôle de la composition spécifique peut d'abord se faire à une échelle macroscopique : la privation en silice nuira au développement des Diatomées alors qu'un fort enrichissement avec cet élément fera pencher la balance en leur faveur (en milieu équilibré comportant de la silice, il arrive comme l'ont montré DUNSTAN et TENORE, 1974, que les flagellés verts l'emportent sur les Diatomées), la richesse en matière organique pourra favoriser certaines espèces de Dinoflagellés ou de Cryptophycées etc...

1.2. Communautés dans le grand bac

Dans les expériences précédentes sur petit volume, dans le grand bac et même en chémostat, nous avons toujours obtenu après enrichissement modéré avec un milieu équilibré une dominance totale des Diatomées de petite taille.

En petit volume, nous avons montré que dans les 10 jours qui suivaient la fertilisation, le remaniement qualitatif était léger en dépit de la floraison. Les espèces les mieux représentées étaient les constituants habituels des floraisons méditerranéennes : *Nitzschia delicatissima*, *N. pungens*, *Leptocylindrus danicus*, *Chaetoceros insignis*, *C. socialis*, *Coscinosira polychordata* ; la diminution de la diversité spécifique n'était que légère.

Sur les huit expériences en grand bassin, les résultats diffèrent (Fig. 7). Dans cinq cas, une espèce finit par éliminer les autres et on se trouve en présence d'une véritable culture monospécifique ; dans deux autres cas, deux espèces jouent un rôle important et dans un seul cas, où le développement est d'ailleurs modeste la diversité en fin d'expérience demeure élevée. Une fois sur deux l'espèce qui élimine toutes les autres est *Skeletonema costatum* qui joue également un rôle dans trois des autres floraisons. Seule *Chaetoceros simplex* est à la base du bloom du mois de mai.

1.3. Communautés en chémostat

Le passage en chémostat est précédé d'une culture close de façon à amener la communauté en phase exponentielle de croissance. Sur les 3 expériences que nous avons suivies, le trait principal à noter est le rôle négligeable joué par *Skeletonema costatum* mais le rôle très important de la Diatomée non coloniale *Nitzschia closterium* qui ne joue en milieu naturel qu'un rôle très secondaire. De nombreuses espèces de *Chaetoceros* se développent également : *Chaetoceros simplex*, *C. curvisetus*, *C. sp.* (Tabl. 7) :

Tableau 7. Principales espèces présentes dans le chémostat à l'état d'équilibre pour un taux de renouvellement de 30% par jour.

Juillet 76	: <i>Nitzschia closterium</i> (98%)
Août 76	: <i>Chaetoceros simplex</i> (96%)

Décembre 76

: *Chaetoceros affinis* (60%), *C. curvisetus* (12%), *C. insignis* (12%), *Nitzschia closterium* (12%)

Dans ces expériences, à partir de la même communauté d'origine nous avons suivi en parallèle 4 flux différents représentant des taux croissants d'exploitation de la biomasse produite : 30, 60, 80 et 100% du volume renouvelé quotidiennement. Il est incontestable que ce facteur induit des différences de composition au bout de 15 jours d'expérience, sans que nous puissions encore définir une règle générale, ce type de test devant être poursuivi.

1.4. Conclusions sur l'évolution des communautés

Aussi bien dans le cadre de fertilisation ponctuelle en grand volume qu'en utilisant le chémostat, il est bien clair, que dans le cadre de nos connaissances actuelles de l'autécologie des principales espèces, des interactions entre elles etc..., le contrôle précis de l'évolution des communautés nous échappe. Alors qu'en faible volume nous avons montré la persistance d'une diversité assez élevée, toutes nos expériences en chémostat et sur le grand bac ont conduit à la dominance d'une espèce, rarement de deux, exceptionnellement de plus de deux.

Un point intéressant est la différence de comportement entre *Skeletonema costatum* et *Nitzschia closterium*, la première espèce étant la composante principale des floraisons en grand volume, la seconde se développant particulièrement bien en chémostat. Il ne s'agit pas là d'un hasard expérimental, DUNSTAN et TENORE (1974) ayant déjà montré leur antagonisme dans des cultures en masse, en fonction du taux de dilution :

- faible taux de renouvellement → densité cellulaire élevée → réduction lumière et sels nutritifs → excès de métabolites → dominance des algues vertes et de Diatomées à faible taux de croissance telle *Nitzschia closterium*
- forte dilution → biomasse basse mais production élevée → peu d'excrétion dominance de Diatomées coloniales à fort pouvoir de multiplication, notamment *Skeletonema costatum*.

D'autre part, CURL et Mc LEOD (1961) ont montré la grande tolérance de *Skeletonema* vis-à-vis de la salinité (au moins 50‰ de la croissance maximale entre 10 et 40 ‰), sa résistance aux variations thermiques et à d'autres stress. Les raisons avancées par DUNSTAN et TENORE (1974) ne peuvent guère être transposées à nos expériences puisque *Nitzschia closterium* se développe en flux continu élevé alors que *Skeletonema* domine dans un bac sans renouvellement. C'est donc la grande tolérance de cette espèce aux variations du biotope qui conduirait à son développement fréquent dans le grand bac, cette espèce étant typique de floraisons en eau côtière, agitées, perturbées et fluctuantes. La constance des conditions extérieures, peut-être la présence de parois pourraient expliquer l'importance en chémostat de *Nitzschia closterium*, espèce fréquente mais jamais, à notre connaissance à la base de floraisons en mer. Dans la région de Banyuls, elle est cependant parfois assez abondante en été sous la thermocline dans des eaux qui par la stabilité thermique et la fertilisation modérée mais continue (CAHET *et al.*, 1972) sont relativement proches du chémostat.

Un autre point à noter est la rareté des successions d'espèces dans nos expériences. Ce n'est que dans l'expérience grand bac de décembre, caractérisée par une très longue phase de latence, que s'observe la succession de 4 espèces : *Rhizosolenia alata*, *Chaetoceros curvisetus*, *C. didymus* et *Skeletonema costatum*. Dans deux cas, *Skeletonema costatum* a succédé à *Nitzschia delicatissima*, une fois c'est *Chaetoceros simplex* qui a pris la suite de *Skeletonema*. Dans deux cas, dès le début de la phase de croissance, la dominance d'une espèce (*Skeletonema costatum*, *Chaetoceros simplex*) fût absolue. Fertilisation + lumière abondante constituent donc une pression sélective diminuant la diversité et conduisant souvent à une culture monospécifique. Notons d'ailleurs que dans des grands volume d'eau non fertilisées, la succession est généralement aussi complexe qu'en milieu naturel et la diversité reste élevée (Mc ALLISTER *et al.*, 1961 ; TAKAHASHI *et al.*, 1975). BROCKMAN *et al.* (1977) ont déterminé en détail les trois phases d'une telle succession après avoir isolé une masse d'eau dans la région d'Helgoland 1) communauté dominée par *Lauderia borealis* (corrélation avec la disparition de l'ammoniaque) 2) seconde étape avec *Dinophysis acuminata* et *Prorocentrum micans* 3) développement massif de différentes espèces de *Rhizosolenia*, alimenté par la reminéralisation *in situ*. Fertilisation et diminution de la diversité semblent donc inéluctablement liées, plus encore si l'écosystème est soumis à une exploitation.

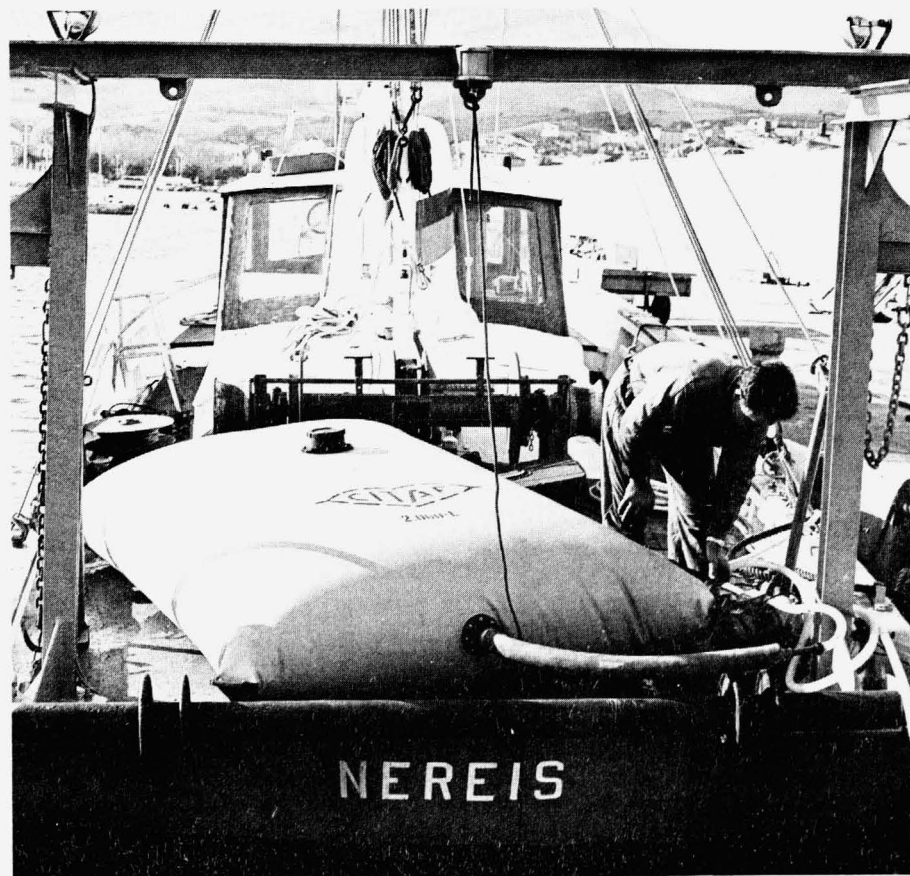
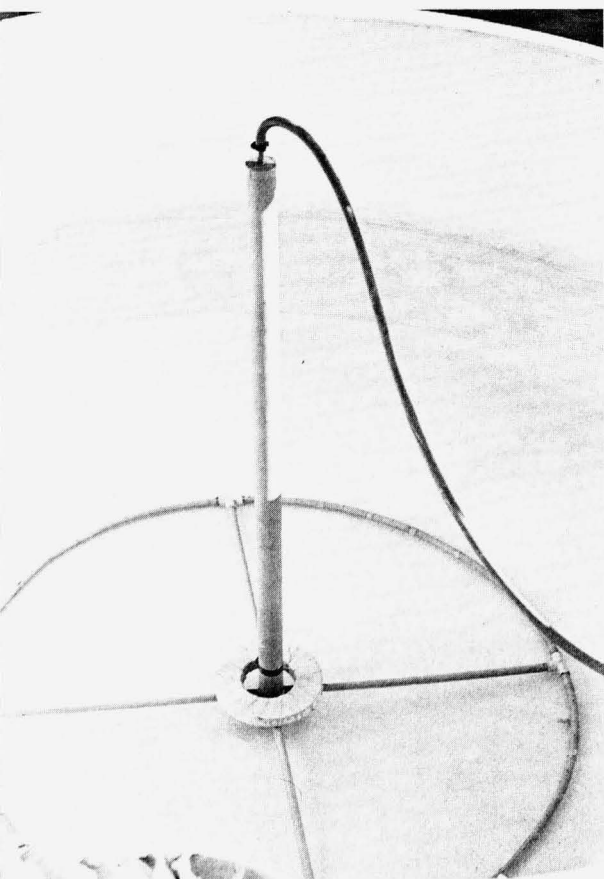
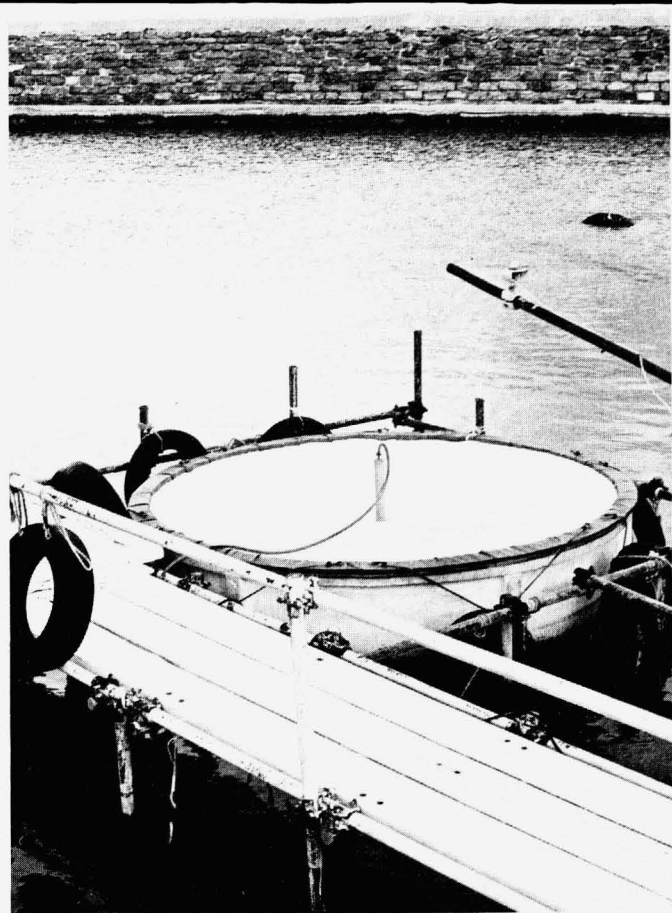
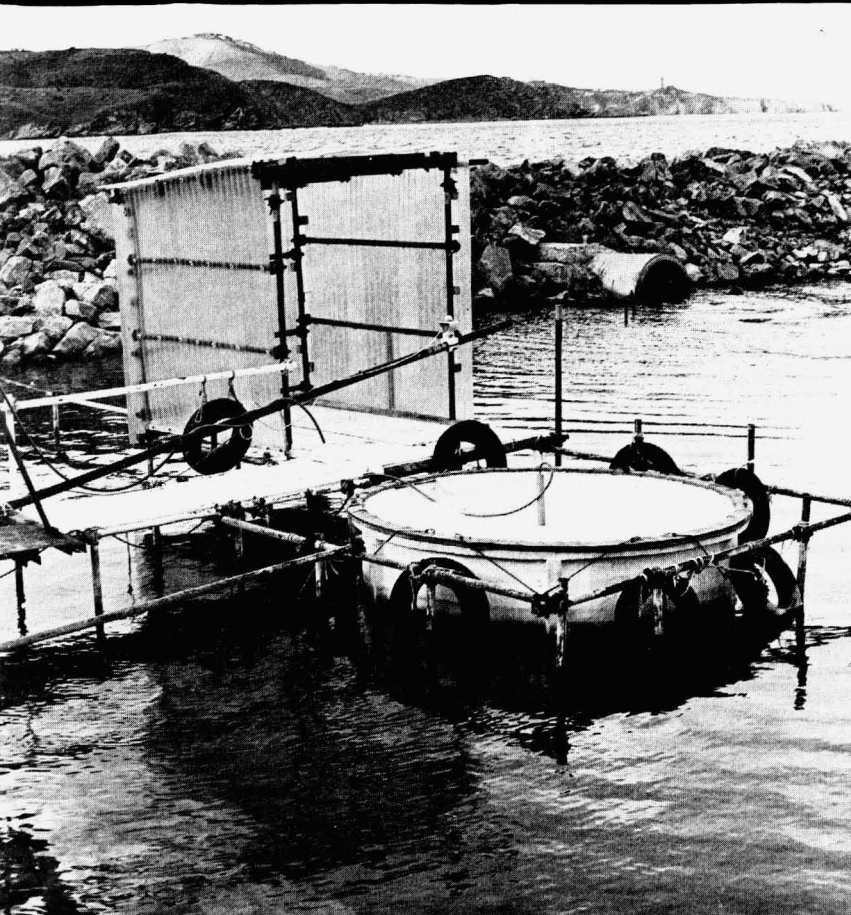


Fig. 1 - Présentation du bac de culture extérieur.

1 - Vue générale du bac et des structures d'accès, dans un bassin en communication avec la baie de Banyuls limitée par le Cap Béar (au fond).

2 - Vue de détail du ponton d'accès, du filet recouvrant le bac et de la thermopile de mesure d'énergie solaire incidente.

3 - Détail du système de bullage d'eau à partir d'un compresseur qui permet une agitation de l'eau et (éventuellement) une arrivée de gaz (O_2 , CO_2 , etc...).

4 - Container souple permettant de pomper en mer 2 000 litres d'eau, de les transporter et de les transvaser (opération en cours) directement dans le grand bac.

(Photos J. LECOMTE, C.N.R.S.).

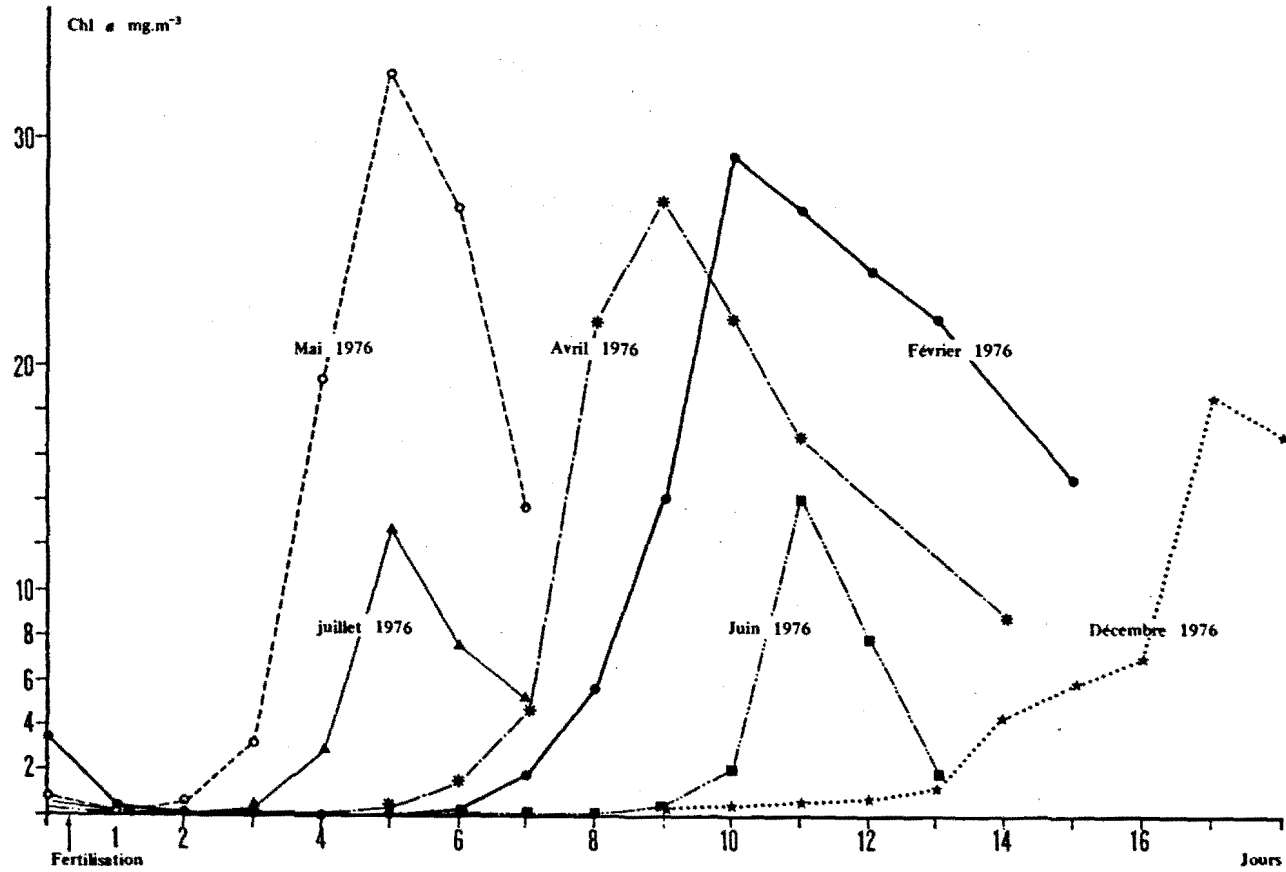


Fig. 2 — Evolution de la biomasse chlorophyllienne dans un bac de grand volume, après fertilisation, simulant une remontée d'eau profonde.

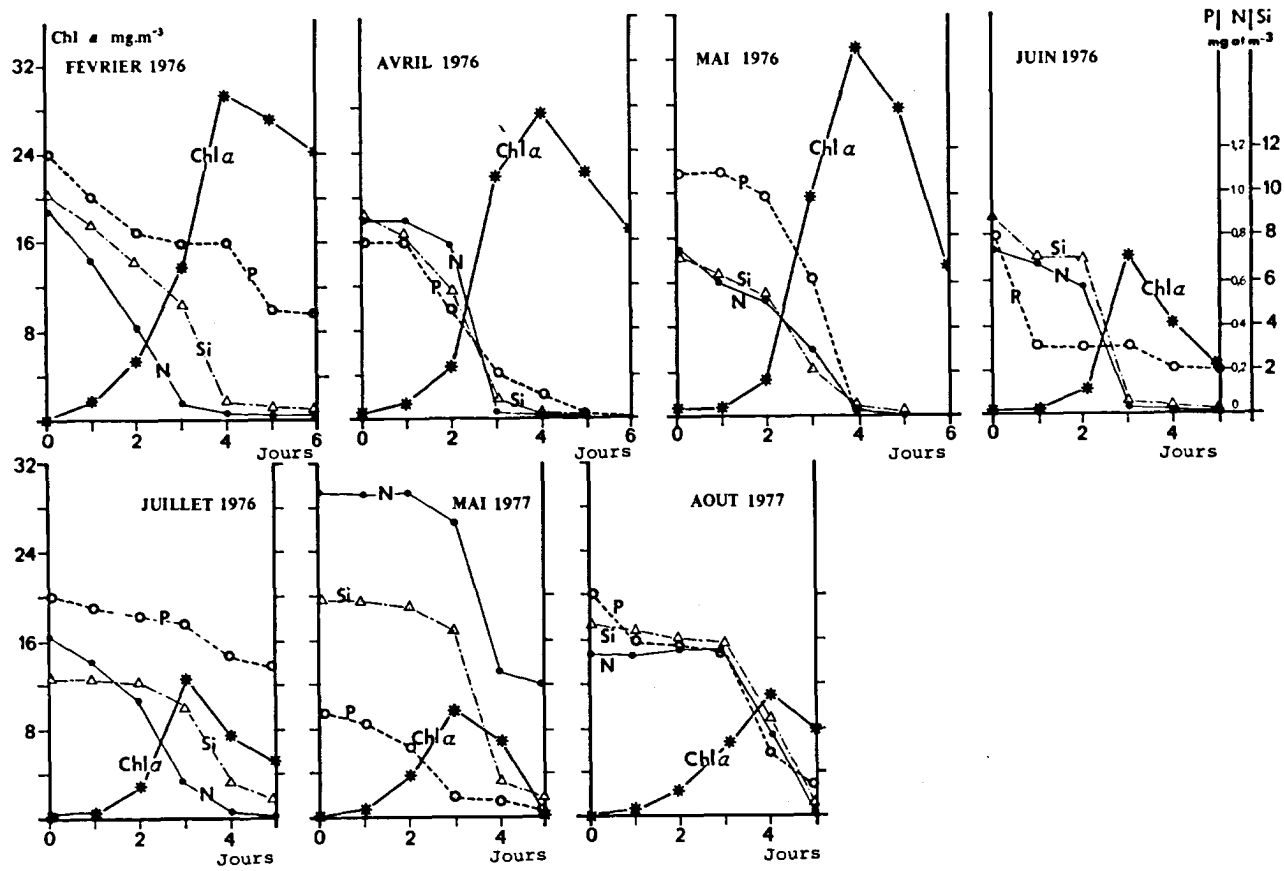


Fig. 3 — Evolution des sels nutritifs lors des floraisons phytoplanctoniques déclenchées en grand volume.

Schéma de montage d'une voie de chémostat

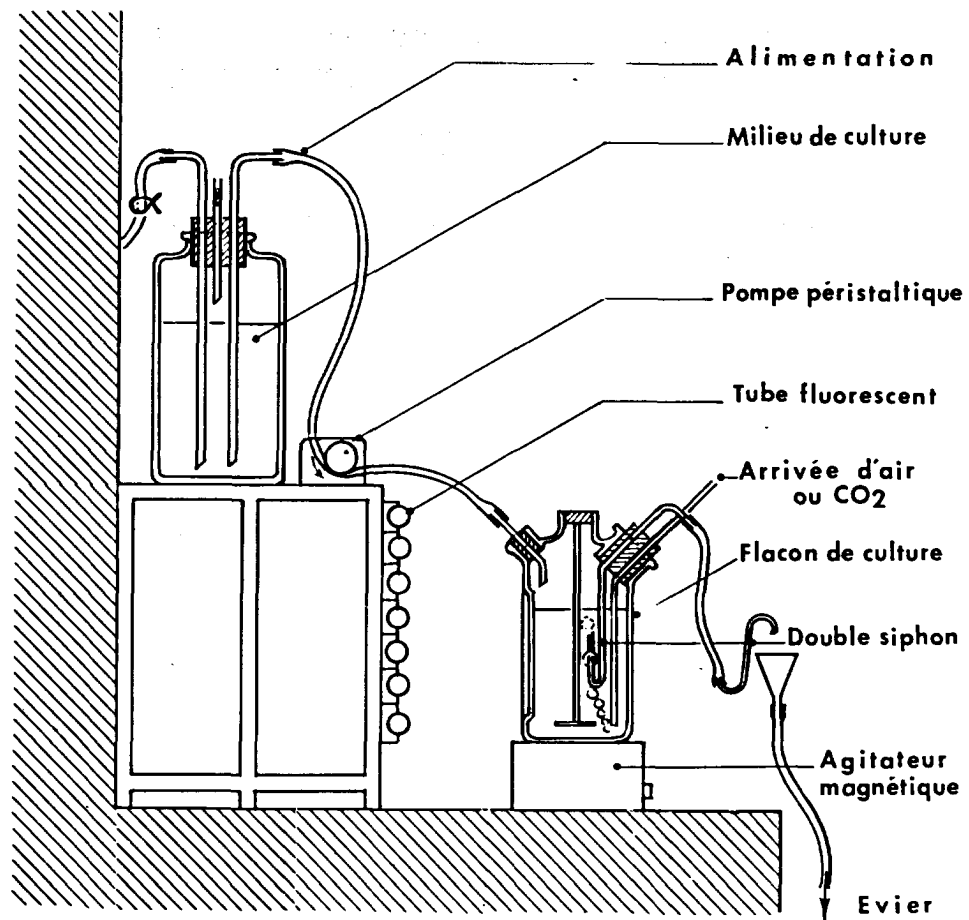


Fig. 4 - Montage du chémostat

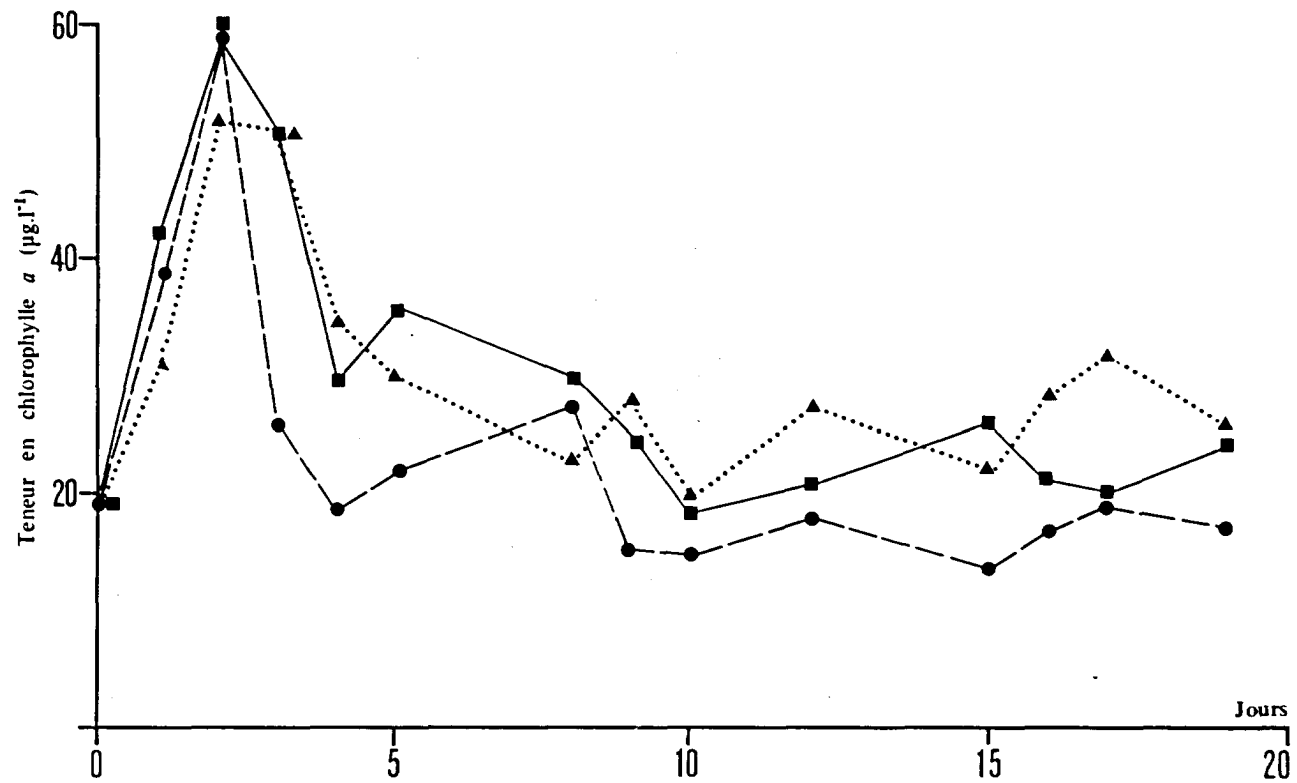


Fig. 5 — Influence de l'agitation sur la biomasse chlorophyllienne lors de cultures en chémostat, à des taux de dilutions identiques (cercles noirs : 100 $\text{t}\cdot\text{mn}^{-1}$; carrés : 60 $\text{t}\cdot\text{mn}^{-1}$; triangles : 20 $\text{t}\cdot\text{mn}^{-1}$).

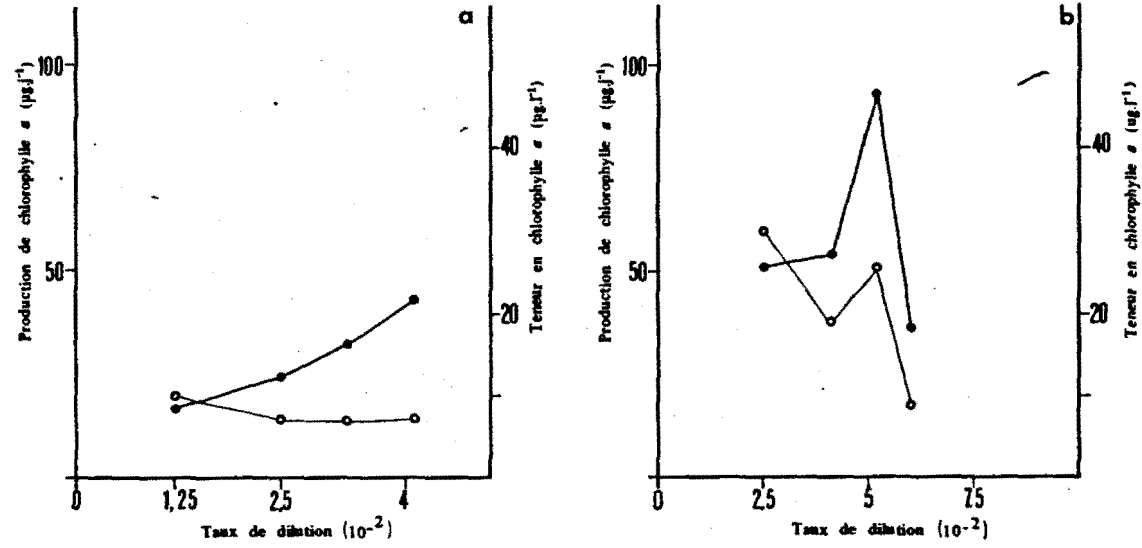


Fig. 6 — Influence du taux de dilution sur la biomasse chlorophyllienne (cercles blancs) et sur la synthèse de chlorophylle *a* en 24 heures (cercles noirs), lors de deux expériences de cultures phytoplanctoniques en chémostat.

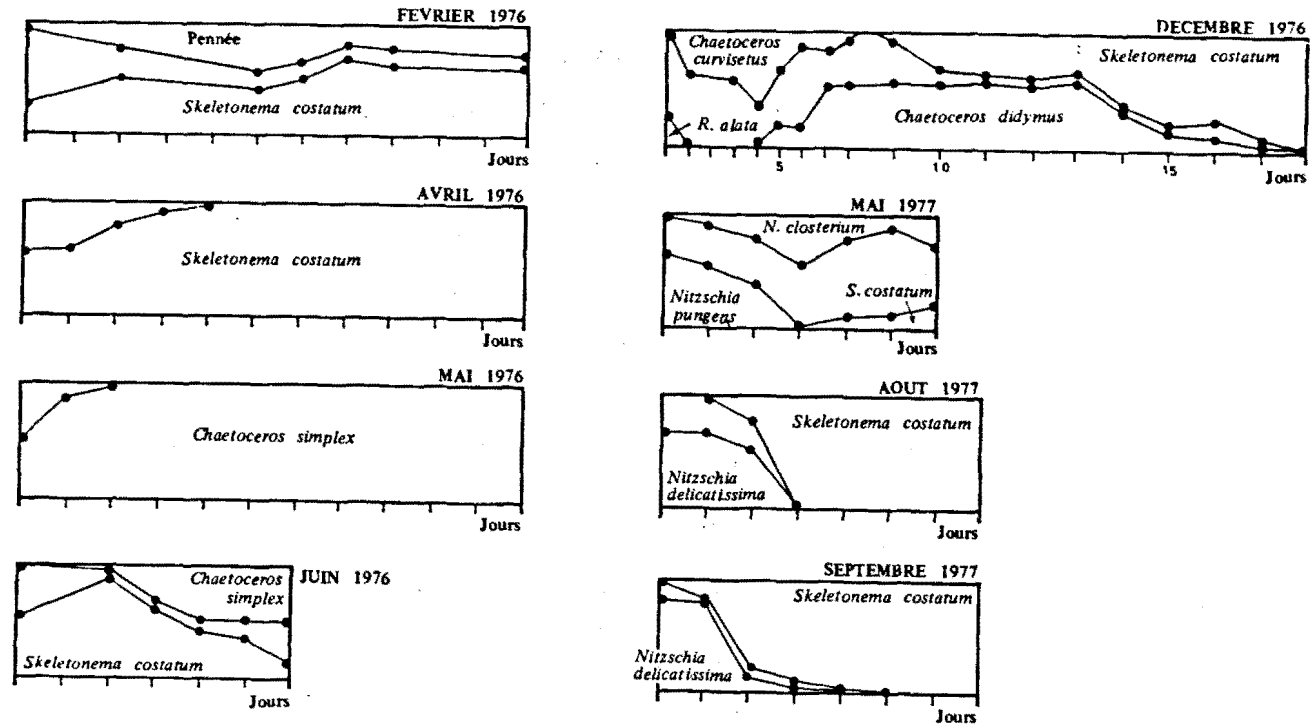


Fig. 7 — Evolution des principales espèces de phytoplancton lors d'expériences de fertilisation en grand volume.

BIBLIOGRAPHIE

- BERLAND B.R., BONIN D.J., MAESTRINI S.Y., POINTIER J.P. -1972- Etude de la fertilité des eaux marines au moyen de tests biologiques effectués avec des cultures d'algues. I. Comparaison des méthodes d'estimation. Int. Revue ges. Hydrobiol., 57, p. 933-944.
- BERLAND B.R., BONIN D.J., MAESTRINI S.Y. -1975- Isolement *in situ* d'eau de mer naturelle dans des enceintes de grand volume. Application à l'étude d'une eutrophisation. Rap. scient. techn. CNEXO, 21, 18 p.
- BROCKMANN U.H., EBERLEIN K., HOSUMBEEK P., TRAGESER H., MAIER-REIMER E., SCHÖNE H.K., JUNGE H.D. -1977- The development of a natural plankton population in an outdoor tank with nutrient poor sea water. I. Phytoplankton succession. Mar. Biol., 43, p. 1-17.
- CAHET G., FIALA M., JACQUES G., PANOUSE M. -1972- Production primaire au niveau de la thermocline en zone néritique de Méditerranée nord-occidentale. Mar. Biol., 14, p. 32-40.
- COSTE B., SLAWYK G. -1974- Structures de répartitions superficielles des sels nutritifs dans une zone d'upwelling (Cap Corveiro, Sahara espagnol). Tethys, 6, p. 123-132.
- CURL H.J., McLEOD G.C. -1961- The physiological ecology of a marine diatom *Skeletonema costatum* (Grév.) Cleve. J. mar. Res., 19, p. 70-88.
- DUNSTAN W.M., TENORE K.R. -1974- Control of species composition in enriched mass cultures of natural phytoplankton populations. J. appl. Ecol., 11, p. 529-536.
- EDMONDSON W.T. -1955- Factors affecting productivity of salt water. Deep-sea Res., 3 (suppl.), p. 451-464.
- ELBRACHTER M. -1976- Population dynamic studies on phytoplankton cultures. Mar. Biol., 35, p. 201-209.
- EPPLEY R.W., CARLUCCI A.F., HOLM-HANSEN O., KIEFER D., McCARTHY J.J., VENRICK E., WILLIAMS P.M. -1971- Phytoplankton growth and composition in shipboard cultures supplied with nitrate, ammonium, or urea as the nitrogen source. Limnol. Oceanogr., 16, p. 741-751.
- FIALA M., CAHET G., JACQUES G., NEVEUX J., PANOUSE M. -1976- Fertilisation de communautés phytoplanktoniques. I. Cas d'un milieu oligotrophe. Méditerranée nord-occidentale. J. exp. mar. Biol. Ecol., 24, p. 151-163.

- GLOOSCHENKO W.A., CURL H.C. -1971- Influence of nutrient enrichment on photosynthesis and assimilation ratios in natural north Pacific phytoplankton communities. J. fish. res. Bd Canada, 28, p.790-793.
- GOLDMAN C.R. -1962- A method for studying nutrient limiting factors *in situ* in water columns isolated by polyethylene film. Limnol. Oceanogr., 7, p. 99-101.
- GOLDMAN C.R., RYTHER J.H. -1976- Temperature influenced species competition in mass cultures of marine phytoplankton. Biotech. Bioengin., 18, p. 1125-1144.
- GRALL J.R., JACQUES G. -1964- Etude dynamique et variations saisonnières du plancton de la région de Roscoff. I. Phytoplankton. Cah. Biol. mar., 5, p. 432-455.
- JACQUES G., CAHET G., FIALA M., PANOUSE M. -1973- Enrichissement de communautés phytoplanctoniques néritiques de Méditerranée nord occidentale. J. exp. mar. Biol. Ecol., 11, p.287-295.
- JACQUES G., MINAS H.J., MINAS M., NIVAL P. -1973- Influence des conditions hivernales sur les productions phyto- et zooplanktoniques en Méditerranée nord-occidentale. II. Biomasse et production phytoplanctonique. Mar. Biol., 23, p.251-265.
- JACQUES G., FIALA M., NEVEUX J., PANOUSE M. -1976- Fertilisation de communautés phytoplanctoniques. II. Cas d'un milieu eutrophe, upwelling des côtes du Sahara espagnol. J. exp. mar. Biol. Ecol., 24, p. 165-175.
- JANNASCH H.W. -1974- Steady state and the chemostat in ecology. Limnol. Oceanogr., 19, p. 716-720.
- McALLISTER C.D., PARSONS T.R., STEPHENS K., STRICKLAND J.D.H. -1961- Measurements of primary production in coastal area water using a large volume plastic sphere. Limnol. Oceanogr., 6, p. 237-258.
- MONOD J. -1950- La technique de culture continue. Théorie et application. Ann. Inst. Pasteur, p. 390-410.
- PARSONS T.R., STEPHENS K., TAKAHASHI M. -1972- The fertilization of great central lake. I. Effect on primary production. Fish. Bull., 70, p. 13-23.
- PRATT D.M. -1966- Competition between *Skeletonema costatum* and *Olithodiscus luteus* in Narragansett bay and in culture. Limnol. Oceanogr., 11, p. 447-455.

- RAYMONT J.E.G., ADAMS M.N.E. -1958- Studies on the mass culture of *Phaeodactylum*. Limnol. Oceanogr., 3, p.119-136.
- SCHELSKE C.L., STOERMER E.F. -1972- Phosphorus, silica and eutrophication of Lake Michigan, p. 157-171. In G.E. Likens éd., Nutrients and eutrophication. Spec. Symp. 1, Am. Soc. Limnol. Oceanogr.
- SCHELSKE C.L., ROTHMAN E.D., STOERMER E.F., SANTIAGO M.A. -1974- Responses of phosphorus limited Lake Michigan phytoplankton to factorial enrichments with nitrogen and phosphorus. Limnol. Oceanogr., 19, p. 409-419.
- STRICKLAND J.D.H., TERHUNE L.D.B. -1961- The study of *in situ* marine photosynthesis using a large plastic bag. Limnol. Oceanogr., 6, p. 93-96.
- STRICKLAND, J.D.H., HOLM-HANSEN O., EPPLEY R.W., LINN R.J. -1969- The use of a deep tank in plankton ecology. I. Studies of the growth and composition of phytoplankton crops at low nutrient levels. Limnol. Oceanogr., 14, p. 23-34.
- TAKAHASHI M., THOMAS W.H., SEIBERT D.L.R., BEERS J., KOELLER P., PARSONS T.R. -1975- The replication of biological events in enclosed water columns. Arch. Hydrobiol., 76, p. 5-23.
- TRANter D.J., NEWELL B.S. -1963- Enrichment experiments in the Indian Ocean. Deep-sea Res., 10, p. 1-9.