

# VALORISATION DES CLAIRES OSTREICOLES

Dynamique des Populations Microalgales et  
Prolifération d'*Haslea ostrearia* dans  
l'Ecosystème "Claires Ostréicoles".

Projet d'Etude

Phase II

1997

IFREMER/URAPC  
P. GOULLETQUER  
Septembre 1996



# VALORISATION DES CLAIRES OSTREICOLES

## Dynamique des Populations Microalgales et Prolifération d'*Haslea ostrearia* dans l'écosystème "claires ostréicoles".

### Phase II

#### I. ETAT DU PROBLEME

Le Bassin de Marennes-Oléron représente le premier secteur français de commercialisation d'huîtres creuses *C. gigas* avec 50 à 60 000 tonnes par an dont 25 à 40 000 tonnes produites localement. Cette différence entre la production et la commercialisation est constituée par les apports d'autres bassins de production, lesquels sont affinés ensuite dans les claires de Marennes-Oléron. Environ 3 000 ha de marais salés sont actuellement en exploitation afin de réaliser l'affinage de ces huîtres qui permet la commercialisation du produit sous l'appellation "huîtres de Marennes-Oléron".

Cette marque collective, propriété de la structure professionnelle qu'est la Section Régionale de la Conchyliculture de Marennes-Oléron, repose sur la définition de la Norme française AFNOR NF V45-056 en date du mois de septembre 1985 qui définit la dénomination et classification de *l'huître fine de claires* et *l'huître spéciale de claires*.

Par ailleurs, un label officiel "Label Rouge", décerné par le Ministère français de l'Agriculture en 1989, a permis de définir une réglementation concernant les établissements ostréicoles, les conditions de commercialisation et de qualité d'un produit haut de gamme incluant la verdeur de la chair.

L'affinage et le verdissement de l'huître *C. gigas* en claires ostréicoles permettent donc une amélioration de la qualité du produit et une plus-value commerciale.

Dans le cadre du problème de l'aménagement du territoire, l'objectif de valoriser au mieux les surfaces de marais disponibles dont les 3 000 ha de claires exploitées est formulé. Si on estime actuellement que les 3 000 ha réellement en conditions d'exploitation permettent d'affiner la production annuelle de 25 à 40 000 tonnes du Bassin de Marennes-Oléron, les besoins supplémentaires en marais ostréicoles restent importants (3 à 4 000 ha). Ces surfaces supplémentaires doivent permettre d'affiner la totalité des produits commercialisés aux densités réglementaires de 10 à 20 huîtres au m<sup>2</sup> définies par la Norme

AFNOR (1985). Par ailleurs, des besoins supplémentaires peuvent apparaître si la technique d'élevage de "pousse en claires" et des importations supplémentaires venant de Bretagne ou Normandie sont effectuées. Toutefois, une amélioration de l'outil de travail, du rendement de production et du contrôle de la qualité des produits reste souhaitable dans de nombreux cas afin de passer à une échelle compatible avec les contraintes économiques et réglementaires actuelles.

Différents programmes de recherche ont été initiés depuis 1994 afin d'améliorer l'huître de claires dans le cadre d'élevages traditionnels. Ces programmes répondent directement à la demande des professionnels afin d'optimiser les conditions d'élevage de l'huître creuse *C. gigas* en période d'affinage, qui à l'heure actuelle, ne permettent pas le contrôle de la qualité finale du produit. L'objectif principal des professionnels étant, au terme de cette période d'affinage, de satisfaire voire d'améliorer les critères de leurs cheptels définis selon la norme AFNOR de commercialisation d'huîtres de claires "fines" et "spéciales", et/ou du Label Rouge tout en pouvant contrôler l'homogénéité de la qualité.

Par conséquent toute amélioration des conditions zootechniques au niveau des zones d'élevage comme d'affinage doit permettre une amélioration générale de la situation économique de la conchyliculture sur le département.

Pour ces raisons, les études en cours réalisées par l'IFREMER-URAPC en collaboration avec l'équipe du professeur J.M. Robert de l'Université de Nantes visent à fiabiliser et optimiser le processus du verdissement, par des techniques directement applicables au niveau des entreprises conchylicoles.

D'un point de vue de la recherche, les travaux développés sur l'huître de claires dans le cadre du projet global "Valorisation des Claires ostréicoles" permettent d'aborder différents domaines dont :

1°) la compréhension et donc le contrôle du fonctionnement de l'écosystème "claire ostréicole" (e.g., facteurs limitant la production primaire et/ou d'une souche spécifique comme *Haslea ostrearia*, responsable du verdissement des huîtres),

2°) la production en masse de phytoplancton, en tant qu'algue fourrage en vue d'améliorer l'engraissement des huîtres (e.g., *Skeletonema costatum*), ou bien en tant qu'algue à usage particulier (e.g., verdissement par *Haslea ostrearia*).

L'objectif principal de la thèse commencée en 1996 concerne ces deux axes de recherches et va consister en 1997 à analyser la dynamique des populations microalgales jusqu'au verdissement des bassins, en conditions naturelles et provoquées ; et d'expliquer les événements physico-chimiques et biologiques déterminant la prolifération d'*Haslea ostrearia* (Simonsen) afin de favoriser le verdissement des huîtres *C. gigas* en claires ostréicoles.

## II. PRINCIPAUX RESULTATS DEJA OBTENUS (cf. rapport)

Les premières expérimentations réalisées en 1994-1995 ont permis de mettre en évidence que le silicium est le facteur limitant la production de la navicule dans l'eau des claires ostréicoles. En 1995-1996, les expérimentations ont démontré que la présence d'huîtres creuses *C. gigas* dans une claire ostréicole affecte les paramètres environnementaux dont le pH, les concentrations en sels nutritifs (ammoniaque) ainsi que les teneurs en pigments totaux et caroténoïdes. Cependant les bioessais en laboratoire mettent en évidence l'absence d'effet significatif de la présence des huîtres sur le fertilité potentielle de l'écosystème "claire" vis à vis de la navicule bleue *Haslea ostrearia*. Cette expérimentation a été réalisée en laboratoire à partir de prélèvements d'eau de claires ostréicoles en exploitation effectués à intervalles de temps réguliers.

Les principaux objectifs pour l'année 1996-1997 sont de 3 ordres :

- a) étudier *in situ* les successions des peuplements phytobenthiques et phytoplanctoniques lors de l'apparition de la diatomée *Haslea ostrearia*,
- b) valider les résultats 1995-1996 directement au niveau des claires ostréicoles en présence d'huîtres au moyen de mésocosmes.
- c) de tester dans des conditions normales d'exploitation, l'effet de fertilisants spécifiques dont l'objectif est d'accroître significativement la présence d'*Haslea ostrearia in situ* au niveau de mésocosmes. Cette dernière approche sera basée sur les résultats des deux expérimentations précédentes.

## III. DEMARCHE SCIENTIFIQUE RETENUE

L'ensemble du programme de recherches ainsi que les différents moyens scientifiques mis à disposition pour la réalisation de ce travail ont été présentés dans le dossier de demande de subvention 1996 validé par la commission scientifique IFREMER en charge de l'évaluation de ces dossiers.

Les expérimentations sur le terrain seront réalisées au niveau des 2 marais expérimentaux IFREMER sur la Charente-Maritime : le marais expérimental du CREMA L'Houmeau et sur le marais de l'IFREMER situé sur la commune de Ronce les Bains. Ces expériences seront simultanées aux travaux développés par l'URAPC sur l'affinage des huîtres en claires ostréicoles.

Les travaux en laboratoire seront effectués à l'Université de Nantes ainsi qu'à l'IFREMER de La Tremblade.

#### **IV. RESULTATS ATTENDUS**

L'ensemble de ces informations doit permettre une meilleure analyse des conditions d'apparition et de maintien de la navicule *Haslea ostrearia* dans les claires ostréicoles. Le test de l'effet de fertilisants sur le développement d'*Haslea ostrearia* en mécoscosmes constituera l'étape préliminaire aux essais en dimensions réelles programmés pour 1998.

Cette connaissance doit permettre à moyen terme le contrôle des processus mis en jeu et le transfert de la zootechnie auprès des professionnels.

L'approche retenue concerne la majorité des professionnels affineurs-expéditeurs dans la mesure où ce transfert de connaissances est destiné à s'intégrer dans la gestion individuelle des entreprises.

En complément des processus d'engraissement des huîtres à partir d'algues fourrages de type *Skeletonema costatum* dans la première phase d'affinage, étudiés par l'URAPC et le CREMA, le contrôle du verdissement devrait permettre l'optimisation de la " finition " du produit. Par ailleurs, l'utilisation de ces deux procédés permettra un contrôle dans la régularité de la qualité des produits.

#### **V. ASPECTS FINANCIERS**

La proposition de financement pour cette étude est similaire à la demande 1996 et consiste en une répartition des charges entre les trois participants suivants : Conseil Général de Charente-Maritime, Conseil Régional de Poitou-Charentes et IFREMER (tableau 1).

L'IFREMER finance les salaires des chercheurs et des techniciens impliqués dans les suivis concernant le contrôle du verdissement des huîtres en période d'affinage. Par


ailleurs, l'IFREMER soutient également la restructuration et la gestion des marais ostréicoles expérimentaux ainsi que l'investissement en matériel scientifique de laboratoire. Le Conseil Régional de Poitou-Charentes cofinance le salaire de l'étudiant en thèse ainsi qu'une partie du matériel scientifique et du fonctionnement associé pendant la durée normale de la thèse (3 ans).

Il est demandé au Conseil Général de Charente-Maritime un financement de 100 KF pour 1997 correspondant au cofinancement du salaire annuel de la thèse (75 KF) de l'étudiant et d'une partie de son fonctionnement (25 KF). Au vue des résultats scientifiques de 1997 et sur remise d'un rapport d'avancement des travaux, une demande similaire sera effectuée pour 1998 afin de couvrir la dernière année de la thèse pour une durée total de 3 ans.

Tableau 1 : Proposition de financement du projet "Dynamique des populations microalgales et prolifération d'*Haslea ostrearia* dans l'écosystème "claires ostréicoles"" 2ème phase.

PARTICIPANT	SALAIRE	FONCTIONNEMENT	EQUIPEMENT
Conseil Général de Charente-Maritime	75 KF	25 KF	(-)
Conseil Régional Poitou-Charentes	75 KF	25 KF	50 KF
IFREMER	250 KF	100 KF	(-)
TOTAL (T.T.C.)	400 KF	150 KF	50 KF

Fait à la Tremblade, le 23 septembre 1996

  
P. GOULLETQUER  
Responsable de l'Unité de Recherche  
Aquacole en Poitou-Charentes



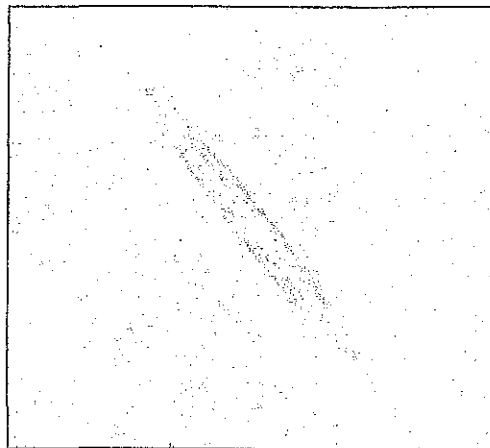
## Valorisation des claires ostréicoles

---

Vincent Turpin

---

ANNÉE 1995-1996



Université de Nantes- Laboratoire de biologie Marine - ISOMer

## Résumé

Les claires ostréicoles représentent près de 3000 ha de marais exploités pour la conchyliculture dans la seule région Poitou-Charentes. Depuis près d'un siècle, la valorisation d'anciennes salines se traduit par l'engraissement et le verdissement des huîtres par l'intermédiaire d'une chaîne alimentaire courte Algues-Bivalves, donnant ainsi à ces bassins toute leur spécificité. L'algue en question, la diatomée *Haslea ostrearia* est capable de se multiplier au point de conduire au verdissement de ces bassins par synthèse d'un pigment de couleur bleu-vert, la marennine, provoquant de surcroît le verdissement des huîtres qui y sont immergées. Ce phénomène naturel, même s'il est favorisé par les pratiques empiriques des ostréiculteurs, reste aléatoire et non contrôlable.

Depuis deux ans, des claires ostréicoles de la station IFREMER de La Tremblade sont étudiées au niveau de la qualité de leurs eaux (analyse des sels nutritifs, et fertilité potentielle vis à vis d'*Haslea ostrearia*).

La première étude menée en 1994-95 avait montré, par l'emploi de tests biologiques couplés à la technique des enrichissements différentiels, que le premier facteur nutritionnel limitant la production de l'algue *in vitro* dans les conditions contrôlées du Laboratoire, était le Silicium.

En 1995-96, une étude similaire a été reconduite en étudiant cette fois de façon plus précise certains paramètres (Sels nutritifs, pH, teneurs en oxygène, indicateurs de biomasse...). De plus afin de mettre en évidence l'impact éventuel des huîtres sur la qualité nutritionnelle de l'eau vis à vis des producteurs primaires, les eaux provenant de deux claires ostréicoles ont été étudiées (Celles d'une claire sans mollusque, celles d'une claire contenant 20 huîtres au m<sup>2</sup> correspondant à la densité maximale autorisée par la norme AFNOR pour l'obtention de l'appellation "huîtres fines de claire"). Ainsi, nous avons pu confirmer certains résultats et répondre à de nouvelles interrogations.

L'azote semble être l'élément nutritif le plus abondant dans les eaux d'alimentation des claires, le silicium ainsi que les phosphates, se retrouvant à chaque fois en déficit par rapport aux formes azotées dissoutes. La qualité de l'eau, pour le développement des micro-algues, semble donc dépendre des teneurs en silicium et en phosphates.

La présence des huîtres à la densité de 20 individus au m<sup>2</sup>, induit des modifications directes et indirectes de certains paramètres du milieu. Cependant les bioessais permettent de dégager des conclusions légèrement différentes, dans le sens où les différences observées pour certains paramètres, surtout les sels nutritifs et notamment l'ammoniaque, n'affectent pas la qualité nutritionnelle de l'eau. Les tests biologiques permettent donc de montrer que la présence des huîtres n'altère ni n'augmente la fertilité potentielle des eaux d'une claire peuplée en mollusques par rapport à celles d'une claire témoin, vis à vis de la diatomée *Haslea ostrearia*.



En outre, les tests de fertilité ont montré que le silicium peut être considéré comme étant le premier facteur limitant la production de la diatomée *Haslea ostrearia*, laissant supposer le rôle majeur de cet élément dans l'économie du verdissement des claires et soulignant de surcroît les besoins importants de l'algue en cet élément.

Les prochains travaux se réaliseront in situ, c'est à dire en mésocosmes ou bien directement dans les claires, avec des conditions expérimentales (éclairage, température, gestion de l'eau, etc...) plus proches de la réalité que celles du laboratoire. Tout d'abord, il est envisagé de réaliser en grand volume des enrichissements différentiels (N+P+Si), avec des eaux filtrées, puis d'inoculer *Haslea ostrearia*, réalisant ainsi des cultures monospécifiques. Parallèlement la même expérience sera réalisée sans filtration de l'eau, mettant ainsi en présence le peuplement naturel des eaux des claires.

Suite aux enrichissements, un suivi de dynamique de population sera réalisé afin de connaître l'influence des enrichissements sur les populations microalgales. Le but étant d'orienter le bloom vers une prédominance d'*Haslea ostrearia*. On pourra aussi en mésocosme introduire des huîtres, et voir l'influence des mollusques sur le peuplement mais aussi sur le développement des populations de microalgues. En effet il y a probablement un impact sur la microflore, impact que nous n'avons pu déceler par la présente étude, les cultures s'étant réalisées en l'absence des bivalves. Il est possible de réaliser également des suivis de cultures en enceintes dialysantes dans les claires elles mêmes, permettant ainsi d'avoir des conditions climatiques, mais aussi physico-chimiques identiques aux conditions réelles saisonnières.

## SOMMAIRE

<i>1 Introduction</i> .....	2
<i>2 Matériel et méthodes</i> .....	2
2-1 Le site expérimental.....	2
2-2 Stratégie spatio-temporelle d'échantillonnage .....	3
2-3 Suivi des paramètres environnementaux .....	3
2-3-1 Température, pH et oxygène dissous .....	3
2-3-2 Paramètres indicateurs de biomasse (chlorophylle <i>a</i> , phéopigments, caroténoïdes) .....	3
2-3-3 Sels nutritifs .....	4
2-3-4 La matière en suspension (MES) .....	4
2-4 Tests biologiques - Enrichissements différentiels .....	4
<i>3 Résultats</i> .....	5
3-1 Evolution des paramètres T°, Oxygène et pH .....	5
3-2 Evolution des paramètres indicateurs de biomasse (chlorophylle <i>a</i> , phéopigments, caroténoïdes). .....	6
3-3 Evolution de la matière en suspension (MES).....	6
3-4 Evolution des sels nutritifs .....	9
3-4-1 Les nitrites, nitrates et ammoniacque .....	9
3-4-2 Les phosphates .....	10
3-4-3 Les silicates .....	10
3-4-4 Utilisation des sels nutritifs par les micro-algues dans les deux claires .....	10
3-4-5 Conclusions .....	11
3-5 Résultats des bioessais .....	12
Conclusions.....	13
<i>4 Conclusions</i> .....	14
<i>Bibliographie</i> .....	15

# Étude des paramètres limitant la production de la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen en conditions naturelles de gestion hydraulique d'un marais expérimental. Suivi de deux claires ostréicoles - Mise en évidence ou non d'un impact des huîtres sur la fertilité potentielle de l'eau des claires.

## 1 Introduction

Les expériences menées au cours de l'année 94-95 sur le même site expérimental avaient montré une certaine régularité dans les résultats des tests d'enrichissements différentiels. Nous avons mis en évidence que le premier facteur limitant la production d'*Haslea ostrearia* Simonsen pour les eaux des claires du site expérimental IFREMER de la Tremblade était le silicium, soulignant ainsi l'importance de cet élément dans l'économie du verdissement. En 1995-1996, le même type d'étude a été réalisé, en suivant 2 claires expérimentales, une ne contenant pas d'huîtres, l'autre ayant une densité de 20 huîtres au m<sup>2</sup> (correspondant à la densité maximale pour l'acquisition de produits de qualité « fines de claires » selon la norme AFNOR), afin de déterminer l'impact ou non des huîtres sur la fertilité potentielle des eaux de cette claire pour la diatomée *H. ostrearia*.

Un suivi des différents paramètres environnementaux, ainsi que des tests de fertilité, couplés à des enrichissements différentiels, ont été réalisés entre janvier et mai 1996.

## 2 Matériel et méthodes

### 2-1 Le site expérimental.

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

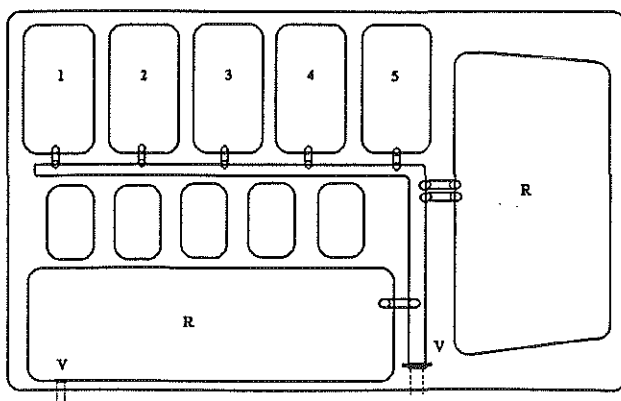


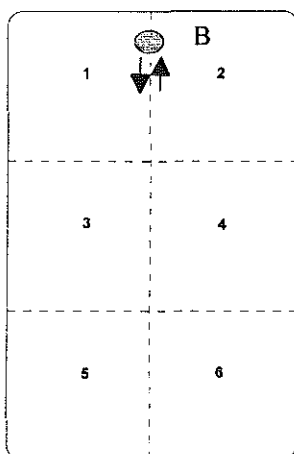
Figure 1 : Site expérimental de La Tremblade. Claires 1 à 5 : seules la claire 1 (20 huîtres au m<sup>2</sup>) et la claire 5 (claire témoin sans huîtres) ont été suivies au cours de l'étude. R : Réservoir ; V : Vraigne (Vanne d'alimentation).

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

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

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

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



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

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

## 2-3 Suivi des paramètres environnementaux

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

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

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

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

### 2-3-3 Sels nutritifs

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

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

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

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

Pour chaque point de prélèvement, 1 flacon de 2 litres d'eau non filtrée a été prélevé et stocké à l'obscurité et au froid. Au laboratoire après homogénéisation, 500 mL sont filtrés sur filtres Whatman GF/F de 4.7 cm de diamètre préalablement carbonisés. Après la filtration et l'élimination du sel présent sur les filtres en utilisant du formiate d'ammonium (35‰), on réalise une pesée (P1). Une nouvelle pesée a lieu après passage des filtres 24 heures à 60 °C à l'étuve (P2), permettant d'obtenir la quantité de matière en suspension (MES ou seston total (P2-P1)). Les filtres sont ensuite passés 4 heures à 400 °C afin d'éliminer la matière organique particulaire, une nouvelle pesée (P3) après refroidissement des filtres, est réalisée. Par différence on obtient la quantité de seston organique (P2-P3) et de seston minéral (P3-P1).

### 2-4 Tests biologiques - Enrichissements différentiels

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

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

Les concentrations utilisées (Tableau 1) sont supérieures à celles des nutriments contenus dans l'eau de mer en général, afin que l'enrichissement se traduise par une croissance

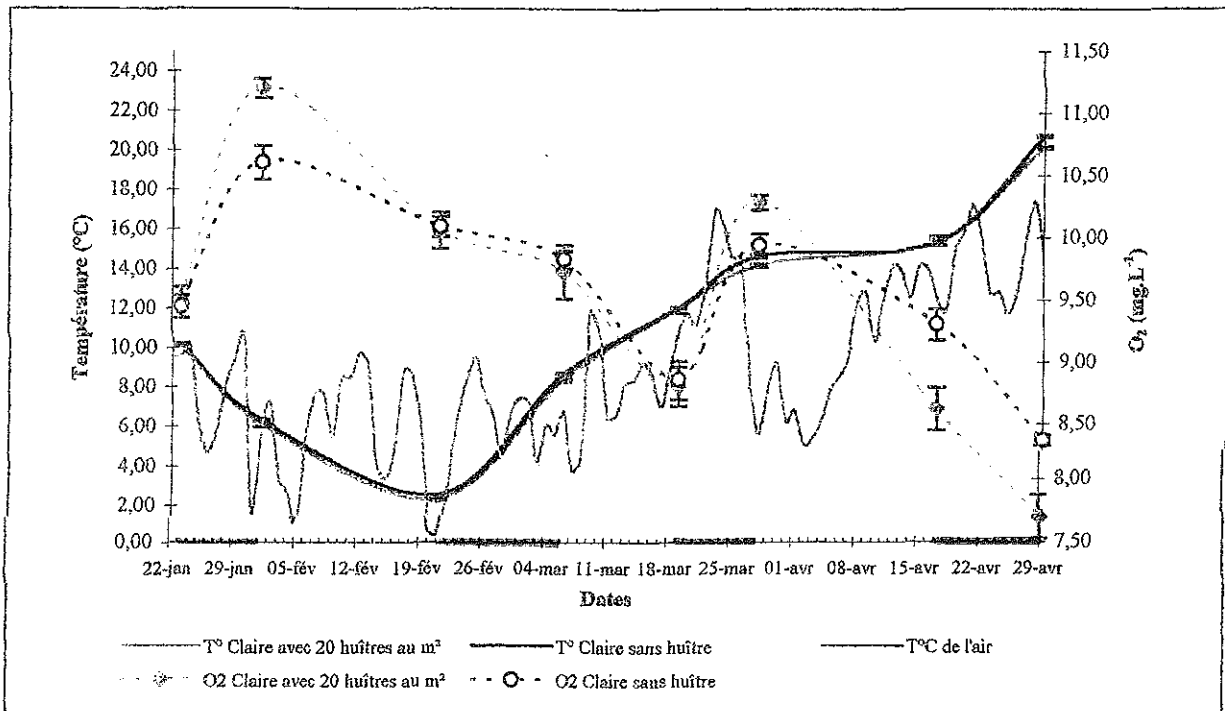


Figure 3 : Evolution au cours du temps de la température et de la teneur en oxygène des eaux superficielles des deux claires étudiées (erreur standart pour la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) (— : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation)).

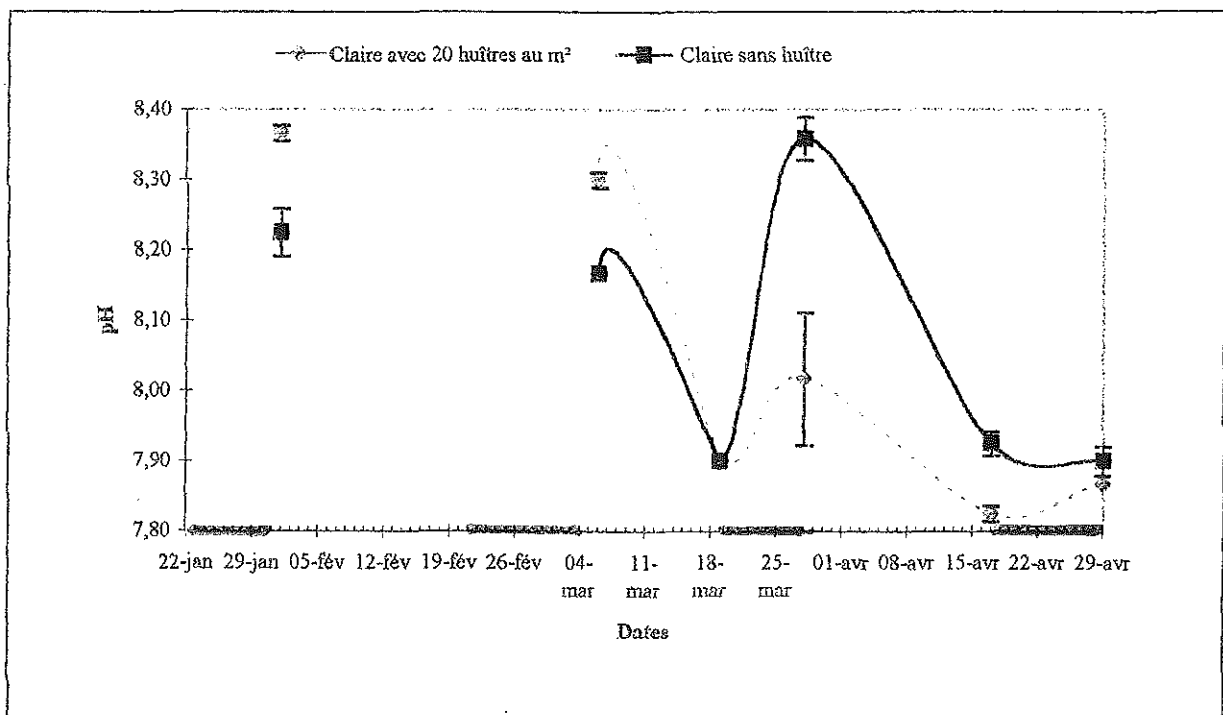


Figure 4 : Evolution au cours du temps du pH des eaux superficielles des deux claires étudiées (erreur standart pour la moyenne des six points de prélèvement dans la claire)(— : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation) ; le 23/1/96 et le 21/2/96, les mesures n'ont pu être réalisées :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

significativement plus forte que celle observée sur l'eau non enrichie et suffisamment faible pour que les voies métaboliques de l'assimilation soient les mêmes qu'*in situ*.

Parallèlement un inoculum d'*H. ostrearia* est préparé 7 jours avant l'ensemencement, afin d'obtenir une biomasse suffisante. Cet inoculum est passé 48 heures sur eau de mer pauvre, afin d'épuiser les cellules algales de leurs réserves potentielles (Berland *et al.* 1973, Maestrini et Robert, 1981). Ensuite cette culture axénique de navicules est introduite dans les 24 erlenmeyers à une concentration de 2000 cellules.mL<sup>-1</sup>. Les cultures ainsi mises en place sont maintenues à température constante de 16°C, sous un éclaircissement de 2000 lux, avec un rythme jour-nuit de 14h-10h.

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

Nature et concentration des éléments et composés après enrichissement		Forme chimique utilisée	Composition des enrichissements
			Témoin
N	100 µM	NaNO <sub>3</sub>	N
			P
			Si
P	6,25 µM	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 3 H <sub>2</sub> O	N+P
			N+Si
Si	100 µM	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> , 5 H <sub>2</sub> O	P+Si
			N+P+Si

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

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

### 3 Résultats

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

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

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

Le pH varie entre 7,8 et 8,4 dans les deux claires, ces valeurs légèrement basiques correspondent à la gamme de valeurs trouvées par Robert (1983) pour les eaux des claires de la baie de Bourgneuf. Bien que certaines données soient absentes, on peut quand même dire que lors des fins

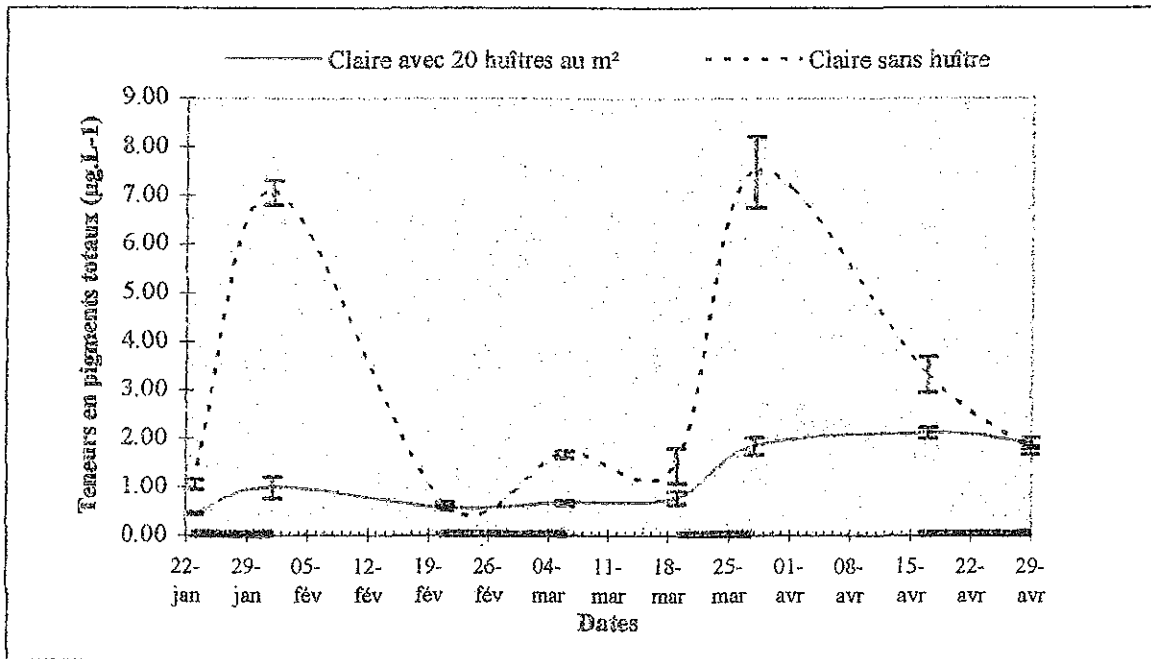


Figure 5 : Evolution au cours du temps des teneurs en pigments totaux des eaux superficielles des deux claires étudiées (erreur standart pour la moyenne des six points de prélèvement dans la claire)(— : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation).

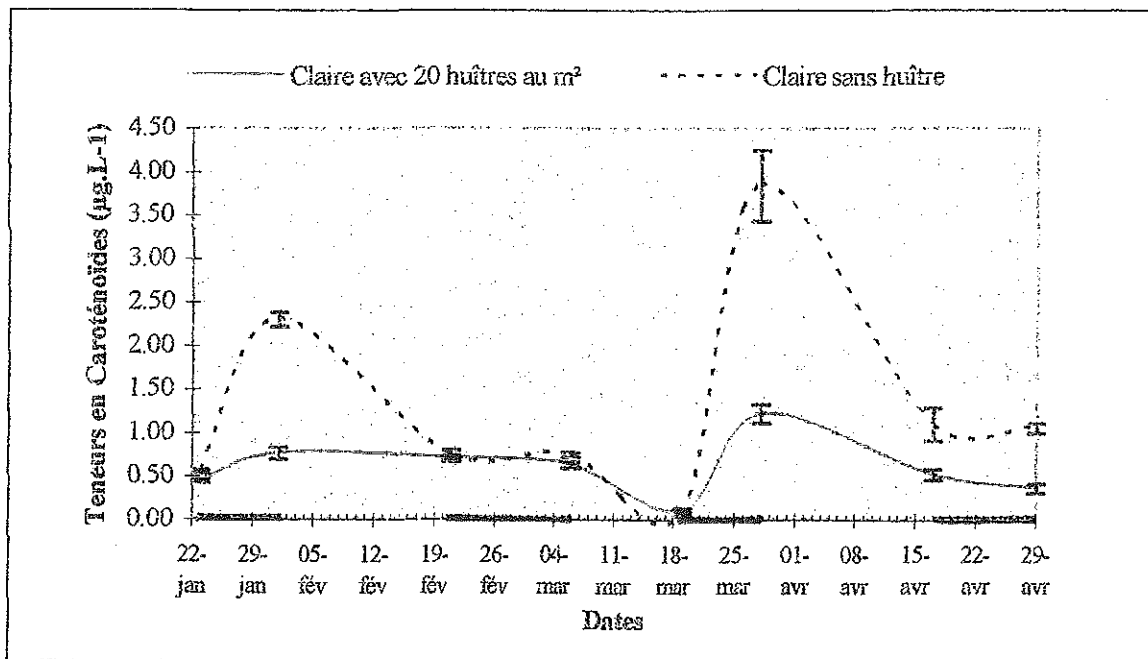


Figure 6 : Evolution au cours des teneurs en pigments caroténoïdes des eaux superficielles des deux claires étudiées (erreur standart pour la moyenne des six points de prélèvement dans la claire)(— : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation).



de séjour de l'eau (01/02/96, 06/03/96, 28/03/96) les différences sont plus marquées entre les deux claires. Ceci peut s'expliquer par des mécanismes chimiques et biologiques propres à chaque claire.

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

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

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

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

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

### ***3-3 Evolution de la matière en suspension (MES)***

Les paramètres décrivant l'évolution de la matière en suspension (Seston total, Seston organique, et Seston minéral, ainsi que le rapport Seston organique sur Seston total) sont présentés sur

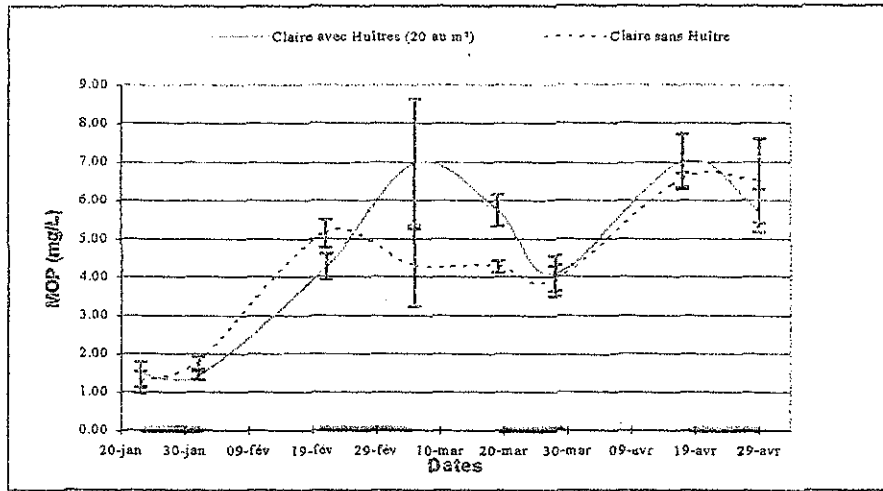


Fig. 7 : Evolution du Seston organique (MOP) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

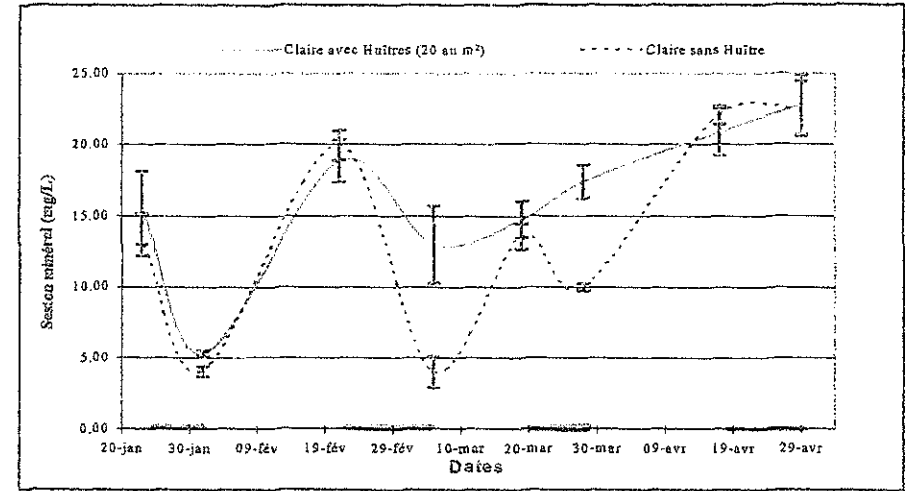


Fig. 8 : Evolution du Seston Minéral (MIP) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

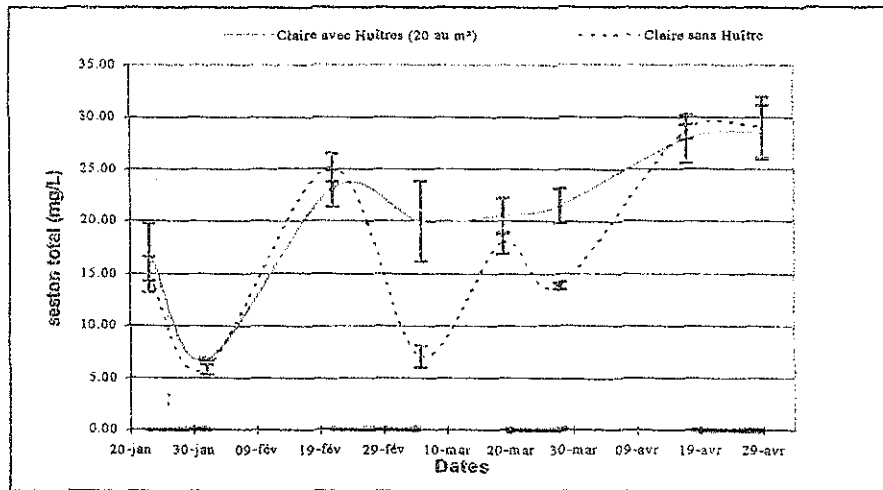


Fig. 9 : Evolution du Seston total (MES) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

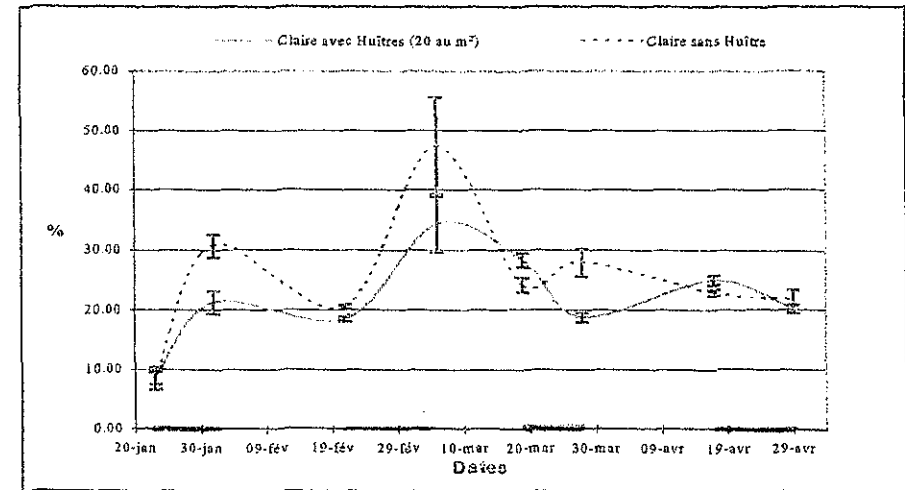
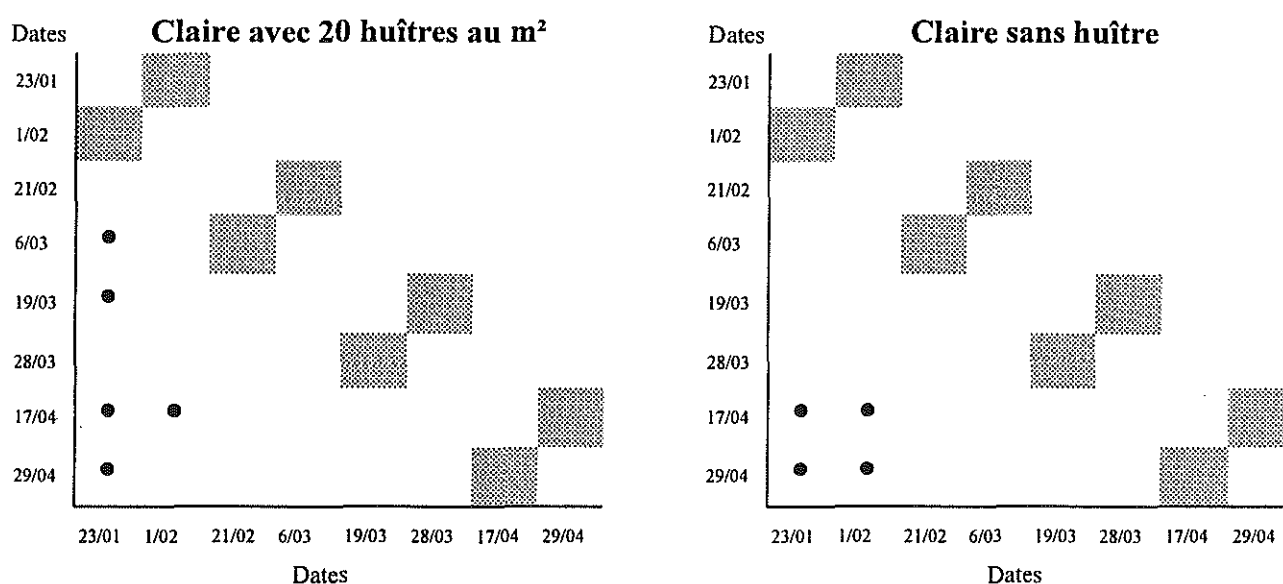


Fig. 10 : Evolution du rapport Seston organique sur Seston total (en %) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

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

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



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

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

De plus on notera que le seston minéral représente une part importante de la matière en suspension (Seston total) entre 90 et 65 % toutes dates confondues. On peut essayer de comparer les deux claires en réalisant une régression linéaire entre seston total et seston organique, et en comparant les deux droites de régression (pente et ordonnées à l'origine) (Fig. 11). L'examen des deux

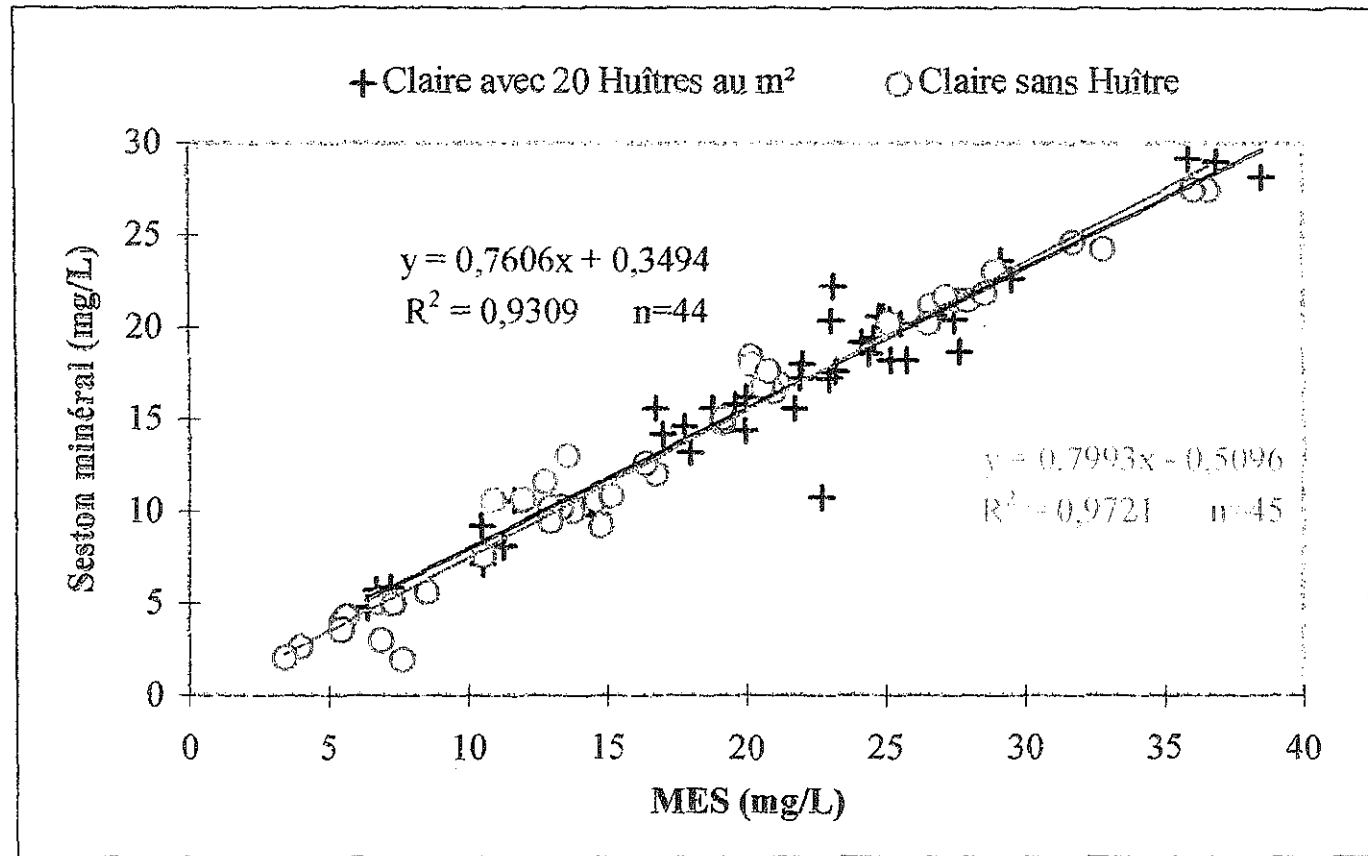


Fig. 11 : Régressions linéaires entre le Seston total (MES) et le Seston minéral (MIP) pour les deux claires toutes périodes d'échantillonnage confondues.

régressions semble montrer qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux claires. L'analyse statistique des régressions est résumée dans le tableau 3.

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

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

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

Dans les deux claires, on remarque que 93 % et 97 % de la variabilité du seston minéral est expliqué par la variabilité seston total, les tests F sont très significatifs soulignant la forte significativité des deux régressions. Si l'on calcule les coefficients de corrélation R, on obtient respectivement pour la claire avec 20 huîtres au  $m^2$  et la claire sans huître les valeurs de 0,964 et 0,986, il y a donc une forte corrélation entre seston minéral et seston total.

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

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

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

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

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

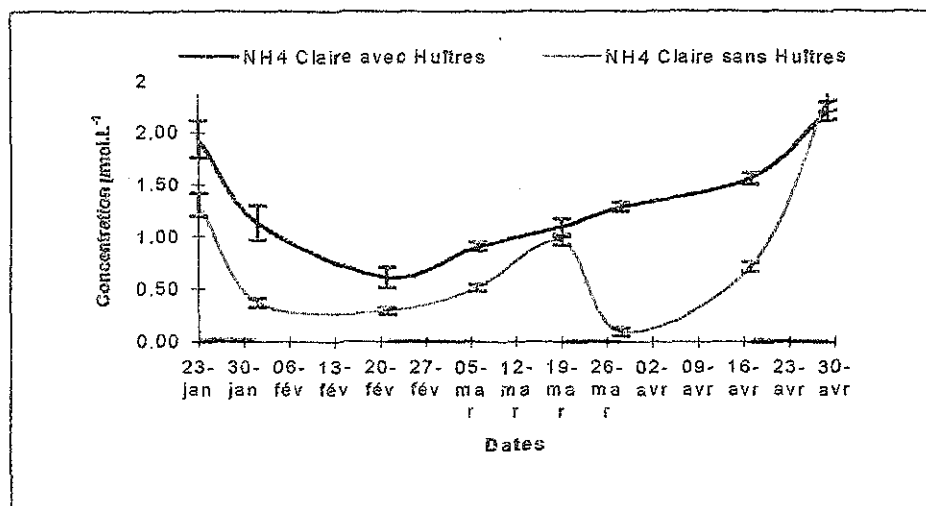


Fig. 12 : Evolution de la concentration en azote ammoniacal ( $\text{NH}_4$ ) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

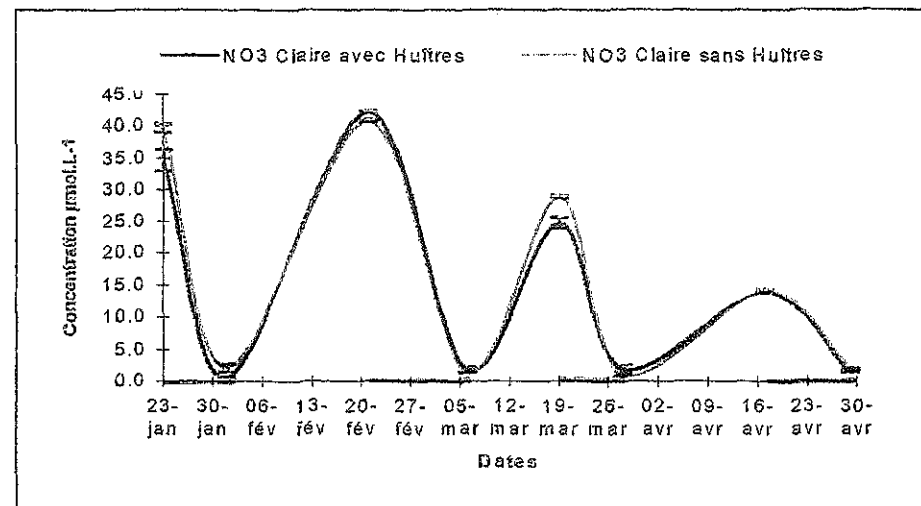


Fig. 14 : Evolution de la concentration en azote nitrique ( $\text{NO}_3$ ) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

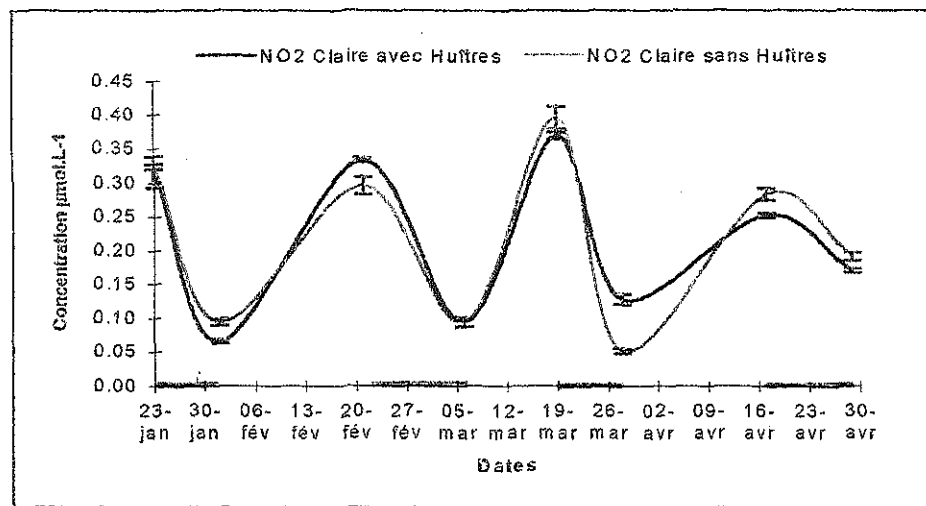


Fig. 13 : Evolution de la concentration en azote nitreux ( $\text{NO}_2$ ) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

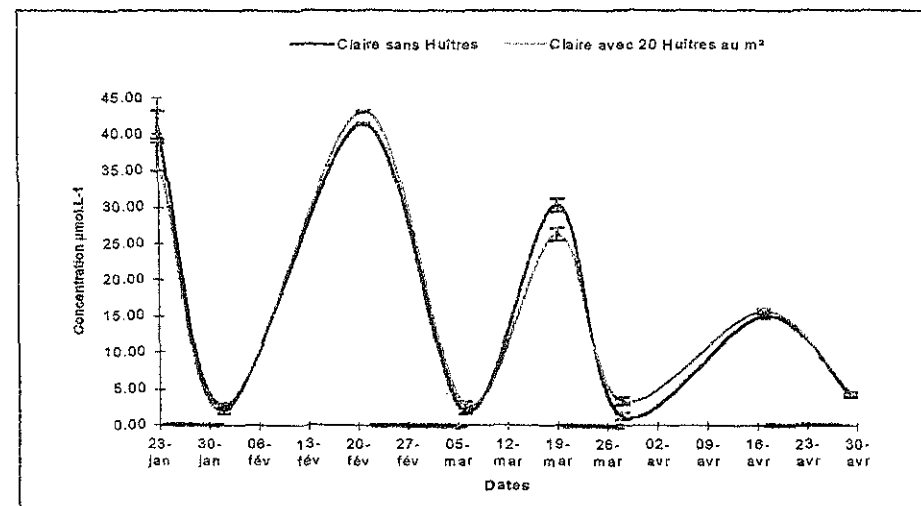


Fig. 15 : Evolution de la concentration en azote total dissous ( $\Sigma\text{N}$ ) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

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

### 3-4 Evolution des sels nutritifs

Tous les sels nutritifs ont été analysés suivant les protocoles décrits dans le paragraphe matériel et méthodes, en évitant une congélation des échantillons.

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

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

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

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

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

dates	23/01	1/02	21/02	6/03	19/03	28/03	17/04	29/04
$\text{NO}_2$	n.s	***	*	n.s	n.s	***	**	*
$\text{NO}_3$	*	*	***	n.s	***	n.s	n.s	***
$\text{NH}_4$	**	***	**	***	n.s	***	***	n.s
$\text{SiO}_3$	n.s	***	***	***	n.s	***	n.s	***
$\text{PO}_4$	**	n.s	n.s	***	n.s	***	***	**

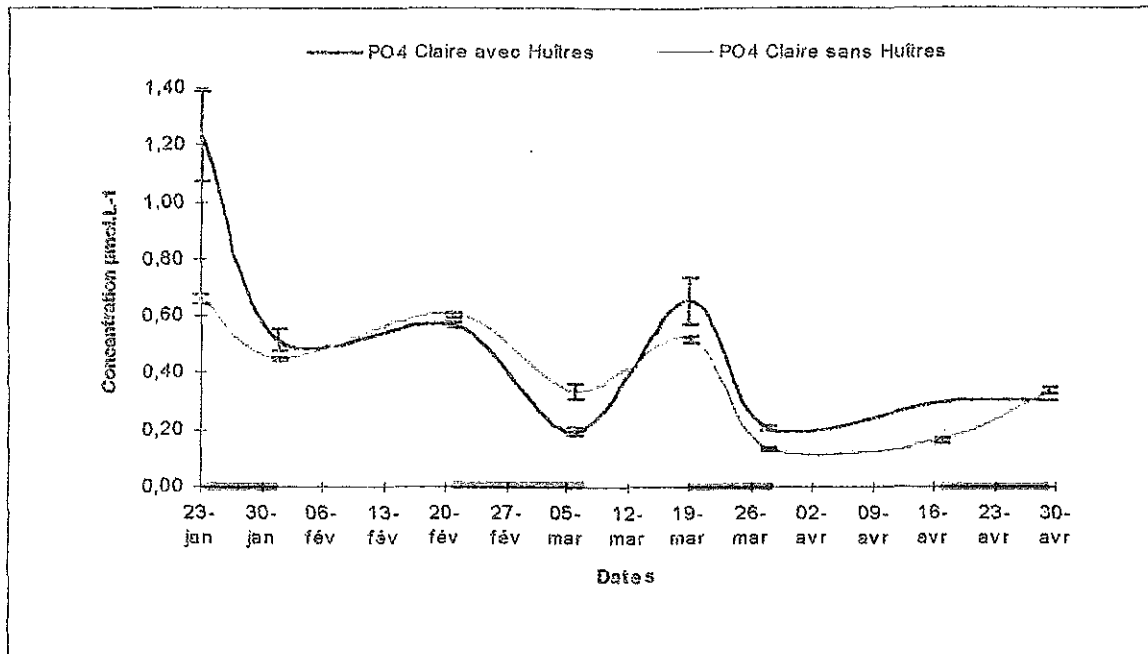


Fig. 16 : Evolution de la concentration en phosphate dissous ( $PO_4$ ) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)

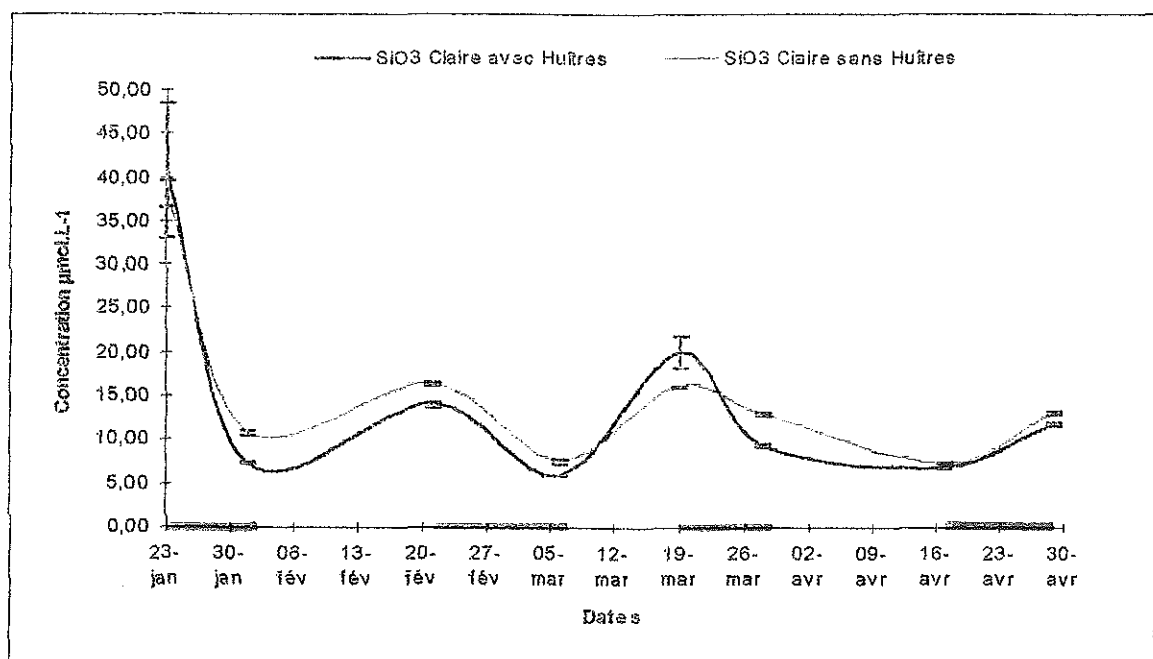


Fig. 17 : Evolution de la concentration en Silicates dissous ( $SiO_3$ ) dans les deux claires. (Barres : erreur standart)



### 3-4-2 Les phosphates

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

### 3-4-3 Les silicates

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

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

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

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

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

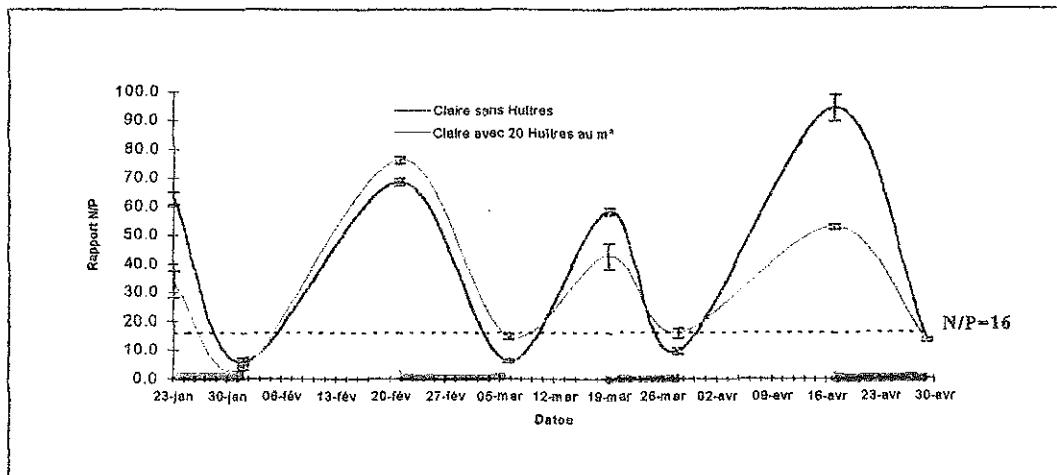


Figure 18 : Evolution au cours du temps du rapport Azote total sur Phosphore (erreur standart pour la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) ( — : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation)).

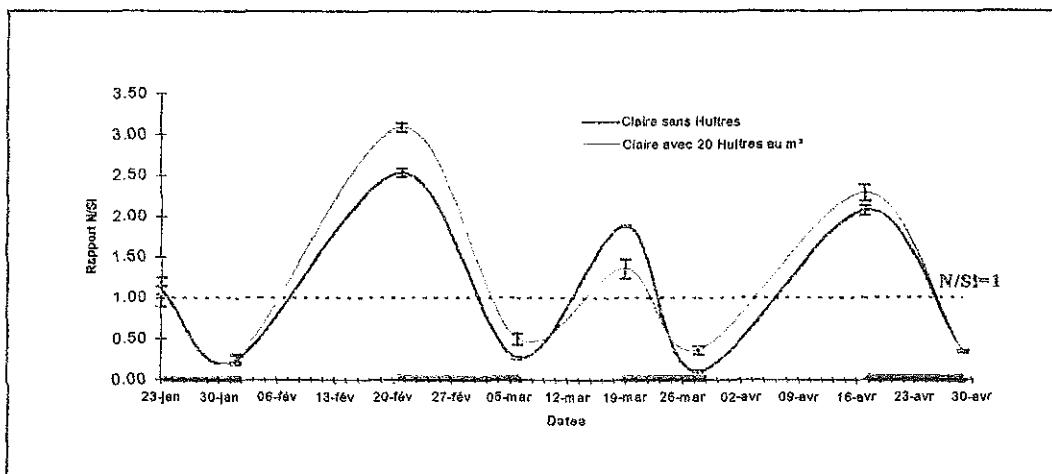


Figure 19 : Evolution au cours du temps du rapport Azote total sur Silicium (erreur standart pour la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) ( — : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation)).

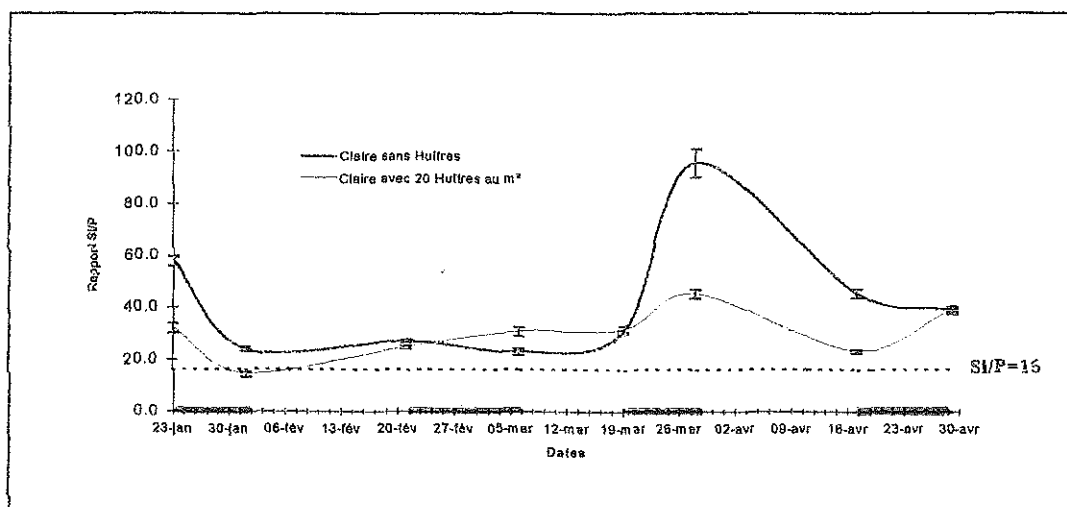


Figure 20 : Evolution au cours du temps du rapport Silicium sur Phosphore (erreur standart pour la moyenne des six points de prélèvement dans la claire) ( — : période de séjour de l'eau dans les claires (Stabulation)).

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

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

L'azote semble donc être l'élément nutritif le plus abondant dans les eaux d'alimentation des claires, le silicium ainsi que les phosphates, se retrouvant à chaque fois en déficit par rapport aux formes azotées dissoutes. La qualité de l'eau, pour le développement des micro-algues, semble donc dépendre des teneurs en silicium et en phosphates, puisque lors des phases d'alimentation des claires en eaux, ces éléments sont en déficit par rapport à l'azote minéral dissous total.

### 3-4-5 Conclusions

Comme il a été montré précédemment, la présence des huîtres à la densité de 20 au m<sup>2</sup>, semble avoir une influence directe sur certains paramètres (sur les teneurs en pigments totaux et caroténoïdes par consommation des micro-algues se développant dans la claire, et sur les concentrations en ammoniacque (excrétion)), ainsi que de façon indirecte (sur le pH à certaines dates, sur les concentrations en silicates, phosphates, nitrates, et nitrites), puisque l'on observe des différences significatives. Il est donc intéressant de vérifier si ces différences observées sont capables de modifier la fertilité potentielle des eaux pour la diatomée-test *Haslea ostrearia*.

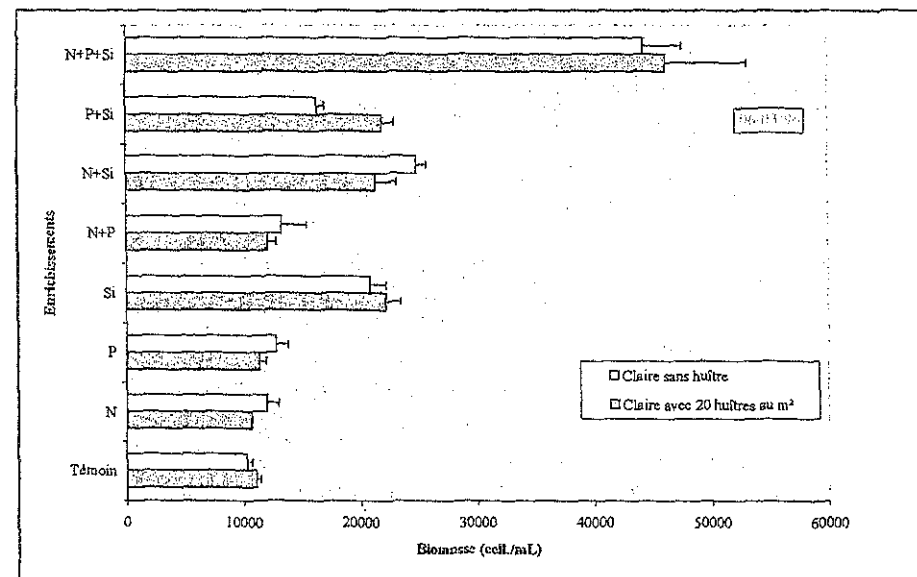
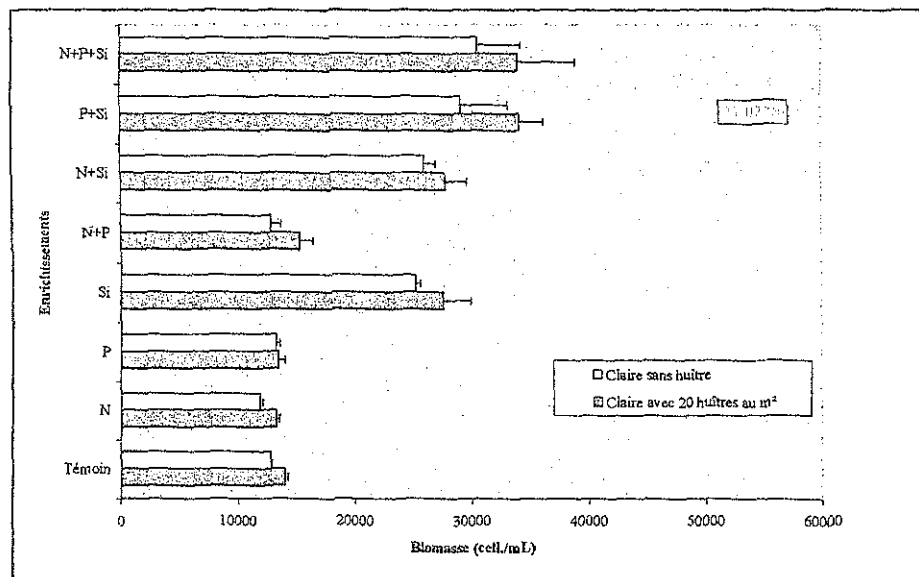
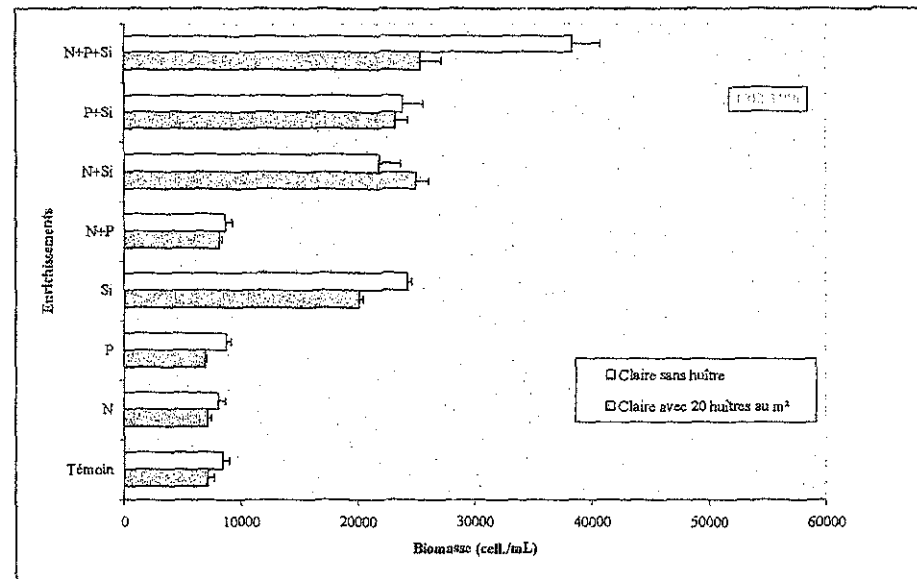
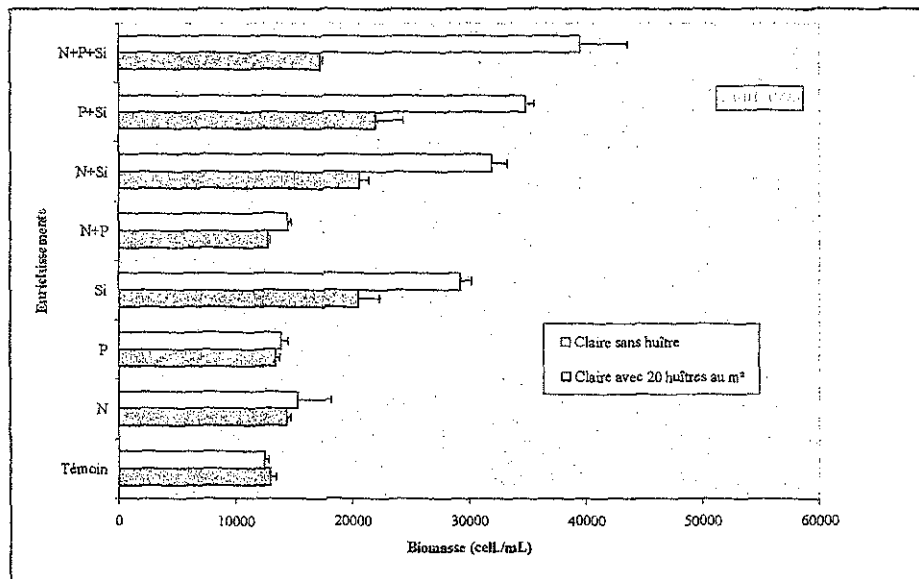


Figure 21 : Comparaisons des densités numériques en cellules obtenues après six jours de culture pour les différents enrichissements différentiels. (Colonne de gauche eaux entrantes, Colonne de droite même eau après stabulation). (Barres : erreur standart (s.e) sur la moyenne)

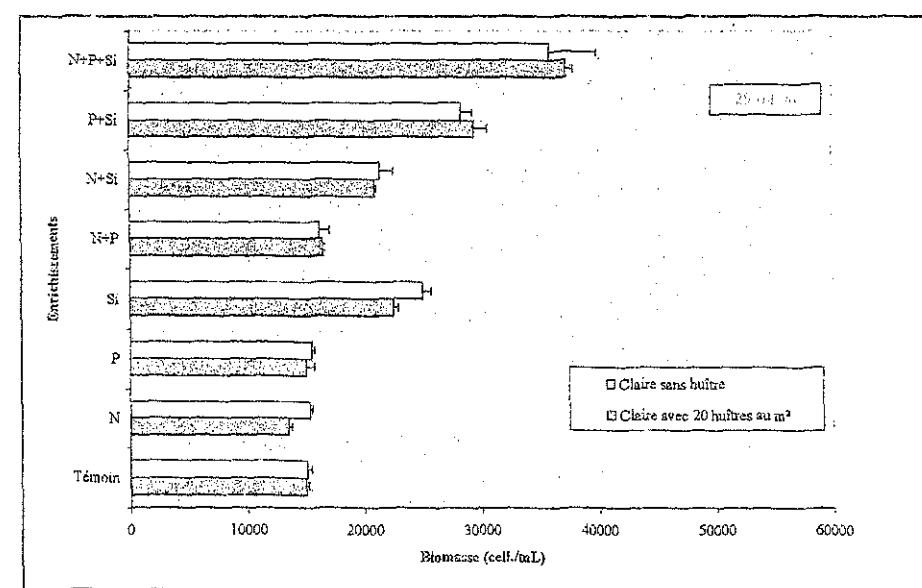
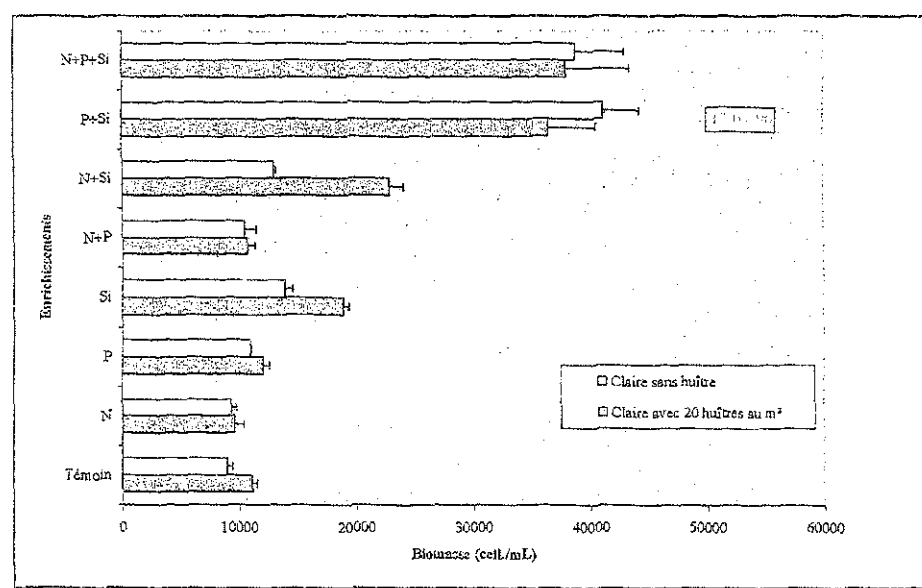
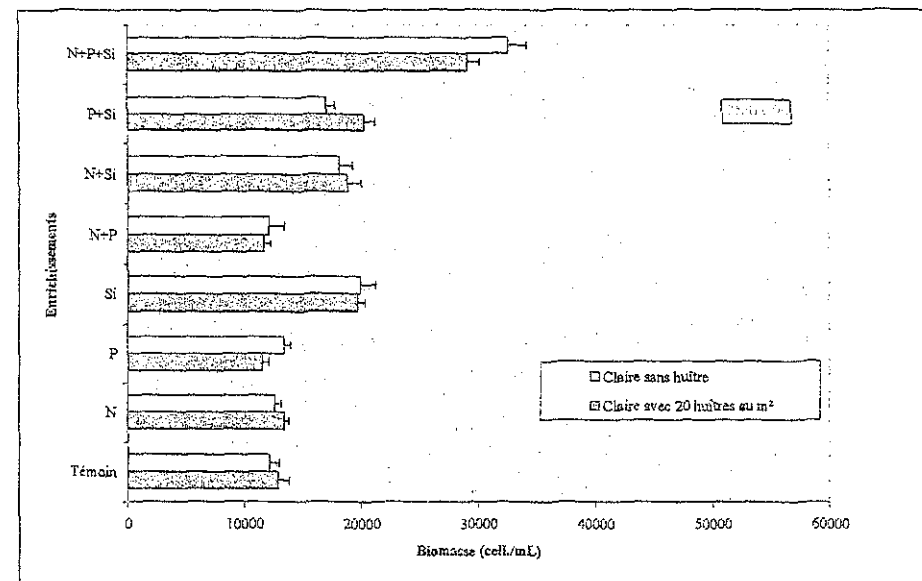
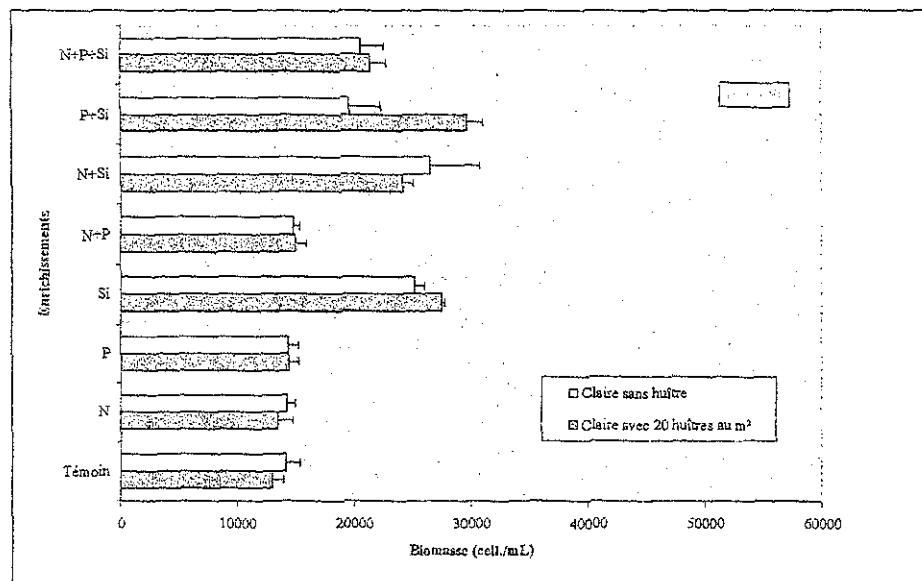


Figure 22 : Comparaisons des densités numériques en cellules obtenues après six jours de culture pour les différents enrichissements différentiels. (Colonne de gauche eaux entrantes, Colonne de droite même eau après stabulation). (Barres : erreur standart (s.e) sur la moyenne)

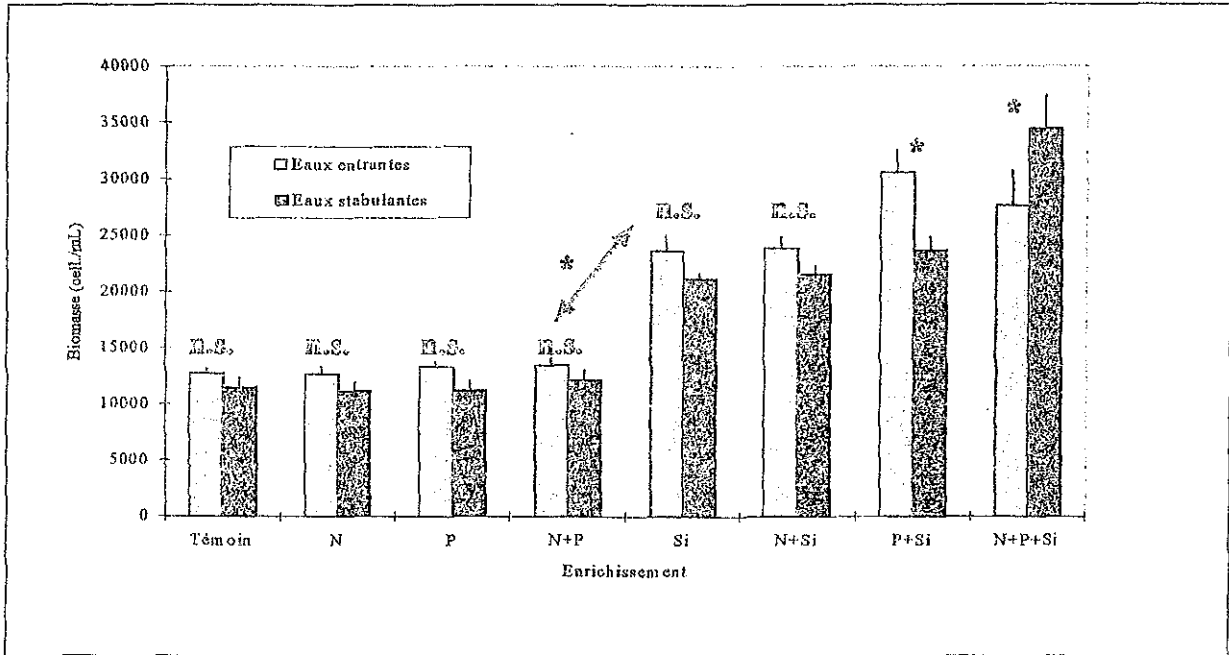


Figure 23 : Comparaison des densités numériques en cellules obtenues avec *H. ostrearia* entre des eaux entrantes et des eaux ayant séjournées dans la claire contenant 20 huîtres au m<sup>2</sup> après six jours de culture. (n =12 échantillons/ enrichissement, barres : erreur standart, \* : différence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

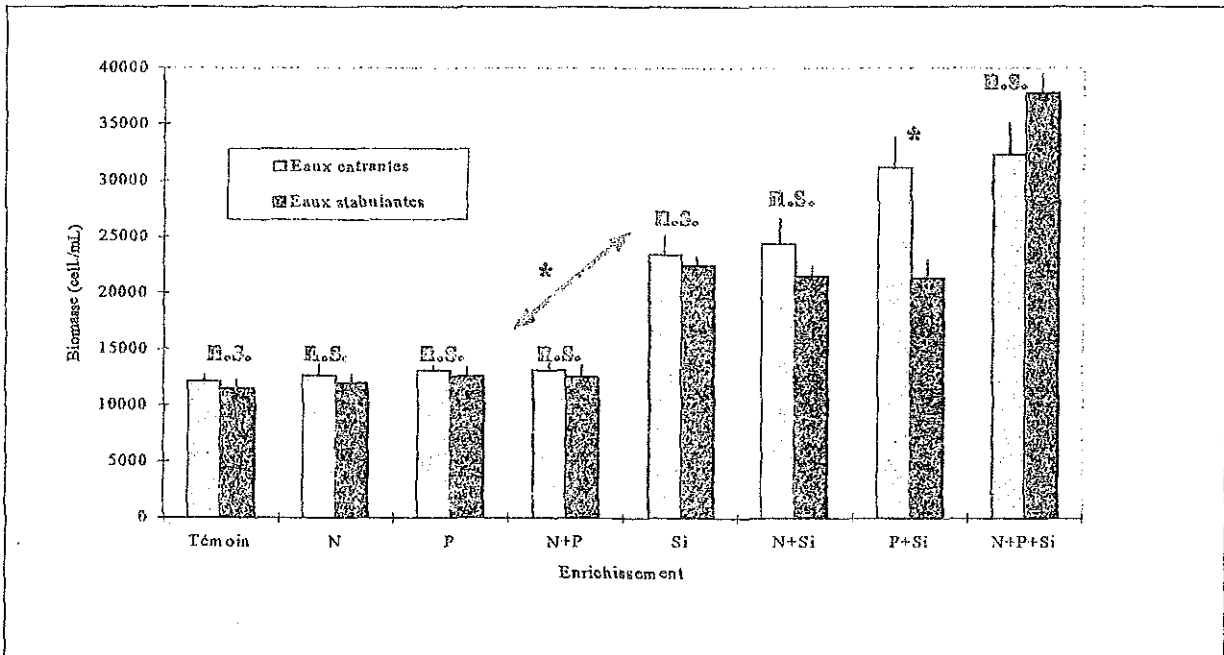


Figure 24 : Comparaison des densités numériques en cellules obtenues avec *H. ostrearia* entre des eaux entrantes et des eaux ayant séjournées dans la claire sans huîtres après six jours de culture. (n =12 échantillons/ enrichissement, barres : erreur standart, \* : différence significative à 5 %, n.s.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

### 3-5 Résultats des bioessais

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

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

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

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

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

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

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

Les résultats figurent dans le tableau 7. On note tout d'abord qu'entre les dates de prélèvements (toutes claires confondues) on observe des différences hautement significatives ( $p < 0.001$ ) ; que si l'on compare les deux claires (toutes dates confondues), il n'y a plus de différences

significatives. Si l'on croise les deux analyses précédentes en comparant donc les deux claires aux mêmes dates d'échantillonnage, dans ce cas aucune différence significative n'est mise en évidence.

Tableau 7 : Analyse de variance à deux facteurs sur les densités numériques en cellules observées pour les deux témoins (sans enrichissement), pour les différentes dates d'échantillonnage.

Source de variance	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Significativité du test (p)
date	228155497.92	7	32596342.56	29.35	<0.001 (***)
claire	1303502.08	1	1303502.08	1.17	0.287 (n.s.)
date x claire	13829214.58	7	1975602.08	1.78	0.126 (n.s.)
résidus	35338133.33	32	110566.67		
total	278826347.92	47	5932475.49		

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

### Conclusions

Comme lors de l'étude précédente (Turpin et Hamon, 1995), la silice apparaît comme étant le premier facteur limitant la production de la diatomée *Haslea ostrearia*. Phosphore et azote ne semblent pas avoir le même rôle que le silicium dans ce cas précis. Par contre, on peut remarquer que pour des eaux entrant (Fig. 23 et Fig. 24) dans les deux claires, l'enrichissement P+Si permet d'obtenir les densités cellulaires les plus fortes, et que pour des eaux qui ont séjourné dans les claires, l'enrichissement permettant la meilleure production (en nombre de cellules par mL) est l'enrichissement N+P+Si.



## 4 Conclusions

En conclusion, la présence des huîtres à la densité de 20 au m<sup>2</sup>, correspondant à la densité autorisée par la norme AFNOR pour l'appellation de "fines de claires", induit des modifications directes et indirectes de certains paramètres du milieu. En effet certains paramètres environnementaux de la claire, sont différents lorsque des huîtres sont présentes. Comme nous l'avons vu, le pH, les concentrations en sels nutritifs notamment l'ammoniaque, les teneurs en pigments totaux et caroténoïdes, diffèrent entre les deux claires. Cependant les bioessais permettent de dégager des conclusions légèrement différentes, dans le sens où les différences observées pour certains paramètres, surtout pour les sels nutritifs, n'affectent pas la qualité de l'eau. Les tests biologiques permettent donc de montrer que la présence des huîtres n'altère ni n'augmente la fertilité potentielle des eaux d'une claire peuplée en mollusque par rapport à celles d'une claire témoin vis à vis de la diatomée *Haslea ostrearia*.

Les prochains travaux se réaliseront in situ, c'est à dire en mésocosmes ou bien directement dans les claires, avec des conditions expérimentales (éclairage, température, gestion de l'eau, etc...) plus proches de la réalité, que les conditions de laboratoire. Tout d'abord, il est envisagé de réaliser en grand volume des enrichissements différentiels (N+P+Si), avec des eaux filtrées, puis d'inoculer *Haslea ostrearia*, réalisant ainsi des cultures monospécifiques. Parallèlement la même expérience sera réalisée sans filtration de l'eau, mettant ainsi en présence le peuplement naturel des eaux des claires.

Suite aux enrichissements, un suivi de dynamique de population sera réalisé afin de connaître l'influence des enrichissements sur les populations microalgales. Le but étant d'orienter le bloom vers une prédominance d'*Haslea ostrearia*. On pourra aussi en mésocosme introduire des huîtres, et voir l'influence des mollusques sur le peuplement mais aussi sur le développement des populations de microalgues. En effet il y a probablement un impact sur la microflore, impact que nous n'avons pu déceler par la présente étude, les cultures s'étant réalisées en l'absence des bivalves. Il est possible de réaliser également des suivis de cultures en enceintes dialysantes dans les claires elles mêmes, permettant ainsi d'avoir des conditions climatiques, mais aussi physico-chimiques identiques aux conditions réelles saisonnières.

## Bibliographie

Berland, B. R., Bonin, D. J., Maestrini, S. Y. & Pointier, J.-P., 1973 a. Etude de la fertilité des eaux marines au moyens de tests biologiques effectués avec des cultures d'algues. II Limitation nutritionnelle et variabilité de l'inoculum. *Ins. Rev. Gesamten Hydrobiol.*, **58** (2) : 203-220.

Grasshoff, K. & Johannsen, H., 1972. A new sensitive and direct method for the automatic determination of ammonia in sea water. *J. Cons., Cons. Int. Explor. Mer*, **34** : 516-521

Koroleff, K., 1969. Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. ICES, C.M. 1969/C :9 Hydr. Comm.

Lorenzen, C. J., 1967. Determination of Chlorophyll and Pheopigments : spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.*, **12** : 343-346.

Maestrini, S.Y. & Robert, J.-M., 1981. Rendements d'utilisation des sels nutritifs et variations de l'état des cellules de trois diatomées des claires à huîtres de Vendée. *Oceanol. Acta*, **4** (1) : 13-21.

Mullin, J.B. & Riley, J.P., 1955. The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Anal. Chim. Acta*, **12** : 162-170.

Murphy, J. & Riley J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, **27** : 31-36.

Redfield, A. C., 1934. On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. In *James Johnstone Memorial Volume*, The University Press, Liverpool, 176-192.

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

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

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

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