

# Université Française du Pacifique

## D.E.A

Diplôme d'Etudes Approfondies

"Connaissance et gestion des milieux coralliens littoraux et océaniques"  
C.G.Mi.C.L.O.

présenté par Pascale Loret

### Composition du plancton de Takapoto et régime alimentaire de l'huître perlière Pinctada margaritifera.

(sous la direction scientifique de Bruno Delesalle, Docteur en Biologie  
et de Dominique Buestel, responsable du laboratoire nacre IFREMER)

Soutenu le 24 juin 1995 à Papeete, devant le jury composé de :

- Président : - **Raymond Bagnis**, Professeur
- Membres : - **Christian Herbaut**, Professeur
- **Claude Payri**, Professeur
- **Antoine Peyre**, Professeur

LABORATOIRES D'ACCUEIL: - Centre de Recherches Insulaires et Observatoire de  
l'Environnement, Opunohu, BP 1013 MOOREA.  
- Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer  
COP, BP 7004 Taravao, Tahiti.

# SOMMAIRE

<i>Remerciements</i>	2
<i>Introduction</i>	3
<b>1. Filtration et nutrition chez <i>pinctada margaritifera</i></b>	<b>4</b>
<b>2. Matériel et méthodes</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Prélèvements sur le terrain</b>	<b>6</b>
2.1.1. Principe des prélèvements	6
2.1.2. Présentation du site étudié	6
2.1.3. Moyens de prélèvement	7
2.1.4. Schéma récapitulatif des prélèvements et analyses effectués	9
<b>2.2. Observations et mesures au laboratoire</b>	<b>11</b>
2.2.1. Quantification globale des particules dans l'eau	11
2.2.2. Caractérisation des particules dans l'eau et les nacres	11
<b>2.3. Traitement statistiques des données</b>	<b>14</b>
2.3.1. Le test du $\chi^2$	14
2.3.2. Le test G (ou test du rapport de vraisemblance)	15
2.3.3. L'analyse de la variance	15
<b>3. Résultats</b>	<b>17</b>
<b>3.1. L'eau</b>	<b>17</b>
3.1.1. Description générale	17
3.1.2. Composition en particules vivantes de l'eau du lagon	18
<b>3.2. Les nacres</b>	<b>20</b>
3.2.1. Résultats bruts	21
3.2.2. La variabilité individuelle	26
<b>3.3. Comparaison Eau/Nacre</b>	<b>26</b>
<b>4. Discussion</b>	<b>28</b>
4.1. Problèmes techniques et méthodologiques	28
4.2. La composition des contenus stomacaux	29
4.3. La sélection des particules	30
4.4. La composition des pseudofèces	31
<b>CONCLUSION</b>	<b>32</b>
<i>Références bibliographiques</i>	33

## REMERCIEMENTS

En tout premier lieu, je tiens à remercier mon directeur de stage, Monsieur Bruno Delesalle pour la confiance qu'il a placée en moi ainsi que pour tous les conseils qu'il a pu me prodiguer (le plus souvent par e-mail interposé!). Qu'il reçoive tous mes remerciements pour les corrections de ce mémoire.

Je remercie très sincèrement Madame Claude Payri pour son accueil au sein du Laboratoire d'Ecologie Marine. Un grand merci également à toute l'équipe (Stéphane, Fabienne, Lydie, Valérie, Bernard et Christophe), ce fut un réel plaisir de travailler en votre compagnie et dans des conditions aussi propices à la réflexion.

Je souhaite remercier Dominique Buestel pour son accueil dans l'unité "huîtres perlières" de l'IFREMER. J'en profite pour adresser ma gratitude à l'équipe du Laboratoire (Gérard, Jérôme, Hinano, Stéphane, Auguste et Xavier). Surtout je n'oublierai pas de remercier tous les VAT du Bâtiment Y pour leur aide si précieuse et leur disponibilité (je citerai Jean-Marc, Olivier, Yves, Sylvain). Merci également à A. Diter et E. Bédier pour leurs conseils.

Merci encore à tout le personnel de l'EVAAM de Takapoto de nous avoir fait passer un séjour si agréable. Cette première mission restera inoubliable!

Je tiens à remercier Messieurs Badie et Lezinski du Laboratoire d'Etude et de Surveillance de l'Environnement pour leur aide et leur conseils avisés.

J'exprime toute ma gratitude à Katell et à Charles pour leur aide et leurs encouragements.

Je terminerai cette épisode par remercier mes parents et tous mes amis proches pour leur soutien si précieux.

## INTRODUCTION

L'aquaculture de la nacre *Pinctada margaritifera* constitue une des ressources majeures de l'économie du Territoire. En effet, la perle se situe au premier rang des exportations en Polynésie française avec plus de 2,8 tonnes exportées en 1994; ce qui correspond à une valeur de plus de 11 milliards de francs Pacifique (service des Douanes, communication personnelle).

Contrairement aux autres activités aquacoles du Territoire, les travaux de recherche sur la nacre ont été entrepris récemment. C'est à la suite de graves problèmes de mortalité (entre 1984 et 1989) dans certains atolls comme Manihi et Takapoto que le Programme Général de Recherche sur la Nacre a été entrepris. L'écologie et la physiologie de l'huître perlière ont été abordées; toutefois la nutrition n'a été appréhendée que globalement et surtout en relation avec la charge trophique des lagons.

Une étude détaillée de la composition du milieu s'est avérée nécessaire afin d'acquérir une connaissance précise des caractéristiques floristiques du lagon où sont élevées les nacres. Dans un deuxième temps, l'aspect nutrition a été appréhendé. Ceci afin de déterminer le régime alimentaire des nacres, en se basant sur une comparaison de la composition de l'eau et la composition des prélèvements effectués sur les nacres (contenus stomacaux et pseudofèces). Des expérimentations ont eu lieu dans le lagon de Vairao (Hautefeuille, 1994 et Marchal, 1993), les résultats d'analyse de l'eau ont montré une dominance des diatomées pennées. Ces résultats concordent avec les travaux de Ricard (1976) sur la composition des lagons d'île hautes où les diatomées pennées de petite taille sont majoritaires.

Toutefois il semblait primordial d'étudier les nacres sur leur site naturel, c'est à dire dans le lagon d'un atoll. Le but de la présente étude est double: dans un premier temps, effectuer une analyse détaillée de la composition de l'eau du lagon de Takapoto; et ensuite déterminer le régime alimentaire des huîtres perlières en comparant ce qui est dans l'eau et ce que l'on prélève dans les nacres (contenus stomacaux, pseudofèces et fèces). Un autre aspect de la nutrition a été envisagé en essayant de déterminer le critère de sélection des particules (s'il y a lieu). L'objectif majeur de ce travail a consisté en la mise au point de protocoles de prélèvements et d'analyses fiables permettant d'atteindre les objectifs prévus.

# 1. FILTRATION ET NUTRITION CHEZ PINCTADA

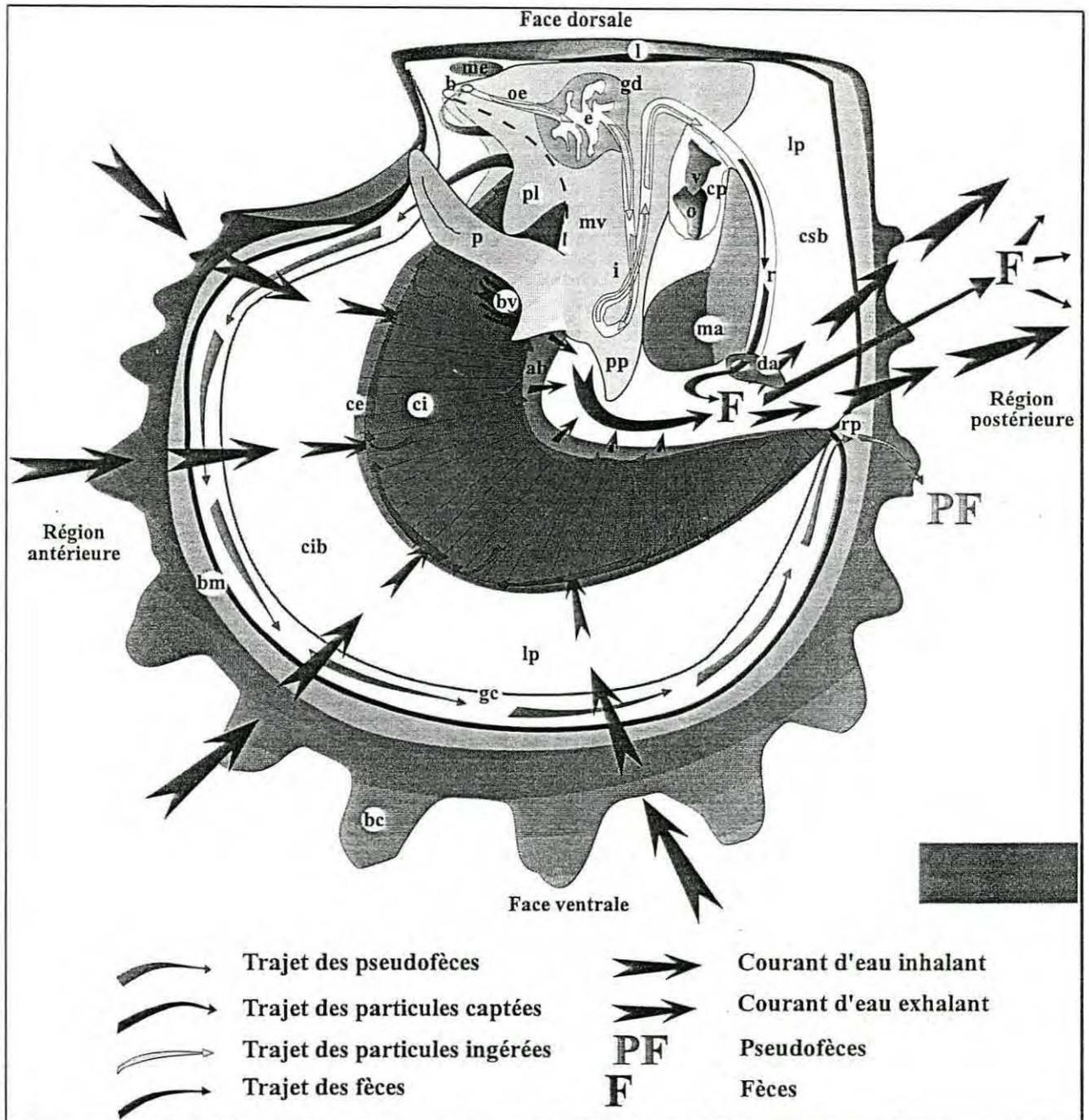
## MARGARITIFERA

Les bivalves sont des organismes filtreurs qui captent les particules en suspension dans l'eau environnante. Pour cela ils sont équipés d'un véritable système de pompage et de filtration de l'eau constitué par les branchies. Le battement synchrone des cils branchiaux qui fonctionnent "comme des petites pompes montées en parallèle" (Jones et Allen, 1986), provoque un courant d'eau qui traverse la cavité branchiale. Il en résulte un flux de particules qui traverse les branchies. Les particules suffisamment grosses sont retenues par le maillage formé par les filaments, et selon la théorie traditionnelle de capture et de transport, les particules en suspension sont retenues par les cils frontaux et latéraux-frontaux des branchies et enrobées de mucus (Kellog, 1915; Morton, 1983). Elles sont conduites vers les palpes labiaux et la bouche par l'intermédiaire de gouttières ciliées situées sur le bord des branchies. L'absence de cils latéraux-frontaux chez certains bivalves a incité Jorgensen (1990) à proposer une autre théorie différente du concept muco-ciliaire: le transport des particules serait réalisé grâce à un mécanisme hydrodynamique. Les particules seraient convoyées grâce à un système complexe de courants générés par les mouvements ciliaires. En fait, il semble que les deux mécanismes de capture muco-ciliaire et hydrodynamiques coexistent (Ward *et al.*, 1992).

Chez *Pinctada margaritifera* qui ne possède pas de cils latéraux-frontaux (Bernard, 1994) le transport des particules enrobées dans du mucus est bien visible au niveau des gouttières ciliées de la branchie (Figure 1). De plus, comme chez *Pinctada fucata* (Herdman, 1903), les pseudofèces formées au niveau des palpes labiaux et engluées dans du mucus sont transportées le long d'une gouttière ciliée située au bord du manteau jusqu'au repli paléal où elles sont rejetées vers l'extérieur.

Après l'ingestion et la digestion des particules sélectionnées, les fèces sont rejetées par l'anus et évacuées par un courant d'eau résultant de l'activité de filtration des huîtres perlières (Buestel *et al.*, 1992). L'huître *Pinctada margaritifera* ne retient les particules qu'à partir d'une taille de 2µm environ (Jonquière *et al.*, 1994). Elles n'ont donc pas accès aux bactéries et Cyanobactéries pourtant abondantes dans le phytoplancton (Charpy *et al.*, 1992). Le régime alimentaire de *Pinctada margaritifera* serait donc constitué essentiellement de particules se situant entre 5 et 70 µm, comme les études du PGRN l'ont montré (Rapport intermédiaire). Ces données obtenues à Vairao sont à préciser à Takapoto.

Un processus de sélection pré-ingestive au niveau des palpes labiaux a été mis en évidence chez les bivalves (Shumway *et al.*, 1985). Il semble que *Pinctada margaritifera* est aussi capable de sélectionner certaines particules en fonction de leur nature (Hautefeuille, 1994). Ce processus de sélection reste à vérifier et à préciser.



Légende (la partie gauche de l'animal a été enlevée)

**ab** : axe branchial ; **b** : bouche ; **bc** : barbe de croissance ; **bm** : bords du manteau ; **by** : byssus ; **ce** : cténidie externe (droite) ; **ci** : cténidie interne (droite) ; **cib** : chambre infrabranchiale ; **ca** : cavité péricardique ; **csb** : chambre suprabranchiale ; **da** : diverticule anal ; **e** : estomac ; **gc** : gouttière ciliée ; **gd** : glande digestive ; **i** : intestin ; **l** : ligament ; **lp** : lobe paléal (droit) ; **ma** : muscle adducteur ; **me** : muscle élévateur antérieur du pied ; **mv** : masse viscérale ; **o** : oreillette ; **oe** : oesophage ; **p** : pied ; **pl** : palpes labiaux (droits) ; **pp** : poche perlière ; **rp** : repli paléal ; **v** : ventricule.

Figure 1. Modalités de la nutrition chez l'huître perlière *Pinctada margaritifera*.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Prélèvements sur le terrain

#### 2.1.1. Principe des prélèvements

L'objectif premier de cette étude vise à comparer la composition en phytoplancton dans l'eau du lagon et les cellules algales que l'on retrouve dans l'estomac, les fèces et les pseudofèces des nacres.

La première étape consistera à déterminer la composition du milieu. Les prélèvements d'eau dans le lagon sont effectués à partir d'un temps  $T_0$ , plus précisément dès 16 heures. En effet, l'évolution de la concentration en chlorophylle *a* durant la journée dans le lagon de Takapoto présente un maximum entre 16 heures et 19 heures (Buestel et Pouvreau., 1994). L'échantillonnage de l'eau a lieu à 16 h, 18 h et 21h; et ceci le 22 et 23 mars 1995.

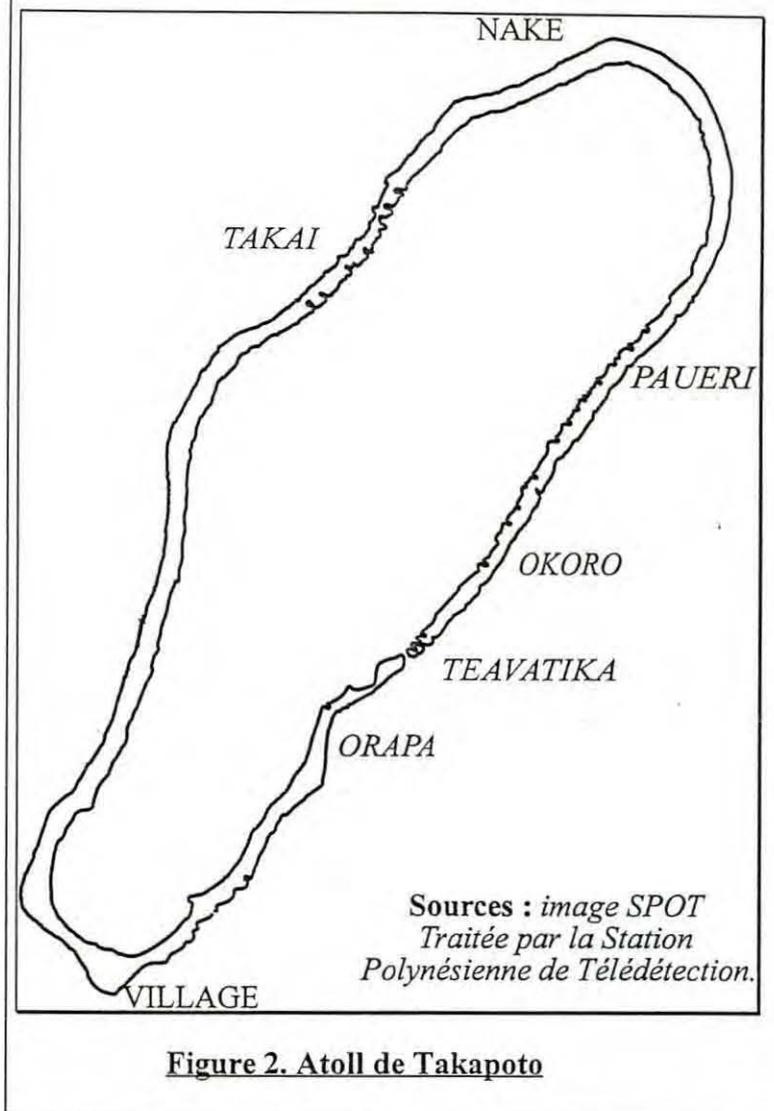
En ce qui concerne les nacres, les fèces et pseudofèces sont récoltées à 18 h 30 et 21 h, les contenus stomacaux sont prélevés à partir de 21 heures. Ces horaires ont été choisis en tenant compte des données existantes sur le temps de transit des particules dans le tube digestif de l'animal. En effet, Deslou-Paoli a montré que chez *Crassostrea gigas* le remplissage du tube digestif est assez rapide mais qu'il faut entre 3 à 5 heures pour que les algues aient complètement traversé le tube digestif. De plus, des expériences complémentaires ont montré que les premiers résidus de la digestion apparaissent dans les fèces 3 à 6 heures après le début des expériences. De la même façon, Jonquières (communication personnelle) observe des temps de transit de l'ordre de 3 à 5 heures chez *Pinctada margaritifera*. La plupart des pseudofèces sont composées de matériel filtré sur les branchies et qui est directement rejeté ou bien trié au niveau des palpes labiaux (Menzel, 1955).

#### 2.1.2. Présentation du site étudié

Tous les prélèvements et expériences effectuées sur le terrain, du 20 au 25 mars 1995, ont eu lieu à Takapoto. Cet atoll est situé au Nord de l'archipel des Tuamotu à 14°30' de latitude Sud et 145°20' de longitude Ouest (Chevalier *et al*, 1979). L'étude a porté sur des échantillons d'eau et sur des nacres qui ont été prélevés sur un site localisé au Sud de l'atoll (Figure 2.), à proximité du village et à une centaine de mètres de la station de l'EVAAM où se trouve le laboratoire. Ce site a été choisi en raison de son accessibilité et de sa proximité du laboratoire. Etant donné les conditions particulières de cet atoll du point de vue hydrologique (absence de toute passe et peu de "hoa" fonctionnels), ce site présente des propriétés physico-chimiques très homogènes dans les trois dimensions (Sournia et Ricard, 1976a).

De plus Takapoto possède, comme la plupart des atolls, une flore algale caractérisée par la dominance des dinoflagellés dans le phytoplancton tandis que dans les îles hautes comme Tahiti on rencontre une majorité de petites Diatomées pennées (Sournia et Ricard, 1976b).

Le site où ont lieu les prélèvements est soumis à un régime des vents de secteur ESE avec des alizés compris entre 10 et 35 km/h en moyenne (Ricard *et al*, 1979). La température



**Figure 2. Atoll de Takapoto**

moyenne du lagon est de 27°C en hiver et de 30°C en été. Les températures enregistrées lors de la mission sont de 30 °3C le 22 mars et 30°4C le 23 mars (températures relevées en surface). La profondeur au site étudié est de 11m et les prélèvements ont tous eu lieu à 7 m.

### **2.1.3. Moyens de prélèvement**

#### **2.1.3.1. Prélèvements d'eau**

Tous les prélèvements d'eau sont effectués sur le site grâce à une bouteille à renversement en polyéthylène de type Niskin (contenance 5 litres). Les volumes prélevés sont de 2 fois 250 ml pour le phytoplancton, 3 fois 1 l pour les chlorophylles et 3 fois 5,6 l pour le seston. Ces volumes d'eau sont filtrés à Takapoto pour les échantillons qui le nécessitent. Les échantillons d'eau destinés aux dosages de chlorophylle et à la détermination du seston sont filtrés sur des filtres Whatman GF/C (47 mm de diamètre).

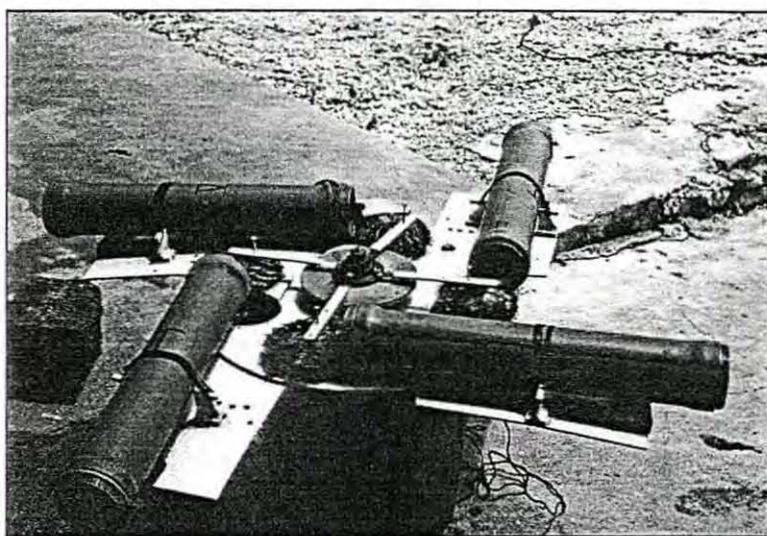
#### **2.1.3.2. Prélèvements sur les nacres**

Les prélèvements sont tous effectués sur des nacres de l'atoll de Takapoto provenant du site étudié. Ces nacres ont été placées sur des collecteurs et immergées de janvier à juillet 1991. Après une période de pré-grossissement elles ont été mises en chapelet de novembre à décembre 1991, puis installées sur des filières sur le site. Les nacres sont prélevées au hasard parmi les filières au nombre de quatre le premier jour et huit le deuxième jour. La taille de chaque nacre est déterminée à l'aide d'un pied à coulisse: 124,5 à 130 mm le 22 mars (moyenne de la taille des

quatre nacres: 121 +/- 3 mm) et 127 à 145 mm le 23 mars (taille moyenne: 137 +/- 5 mm). Sur ces nacres nous récoltons les fèces et pseudofèces et nous prélevons les contenus stomacaux.

### *Principe du nacromètre*

Cet appareil a permis de mesurer en continu l'ouverture des valves de *Mytilus edulis* et de mettre en évidence des périodes d'alternance ouverture/fermeture reflétant l'activité physiologique de ce mollusque comme la filtration et la respiration (Floch, 1994). Puis, cet appareil a été modifié pour l'étude de *Pinctada margaritifera* et rebaptisé à l'occasion nacromètre



**Figure 3. Dispositif de prélèvement des fèces et pseudo-fèces et d'enregistrement des mouvements valvaires**

Le nacromètre (figure 3.) est constitué d'un plateau en PVC où sont collées les nacres, il est doté d'une centrale d'acquisition permettant d'enregistrer les mouvements valvaires. La principale modification apportée au prototype fut l'installation de quatre lots de deux tubes afin de récolter les fèces et pseudofèces des nacres. En effet, pour chaque nacre on dispose un tube à l'endroit où sont expulsées les fèces (en face de l'anus) et un tube en face du repli palléal (lieu où sont rejetées les pseudofèces)

Après la mise en route et l'étalonnage des appareils puis le collage des nacres sur les plateaux, les nacromètres sont immergés en fin de matinée. Ceci permettra aux nacres de s'acclimater au milieu et de diminuer le stress des animaux avant les prélèvements qui auront lieu à 18 heures et 21 heures.

### *Prélèvement des fèces et pseudofèces*

Les fèces récoltées dans les tubes du nacromètre sont transvasées dans un bocal et les pseudofèces dans un bidon de 5,6 l. Après sédimentation des prélèvements pendant une durée de trois heures, le surnageant est éliminé par aspiration avec un siphon afin de diminuer le volume de l'échantillon et de le placer dans un pilulier.

### *Dispositif de prélèvement des contenus stomacaux*

La méthode de Moore (1910) semble la plus appropriée pour obtenir les contenus stomacaux. La technique consiste à aspirer le contenu de l'appareil digestif de l'animal (Nasr, 1984). Ainsi ce n'est pas le contenu stomacal (au sens strict du terme) qui est récupéré mais plutôt le contenu de l'appareil digestif de l'animal, c'est à dire ce qui est compris entre l'oesophage et le rectum. (figure 4.)



**Figure 4. Dispositif de prélèvement des contenus stomacaux (méthode de Moore).**

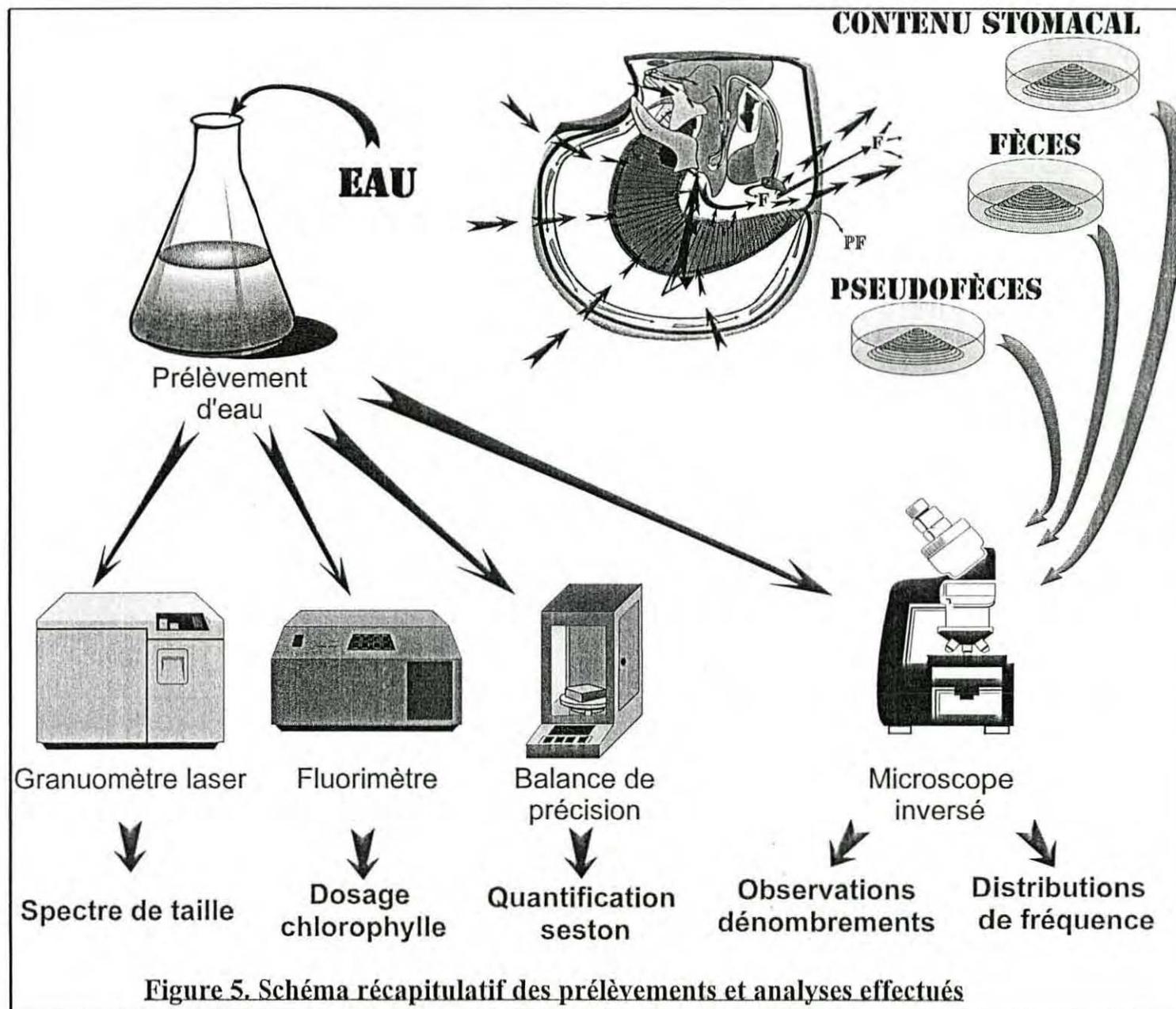
l'animal. Le contenu digestif de l'huître est évacué par la bouche grâce à un système de pompe à vide: on perfuse dans l'anus de l'animal de l'eau de mer filtrée avec un débit constant et par la pipette reliée à la bouche on aspire le contenu stomacal. Le matériel collecté est récupéré dans un pilulier.

Tous les échantillons récoltés en vue des observations du phytoplancton sont fixés au formol neutralisé pour une concentration finale de 2 % tandis que les filtres destinés aux dosages de chlorophylle sont maintenus congelés jusqu'au moment de l'analyse.

#### **2.1.4. Schéma récapitulatif des prélèvements et analyses effectués**

La figure 5. (page suivante) présente l'ensemble des prélèvements et analyses effectués.

Dès leur arrivée au laboratoire, les animaux sont immergés dans une solution de chlorure de magnésium (35 g/l d'eau), cette solution anesthésiante permet une ouverture des valves de la coquille au bout de 30 minutes environ. Dès que les valves s'ouvrent, l'huître est ouverte après section des muscles adducteurs. Puis on met en place le dispositif permettant de récolter le contenu stomacal. Une pipette Pasteur dont on a préalablement effilé l'extrémité, est introduite dans la bouche tandis qu'une autre pipette est placée dans l'anus de



## **2.2. Observations et mesures au laboratoire**

### **2.2.1. Quantification globale des particules dans l'eau**

La détermination de la quantité de matière en suspension dans l'eau est faite par pesée (Jamoneau, 1993). Cette technique permet d'obtenir la masse en seston total, organique et minéral dans un échantillon. Le principe de la méthode repose sur des pesées successives dont le protocole est résumé ci-dessous:

- filtration de 5,6 l d'eau du lagon sur des filtres GF/C préalablement tarés après 24 heures au dessiccateur. Le rinçage des filtres à l'eau distillée, après filtration, et le passage au dessiccateur permettent d'éliminer le sel et de maintenir le filtre à un degré hygrométrique constant.
- filtres placés à l'étuve à 60°C pendant 24 heures, puis au dessiccateur également pendant 24 heures
- pesée des filtres
- filtres placés dans un four à moufle à 450°C pendant une heure, afin d'éliminer la matière organique, puis à nouveau au dessiccateur pendant 24 heures
- pesée des filtres

Les résultats obtenus sont exprimés en mg de seston par litre d'eau. Le passage au four permet de déterminer le seston organique et la quantité de seston minéral.

### **2.2.2. Caractérisation des particules dans l'eau et les nacres**

#### **2.2.2.1. Approche qualitative**

L'analyse qualitative de l'eau et des prélèvements effectués sur les nacres a pour objectif la connaissance de la composition de chaque type d'échantillon.

La durée de stage de D.E.A. étant insuffisante pour acquérir une connaissance précise des différentes espèces du phytoplancton, l'identification des cellules a volontairement été limitée au niveau de la classe avec quelques incursions au niveau du genre pour les espèces les plus abondantes. Ce niveau d'identification (la classe) permet déjà une bonne discrimination des échantillons.

Les identifications ont principalement été réalisées à l'aide de l'atlas du phytoplancton marin (Sournia, 1986; Ricard, 1987; Chrétiennot-Dinet, 1990) et de l'ouvrage de Taylor (1976) sur les dinoflagellés de l'Océan Indien. L'observation des échantillons se fait au microscope inversé (Olympus modèle IMT2). Les objectifs à contraste de phase et le contraste interférentiel ont été largement utilisés car ils apportent une meilleure définition à l'observation et permettent d'apprécier plus largement les détails. Tous les comptages au microscope sont effectués à l'objectif 40 (grossissement: 400 fois) muni d'un micromètre.

#### ***Le phytoplancton***

Parmi les méthodes permettant l'observation du matériel phytoplanctonique, la technique "directe" de sédimentation s'est avérée la plus adaptée aux conditions rencontrées lors de cette étude. Elle permet, entre autres, une très bonne reproductibilité de l'échantillonnage ainsi qu'une préparation aisée des échantillons. Toutefois elle montre quelques inconvénients comme la

fixation du matériel, la nécessité d'utiliser un microscope inversé et une gamme limitée des volumes utilisables (10 à 100 ml). Le choix du volume à sédimenter est effectué en fonction de l'abondance du plancton dans le milieu naturel; plus l'oligotrophie est forte, plus le volume sera conséquent. Dans les conditions rencontrées à Takapoto, le volume étudié est de 100 ml. Les cuves sont observées au microscope inversé après 24 heures de sédimentation.

### *Les pseudofèces*

L'examen précis de ce type d'échantillon permet de déterminer la qualité du matériel phytoplanctonique qui est rejeté dans le milieu sans être ingéré par l'animal. Les pseudofèces renferment une grande quantité de mucus responsable de la formation d'amas de cellules et de débris divers qu'il est impossible d'analyser à l'état brut. Afin de résoudre ce problème, avant toute observation, on fait subir un traitement préalable aux échantillons. Plusieurs types de traitements ont été testés afin d'éliminer le mucus. Les traitements chimiques par l'eau de Javel, un acide faible ou bien de la soude se sont avérés inutiles. En effet, ils provoquent un phénomène de floculation de l'échantillon, ce qui rend l'échantillon encore plus difficile à observer. Finalement un traitement mécanique a été choisi de préférence par rapport à d'autres (centrifugation, ultrasons) de façon à limiter le bris éventuel des cellules et donc un biais dans les résultats. Les amas de particules sont dilacérés sous la loupe binoculaire à l'aide d'une pince fine et d'une aiguille montée. L'échantillon est homogénéisé par agitation manuelle puis observé au microscope inversé (objectif 40 ).

### *Les contenus stomacaux*

La composition du contenu stomacal correspond à ce que la nacre a consommé ; c'est à dire à ce que la nacre a soutiré du milieu environnant pour se nourrir. La première étape dans cette étude consiste à faire subir un traitement mécanique à l'échantillon. En effet, tout comme dans le pseudofèces, un mucus abondant ne permet pas d'analyser l'échantillon à l'état brut. Avant toute observation, les contenus stomacaux vont être dilacérés sous la loupe binoculaire. L'approche qualitative comprend un inventaire de tous les grands groupes d'algues présents avec leurs caractéristiques de taille, de forme ainsi que la présence/absence d'ornementations.

### *Les fèces*

L'analyse détaillée des éléments ingérés, puis rejetés par la nacre au niveau de l'anus, après le processus de digestion, permet d'estimer la qualité du matériel non digéré par l'animal. En ce qui concerne l'étude des échantillons récoltés à partir du nacromètre, les données sont directement accessibles car aucun traitement préalable n'est requis pour les fèces (dû à la faible abondance de mucus). Chaque échantillon est placé dans une cuve à sédimentation afin d'être observé au microscope inversé.

### *Détermination des spectres de taille des particules par granulométrie laser*

Elle est réalisée grâce à l'utilisation du granulomètre HR850 (Compagnie Industrielle des lasers, Alcatel), qui est principalement destiné à effectuer des mesures granulométriques sur des produits pulvérulents en suspension dans un liquide. Grâce à un calculateur incorporé, cet appareil détermine très rapidement la répartition des dimensions des particules dans un domaine s'étendant de 0,1 à 600  $\mu\text{m}$ .

L'objectif de cette expérience est de déterminer si ce type d'appareil peut être utilisé pour obtenir les spectres de taille des particules contenues dans l'eau, les contenus stomacaux, les fèces et les pseudofèces.

### 2.2.2.2. Etude quantitative

La caractérisation des particules comprend aussi une **approche quantitative** qui consiste à dénombrer les cellules dans chaque échantillon et de rapporter les effectifs au total afin de calculer la proportion de chaque catégorie d'algues et ceci dans tous les échantillons.

#### *Les comptages*

Les méthodes de comptage utilisées tiennent compte de la présence d'une concentration élevée de cellules dans les prélèvements qui ne permet pas de traiter la totalité de l'échantillon. Après avoir vérifié l'homogénéité d'un certain nombre d'aliquotes issus du même échantillon et considérant la formule du "coût" en statistique, le protocole suivant a été retenu : dans chaque échantillon deux aliquotes sont prélevées (dans le cas du phytoplancton on remplit deux colonnes de sédimentation); dans chaque aliquote le comptage est effectué sur une surface de la cuve équivalant à un carré de 0,9 cm de côté. Puis les résultats sont ramenés à la surface totale de la cuve et au volume de la colonne.

La technique décrite ci-dessus permet de déterminer l'effectif cellulaire (nombre total de cellules phytoplanctoniques par litre) et ainsi de décrire l'abondance du phytoplancton (Delesalle, 1990).

En ce qui concerne les échantillons de pseudofèces et de contenus stomacaux, le principe du fractionnement de l'échantillon en deux sous-échantillons est le même, deux aliquotes d'un volume correspondant à celui de la chambre d'observation (3 ml) sont analysés. Toutefois la technique de comptage diffère sensiblement. Dans le cas présent, la technique des "bandes" a été choisie afin de réaliser les comptages. Les comptages ont lieu sur 4 bandes horizontales (de surface connue) dont la position est déterminée au hasard sur la surface totale de la cuve. Huit comptages sont réalisés pour un même échantillon. Par cette méthode numérique, le nombre d'individus dans chaque catégorie d'algues est enregistré pour chaque estomac et chaque échantillon de pseudofèces. Les comptages sont exprimés en proportions (en %) du total d'individus dans chaque catégorie d'algue (Crisp, 1978). Le nombre moyen d'individus par estomac pour chaque catégorie d'algue peut être calculé.

Pour les comptages dans les fèces, on utilise la méthode des "champs" qui consiste à prendre au hasard 10 champs de microscope dans la cuve et d'effectuer les comptages sur ces surfaces qui seront ensuite ramenées à la surface totale de la cuve. Lors des premières observations sur ce type échantillon, la grande concentration en débris (de forme, de taille et de nature très variés) ne permettait pas d'avoir une idée globale du type de cellules intactes, non digérées, qui se trouvent dans les fèces. La méthode des champs permet de dénombrer un nombre de cellules sur des surfaces restreintes, cependant la multiplication du nombre de champs observés sur l'aliquote donne une bonne estimation de la surface totale considérée.

Les différentes méthodes ont été utilisées pour l'estimation des proportions de chaque catégorie d'algues dans les échantillons. Il est nécessaire de tenir compte du nombre de cellules dans chaque prélèvement pour avoir des comptages statistiquement représentatifs.

#### *Le dosage de la chlorophylle et des phéopigments*

Ce dosage permet une évaluation de la biomasse phytoplanctonique contenue dans l'eau du lagon. La méthode repose sur la mesure de la fluorescence avant et après acidification

d'une solution acétonique de chlorophylle *a* et de phéopigments (Lorenzen *et al.*). Le protocole expérimental suivi pour le dosage de la chlorophylle est décrit ci-dessous:

- filtration de 1,125 l d'eau du lagon sur filtre GF/C (diamètre 47 mm)
- broyage des filtres dans des tubes à vis après addition de 5 cc d'acétone à 90%
- extraction des pigments pendant 1h30 au réfrigérateur
- centrifugation à 3000 tr/mn pendant 15 mn (Bioblock Scientific, Sigma 4-10)
- lecture de la fluorescence de l'échantillon (fluorimètre Turner modèle 112)
- acidification de l'échantillon par addition de 50  $\mu$ l d'HCL (1N)
- lecture de la fluorescence, après acidification

Le dosage de la chlorophylle *a* par méthode optique permet de décrire l'abondance du phytoplancton dans le milieu. De plus, la détermination du pourcentage de chlorophylle *a* par rapport à l'ensemble chlorophylle-phéophytine est un indicateur de l'état physiologique des populations phytoplanctoniques et de leur taux de renouvellement. Ceci nous permet ainsi d'estimer l'importance du phytoplancton par rapport aux végétaux benthiques dont les débris se retrouvent dans les prélèvements. La quantification de la chlorophylle active nous permettra d'interpréter de façon plus précise les valeurs de chlorophylle *a*. Les concentrations en chlorophylle sont exprimées en  $\mu$ g par litre d'eau de mer.

## **2.3. Traitement statistiques des données**

### **2.3.1. Le test du $\chi^2$**

#### ***Principe du $\chi^2$ :***

Le test  $\chi^2$  consiste à mesurer l'écart qui existe entre des fréquences observées et des fréquences théoriques et à tester si cet écart est suffisamment faible pour être imputable aux fluctuations d'échantillonnage. Le principe du test du  $\chi^2$  peut être appliqué afin de comparer *k* échantillons aléatoires simples et dont les éléments peuvent être classés en plusieurs catégories. Ceci revient à tester les hypothèses suivantes:

- $H_0$ : les *k* échantillons constituent un groupe homogène;
- $H_1$ : les *k* échantillons constituent un groupe hétérogène dont les distributions relatives diffèrent.

Le test  $\chi^2$  suppose la normalité des fréquences observées dans chacune des catégories. Afin de réaliser cette condition il est recommandé de suivre la loi de Cochran qui stipule que 80% des fréquences théoriques doivent être supérieures à 5 (Scherrer, 1984). Pour cela des lignes adjacentes dans le tableau de contingence ont été combinées dans le cas de classes de plus faible effectifs.

#### ***Application du test aux données brutes***

Avant d'entreprendre une analyse sur les échantillons d'eau et les prélèvements effectués sur les nacres, il est nécessaire de vérifier au préalable s'il y a homogénéité à l'intérieur de chaque groupe de prélèvement: eau, contenus stomacaux et pseudofèces. A ce moment, on pourra considérer ces groupes comme homogènes et il sera possible de «pooler» les différentes valeurs. Ceci permettra par la suite de simplifier le test de comparaison en ne considérant qu'une seule série de comptages pour chaque type d'échantillon. Un test basé sur la distribution du  $\chi^2$

permettra de tester l'hypothèse nulle suivante : les comptages constituent un groupe homogène, et ceci pour chaque type de prélèvement.

### **2.3.2. Le test G (ou test du rapport de vraisemblance)**

Les hypothèses principale et alternative de ce test sont identiques à celles du test  $\chi^2$ .

- $H_0$ : les échantillons constituent un groupe homogène
- $H_1$ : les  $k$  échantillons constituent un groupe hétérogène. Les distributions des populations d'origine ne sont pas toutes identiques.

Dans notre cas, il s'agit de tester l'homogénéité de trois distributions provenant d'échantillons indépendants et de déterminer si ces distributions sont identiques.

Ce genre de test s'applique tout à fait au type de données dont on dispose : les comptages sont effectués sur des échantillons indépendants (eau, pseudofèces et contenus stomacaux), ils sont exprimés en proportions et on veut savoir s'il existe une différence significative entre eux. Il existe plusieurs approches pour ce genre de test, on utilisera celle qui prend en compte la valeur critique du test global pour comparer un petit nombre d'échantillons ( $n=3$ ). Le principe de la comparaison simultanée de plusieurs échantillons facilitera les calculs.

### **2.3.3. L'analyse de la variance**

L'analyse de la variance à un critère de classification, ou à un facteur, a pour but de comparer les moyennes de plusieurs populations supposées normales et de même variance, à partir d'échantillons aléatoires, simples et indépendants les uns des autres.

#### ***Principe de l'analyse de la variance (Dagnélie, 1975)***

Pour tester l'hypothèse d'égalité des moyennes de  $p$  populations :

$$H_0: m_1 = m_2 = \dots = m_p,$$

On doit tout d'abord prélever un échantillon aléatoire et simple dans chaque population. Les moyennes de ces  $p$  échantillons et la moyenne générale de l'ensemble des observations permettent ensuite de définir deux types de variations : les écarts existant entre les différents échantillons (variation entre échantillons ou variation factorielle) et les écarts existant à l'intérieur des échantillons (variation dans les échantillons ou variation résiduelle).

#### ***Application du test aux données de l'expérience***

Le test de l'analyse de la variance est utilisé ici pour montrer s'il existe ou non une différence significative entre les différents types de prélèvements et ceci en considérant chaque catégorie d'algue une par une. Une analyse globale prenant en compte la totalité des algues répertoriées et les trois types de prélèvements effectués serait trop complexe à traiter en une seule fois. C'est pour cette raison que les algues seront considérées les unes après les autres.

Ceci reviendra à faire onze ANOVA au total, les tests seront réalisés grâce au logiciel informatique S.A.S. en utilisant un modèle d'analyse linéaire (SAS-GLM). Les nacres sont subdivisées en deux "compartiments": les contenus stomacaux et les pseudofèces. Le compartiment est hiérarchisé à l'individu NACRE. L'eau qui est indépendante des autres types

d'échantillons est considérée comme un troisième compartiment et sera intégrée à l'analyse de cette manière.

## 3. RESULTATS

### 3.1. L'eau

#### 3.1.1. Description générale

##### 3.1.1.1. Abondance du phytoplancton dans l'eau

Le dosage de la chlorophylle par fluorimétrie permet de faire une estimation globale de la biomasse chlorophyllienne. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Date	Heure	[chl-a] moyenne	Ecart-type	[chl active] moyenne	Ecart-type
22-mars	16	0,23	0,04	41,72%	5,00%
22-mars	18	0,37	0,04	48,42%	3,78%
22-mars	21	0,38	0,11	57,82%	7,61%
23-mars	16	0,63	0,22	58,13 %	17,02%
23-mars	18	0,40	0,07	44,38 %	5,53%
23-mars	21	0,33	0,20	45,93 %	18,21%

**Tableau 1. Résultats du dosage de la chlorophylle *a* par fluorimétrie  
(les concentrations en chlorophylle sont exprimées en µg/l d'eau de mer)**

Les concentrations en chlorophylle mesurées dans le lagon de Takapoto les 22 et 23 mars 1995 varient de 0,225 +/- 0,036 µg/l à 0,632 +/- 0,224 µg/l. Ces résultats sont cohérents avec les mesures déjà effectuées à Takapoto qui indiquent une moyenne annuelle de 0,28 +/- 0,028 µg/l (Rapport PGRN, 1990-1991.). Toutefois, les valeurs de chlorophylle enregistrées le 23 mars représentent à peu près le double de la moyenne annuelle. Il s'agit donc d'une situation de forte production phytoplanctonique, ce type de conditions particulières ne peut qu'être la conséquence d'un bloom de micro-algues.

Les valeurs de chlorophylle active (chlorophylle *a* / chlorophylle *a*+phéophytine) sont proches de 50 % et signifient que les populations phytoplanctoniques ne sont pas en phase exponentielle de croissance. Cependant on peut noter que ces valeurs ne coïncident pas avec les fortes biomasses annoncées plus haut. L'hypothèse d'une phase de déclin après un quasi-bloom est peut-être envisageable. Les valeurs ne coïncident pas avec les fortes biomasses annoncées plus haut. L'hypothèse d'une phase de déclin après un quasi-bloom est peut-être envisageable.

Un test ANOVA appliqué aux valeurs ci-dessus montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les chlorophylles dosées le 22 et 23 mars. De plus, ce test permet de démontrer qu'il n'existe pas de différence significative selon l'heure du prélèvement (pour les prélèvements effectués le même jour).

La valeur de référence sera donc la concentration moyenne de chlorophylle-*a* évaluée durant les deux journées et qui est égale à 0,3895 +/- 0,1640 µg/l.

source de variabilité	ddl	CM	SCE	F	p
jour	1	0,071	0,071	1,433	0,2974
heures (jour)	4	0,198	0,050	2,759	0,0774
Résidu	12	0,215	0,018		

**Tableau 2. Résultats de l'analyse de variance sur les valeurs de chlorophylle mesurées.**

### **3.1.1.2. Le seston**

La quantification du seston total dans l'eau ainsi que la proportion de seston organique complètent et précisent les données de chlorophylle.

	moyenne	écart-type
seston organique	0,45	0,04
seston minéral	0,21	0,05
seston total	0,65	0,12

**Tableau 3 Résultats de la pesée du seston (exprimés en mg/l d'eau)**

D'après les résultats obtenus à partir des prélèvements d'eau, la teneur en particules organiques est supérieure à la moyenne. En effet, la valeur moyenne mesurée en 1990-1991 était de 0,35 +/- 0,025 mg/l pour le seston organique. Ceci peut être relié avec les concentrations élevées en chlorophylle citées plus haut.

### **3.1.2. Composition en particules vivantes de l'eau du lagon**

#### **3.1.2.1. Approche qualitative**

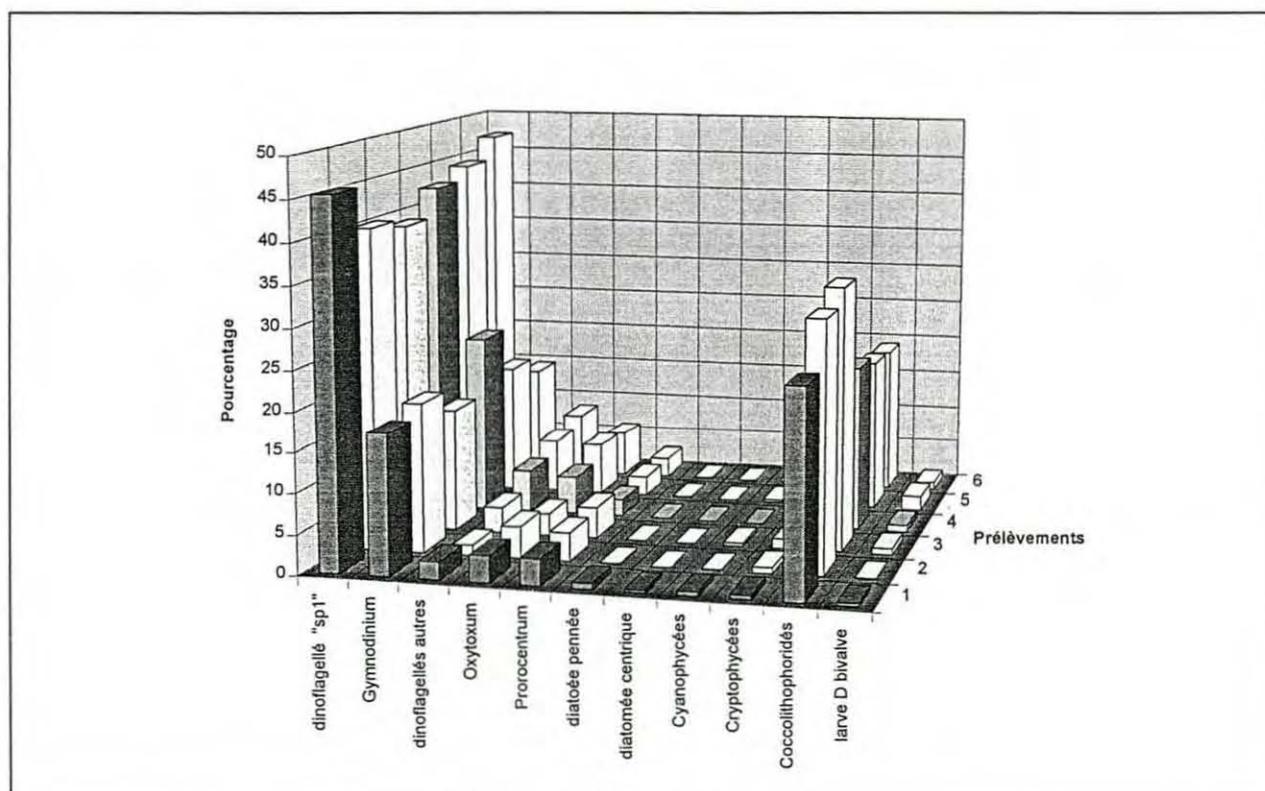
L'étude des particules vivantes (de nature organique) constitue la première étape nécessaire afin de déterminer la composition du milieu où vivent les huîtres perlières. L'étude de l'eau du lagon de Takapoto devait au départ concerner le phytoplancton uniquement, cependant la présence de larves de mollusques a été jugée intéressante relativement au sujet traité. C'est pour cette raison qu'une catégorie " larves D de bivalves" a été créée. La composition des échantillons prélevés dans le lagon est récapitulé dans le tableau suivant.

Phytoplancton	Coccolithophoridés	<i>Emiliana huxleyi</i>
		<i>Gephyrocapsa sp</i>
	Cryptophycées	Cryptophycées indéterminées
	Cyanophycées	Cyanophycées indéterminées
	Diatomées	Diatomées centriques indéterminées
		Diatomées pennées indéterminées
	Dinoflagellés	<i>Gymnodinium sp</i>
		<i>Oxytoxum sp</i>
		<i>Prorocentrum sp</i>
		<i>Protoperidinium sp</i>
	Dinoflagellés indéterminés	

Zooplancton	Tintinidés
	Larves D de bivalves (indéterminées)
	Copépodes
	Foraminifères
	Gastéropodes

**Tableau 4. Composition des particules non minérales dans le lagon.**

### 3.1.2.2. Quantification



**Figure 6. Distribution de fréquences des algues dans les prélèvements d'eau. (résultats exprimés en pourcentage)**

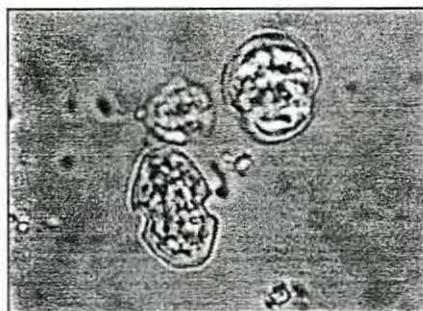
Afin de compléter l'analyse précédente, une approche quantitative a été réalisée. Les résultats des comptages sont résumés dans le tableau 5.

	22 mars			23 mars		
	16 h	18h	21h	16h	18h	21h
Dinoflagellé "sp1"	46	40	39	43	44	47
<i>Gymnodinium</i>	17	19	16	23	17	14
Dinoflagellé autre	2	1	3	5	7	8
<i>Oxytoxum</i>	3	4	3	5	7	6
<i>Prorocentrum</i>	3	4	4	2	2	3
Diatomée pennée	1	0	0	0	0	0
Diatomée centrique	0	0	0	0	0	0
Cyanophycées	1	0	0	0	0	1
Cryptophycées	1	1	1	1	1	1
Coccolithophoridés	25	31	33	21	20	19
Larve D bivalve	0	0	1	1	2	1

**Tableau 5. Résultats bruts des comptages dans l'eau  
(exprimés en pourcentage moyen par prélèvement)**

Plusieurs classes d'algues d'effectifs plus ou moins importants se dégagent de ce tableau. L'analyse des résultats de comptages montre qu'il existe un groupe de micro-algues dominant dans le lagon de Takapoto: les dinoflagellés. Cette classe est principalement composée de quatre genres: *Gymnodinium*, *Prorocentrum*, *Oxytoxum* et d'un genre non identifié qui sera nommé "sp.1"; ce genre représente environ 50 % de l'effectif cellulaire dans l'eau.

La prédominance des dinoflagellés (figure 7) dans l'eau du lagon de l'atoll de Takapoto est en accord avec les travaux de Ricard (1976) sur la composition en phytoplancton de l'eau de cet atoll.



**Figure 7. Dinoflagellés  
observés au microscope inversé**

Les Coccolithophoridés, en grand nombre, font également partie des espèces caractéristiques du lagon de Takapoto. Les effectifs cellulaires totaux sont compris entre 2520 et 6000 (résultats exprimés en nombre de cellules par litre d'eau).

## 3.2. Les nacres

### 3.2.1. Résultats bruts

#### 3.2.1.1. Composition des pseudofèces

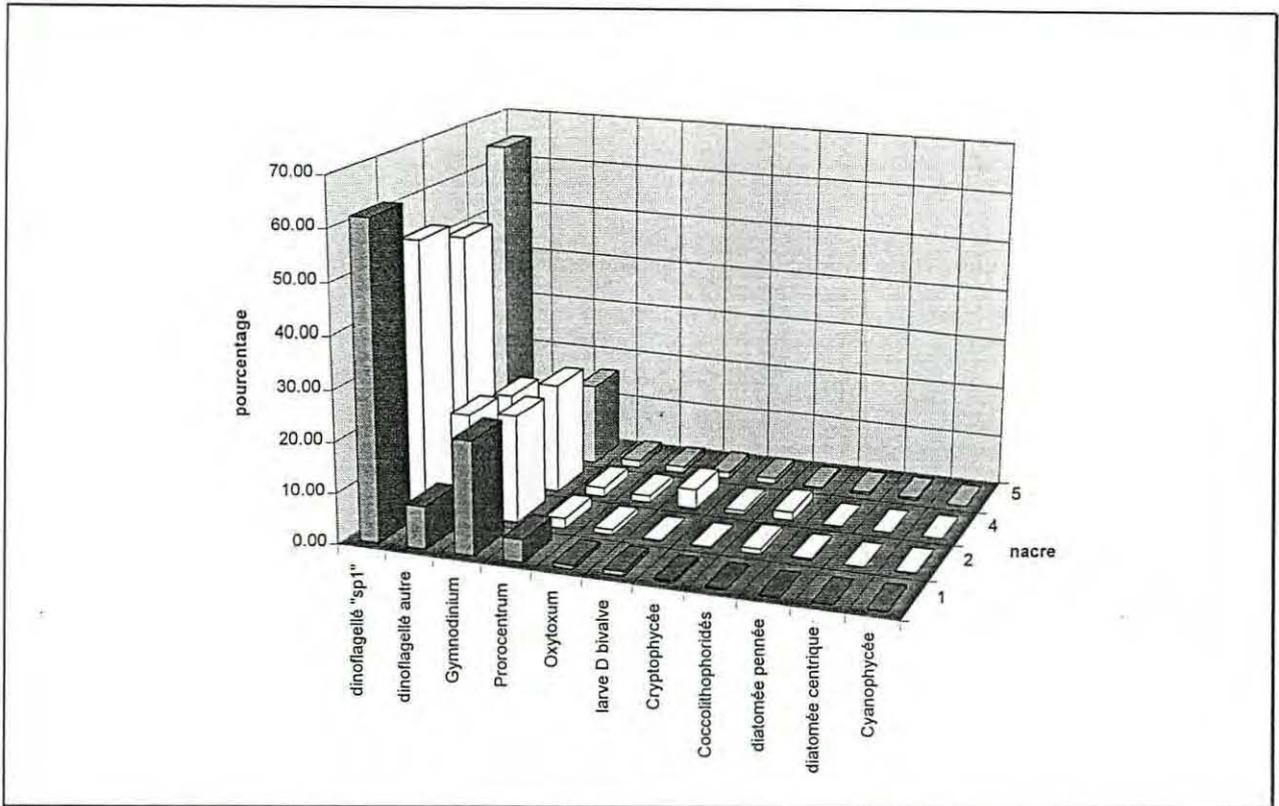
##### *Etude qualitative*

L'étude des échantillons prélevés à partir du nacromètre et en particulier les pseudofèces, a permis de mettre en évidence une grande variété de micro-organismes.

Débris végétaux: fragments et germination d'algues filamenteuses		
Débris animaux: spicules d'éponge, appendices de crustacés		
Débris minéraux: grains de sable		
Phytoplancton	Dinoflagellés	<i>Gymnodinium sp.</i>
		<i>Prorocentrum sp.</i>
		<i>Oxytoxum sp.</i>
		Dinoflagellés indéterminés
	Diatomées	D. pennées: Naviculacées, Nitzschiacées
		D. centriques
		D. indéterminées
	Cyanophycées	Cyanophycées indéterminées
Coccolithophoridés	Coccolithophoridés indéterminés	
Cryptophycées	Cryptophycées indéterminées	
Zooplancton	Larves D de bivalve	
	Tintinides	
	Copépodes	
	Foraminifères	
	Coquille de mollusque	

**Tableau 6 Composition des pseudofèces**

## Analyse quantitative



**Figure 8. Distribution de fréquences des algues dans les pseudofèces.  
(résultats exprimés en pourcentage)**

Le tableau suivant présente les résultats des comptages effectués sur chaque nacre, les comptages sont exprimés en pourcentage (du total) et ramenés à une moyenne pour chaque nacre.

	Nacre 1	Nacre 2	Nacre 3	Nacre 4	Nacre 5
Dinoflagellé "sp1"	62,00	53,66	54,23	50,03	64,97
Dinoflagellé autre	8,45	20,33	16,92	18,68	12,42
Gymnodinium	22,36	21,21	9,74	21,81	16,24
Prorocentrum	4,55	2,02	2,31	1,88	1,48
Oxytoxum	0,82	1,01	0	1,32	1,28
Larve D bivalve	0,91	0,13	2,05	3,83	1,28
Cryptophycée	0,45	0,13	0	0,77	1,07
Coccolithophoridés	0,27	1,01	12,44	1,67	0,34
Diatomée pennée	0	0,38	0,77	0	0,47
Diatomée centrique	0	0	1,54	0	0,47
Cyanophycée	0,18	0,13	0	0	0
Dinoflagellé (dégradé)	0	0	0	0	0

**Tableau 7. Résultats bruts des comptage (moyenne par nacre) en %.**

D'après cette première série d'observations sur les pseudofèces, il semble que les particules rejetées par la nacre (donc non ingérées) soient de nature très diverse et appartiennent à de nombreux genres et phylum (aussi bien végétaux qu'animaux). On constate que la nacre refuse une partie non négligeable des particules disponibles dans l'eau.

Les résultats des comptages montrent que les dinoflagellés et les coccolithophoridés constituent la majorité des particules que la nacre rejette sans les avoir ingérées. En effet les pseudofèces sont composés d'environ 70% de dinoflagellés, de 5 % de coccolithophoridés et de moins de 1 % de diatomées. Parmi les dinoflagellés la prédominance des "indéterminés" démontre le rejet massif de ce type d'algues. De plus, en fin de journée, des observations sur les nacres *in situ* ont montré que ces dernières produisaient une grande quantité de mucus et avaient un comportement anormal. La grande quantité de pseudofèces produite serait la conséquence d'une forte production de phytoplancton.

### 3.2.1.2. Les contenus stomacaux

#### *Etude qualitative*

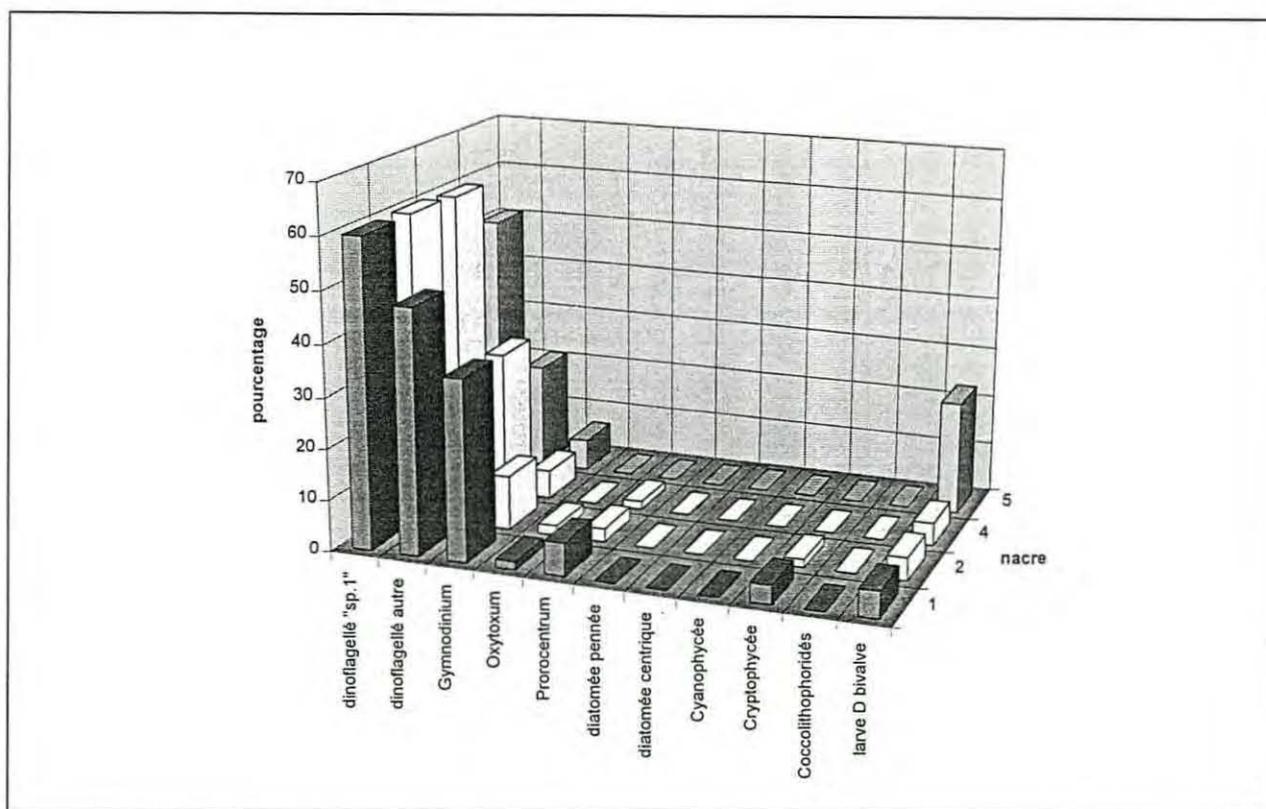
Un inventaire des micro-algues consommées par la nacre, selon leur genre, a été réalisé, permettant ainsi de déterminer les préférences alimentaires de la nacre, à un moment donné.

Les organismes rencontrés dans les contenus stomacaux ont été résumés dans le tableau ci-dessous.

Phytoplancton	Coccolithophoridés	Coccolithophoridés indéterminés		
	Cryptophycées	Cryptophycées indéterminées		
	Cyanophycées		<i>Nostoc sp.</i>	
			Cyanophycées indéterminées	
	Dinoflagellés		<i>Gymnodinium sp.</i>	
			<i>Prorocentrum sp.</i>	
			<i>Heterosigma sp.</i>	
			<i>Protoperidinium sp.</i>	
			Dinoflagellés indéterminés	
		Diatomées	centriques	indéterminées
	pennées			<i>Licmophora sp</i>
				<i>Mastogloia sp</i>
				<i>Amphipora sp</i>
				Naviculacées indéterminées
	D. pennées indéterminées			
Zooplancton	Foraminifères			
	Larves D de bivalve			
	Copépodes			
	Appendices de crustacés			

**Tableau 8. Composition des contenus stomacaux.**

## Analyse quantitative



**Figure 9. Distribution de fréquences des algues dans les contenus stomacaux. (résultats exprimés en pourcentage)**

Les comptages réalisés sur les contenus stomacaux ont été résumés dans le tableau ci-dessous.

Les huit comptages réalisés sont ramenés à une moyenne afin de considérer une distribution globale des algues dans chaque nacre.

	Nacre 1	Nacre 2	Nacre 3	Nacre 4	Nacre 5
Dinoflagellé "sp.1"	59,97	60,20	12,18	59,67	50,51
Dinoflagellé autre	19,03	18,66	2,44	28,66	20,82
Gymnodinium	14,19	10,52	1,65	5,57	6,14
Prorocentrum	2,60	2,58	0,22	1,58	0,00
Oxytoxum	0,63	1,88	0,03	0,00	0,00
Larve D bivalve	2,11	4,46	0,39	4,40	22,53
Cryptophycée	1,47	1,57	0,03	0,00	0,00
Coccolithophoride	0,00	0,14	0,03	0,00	0,00
Diatomée pennée	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00
Diatomée centrique	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Cyanophycée	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dinoflagellé (dégradé)	0,00	0,00	83,03	0,00	0,00

**Tableau 9. Résultats bruts des comptages dans les contenus stomacaux (exprimés en pourcentage).**

Une approche globale des comptages effectués sur les contenus stomacaux montre que les particules ingérées par les nacres (au moment de l'expérience) sont principalement des Dinoflagellés. En effet, plus de 80 % des micro-algues dénombrées appartiennent à ce genre, et une majorité de l'"espèce 1" non identifiée est présente. L'absence de Coccolithophoridés est remarquable et semble généralisée à toutes les nacres.

Notons qu'il existe des différences entre les individus, en particulier au niveau de la nacre 3 ou des dinoflagellés en voie de dégradation ont été observés en grande quantité. Ce type de phénomène pourrait être dû soit à une différence d'ordre physiologique soit à une erreur dans l'expérience (par exemple la fixation du matériel qui aurait été omise).

### **3.2.1.3. Les fèces**

#### *Etude qualitative*

Une observation détaillée des fèces montre qu'elles sont principalement constituées de débris en tous genres. On retrouve en grande quantité les restes des cellules qui ont été digérées, en plus des quelques algues intactes (non digérées).

#### *Analyse quantitative*

Le tableau suivant résume les comptages effectués sur les échantillons de fèces.

	Nacre 1	Nacre 2	Nacre 3	Nacre 4	Nacre 5
Dinoflagellé "sp.1"	1	1	32		1
Dinoflagellé autre			1		
Gymnodinium			9		2
Prorocentrum			15	4	
Oxytoxum		1	1		
Larve D bivalve	1				
Cryptophycée		1			
Coccolithophoridés					
Diatomée pennée					
Diatomée centrique					
Cyanophycée			1		
Dinoflagelle (dégradé)		1	103		
<b>TOTAL</b> (des 10 champs)	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>162</b>	<b>4</b>	<b>3</b>

**Tableau 10. Résultats bruts des comptages effectués sur les fèces  
(en effectifs totaux par nacre).**

Mis à part la nacre 3 qui diffère distinctement des autres par sa composition, les fèces contiennent très peu de cellules. C'est pour cette raison que l'on écartera ce type de prélèvement des tests de comparaison avec les autres échantillons. Les données concernant les fèces seront reprises dans la discussion.

### 3.2.2. La variabilité individuelle

Une série de tests du  $\chi^2$  est appliquée aux comptages moyens se rapportant à chaque nacre, afin de déterminer s'il existe ou non une différence significative entre les nacles, et ceci pour chaque type de prélèvement. Les cinq contenus stomacaux sont testés ainsi que les cinq échantillons de pseudofèces. La nacre 3 sera écartée du lot afin de ne pas ajouter une variabilité supplémentaire. Cette nacre 3 est significativement différente des quatre autres et sera traitée à part.

Les tests du  $\chi^2$  effectués sur les contenus stomacaux et sur les pseudofèces montrent qu'il n'existe pas de différence significative (au seuil de 5%) entre les nacles pour chaque type d'échantillon. Les comptages pourront donc être « poolés », ceci permettra d'obtenir un profil global pour l'eau et les deux « compartiments » de la nacre (contenus stomacaux et pseudofèces), présenté dans le tableau ci-dessous:

	Eau	Pseudofèces	Contenu stomacal
Dinoflagelle "sp.1"	43,13	58,00	60,00
Dinoflagellé autre	4,79	14,67	21,54
Gymnodinium	18,90	20,00	9,74
Prorocentrum	2,92	2,67	2,05
Oxytoxum	3,87	1,33	1,03
Larve D bivalve	0,75	2,00	4,62
Cryptophycée	0,84	0,67	1,03
Coccolithophoride	24,31	0,67	0,00
Diatomée pennée	0,13	0,00	0,00
Diatomée centriole	0,04	0,00	0,00
Cyanophycée	0,32	0,00	0,00

Tableau 11. Composition de l'eau, des pseudofèces et des contenus stomacaux. (données exprimées en pourcentage)

### 3.3. Comparaison Eau/Nacre

La comparaison des distributions de fréquences des algues dans l'eau et dans le « compartiment » Nacre montre qu'il existe une différence significative entre ces deux types de prélèvements. La valeur du  $\chi^2$  calculée pour le test global de comparaison est supérieure à la valeur seuil lue dans la table ( $\alpha = 5\%$ ). Ceci entraîne le rejet de l'hypothèse nulle du test G.

Une analyse détaillée du tableau de contingence apporte plusieurs types d'informations:

- les particules phytoplanctoniques retrouvées dans les nacles sont présentes dans l'eau mais dans des proportions différentes (résultat du test ANOVA).
- Les Coccolithophoridés représentent 24 % des cellules dénombrées dans l'eau, ces algues sont totalement absentes des contenus stomacaux et sont présentes de façon occasionnelle dans les pseudofèces.

- Aucune diatomée n'est retrouvée dans les contenus stomacaux, cependant elles représentent 0.15% des algues dans les prélèvements d'eau.
- Les Cyanophycées sont absentes des pseudofèces et des contenus stomacaux alors qu'on en trouve dans l'eau (0.32% des algues dénombrées)
- Le zooplancton (larves de bivalves) constitue 0.75% du placton de l'eau et représente 4.62% des contenus stomacaux.

## 4. DISCUSSION

### 4.1. Problèmes techniques et méthodologiques

L'utilisation du nacromètre est un moyen efficace pour récolter les fèces et les pseudofèces des nacres, cependant la séparation des deux types de biodépôts n'est pas toujours parfaite. Il peut arriver (de façon ponctuelle) que le matériel récolté soit un mélange de fèces et de pseudofèces. Soit la nacre a été mal positionnée sur le plateau, soit les pseudofèces très chargés en mucus (donc de faible densité) ont été entraînés par un faible courant d'eau. Cette situation s'est produite deux fois au cours des prélèvements.

Le problème du mélange des biodépôts a été résolu lors de l'analyse des échantillons au laboratoire. En effet, un examen minutieux des fèces et pseudofèces a permis de différencier puis de séparer ces deux types d'échantillons, grâce à des critères de couleur et de consistance. Ce tri est effectué sous la loupe binoculaire et a été appliqué aux pseudofèces de la nacre 4 et aux fèces de la nacre 5. Ceci a permis de traiter ultérieurement les échantillons qui au départ ne pouvaient être analysés à l'état brut.

Le mélange des biodépôts dans les échantillons récoltés à partir du nacromètre n'est pas gênant pour une approche qualitative; il est aisé de reconnaître et de séparer fèces et pseudofèces dans les prélèvements. Toutefois, une des solutions consisterait à rajouter une cloison sur le plateau du nacromètre afin qu'il n'y ait plus de mélange entre les fèces et pseudofèces et que les tubes collecteurs soient définitivement isolés les uns des autres.

L'étude porte sur un petit nombre de nacres ( $n = 5$ ) bien qu'au départ on dispose d'une douzaine d'individus. Des problèmes sont survenus lors de la récolte des contenus stomacaux. En effet, entre le moment où les nacres ont été émergées du site étudié et leur arrivée au laboratoire, un certain laps de temps s'est écoulé. De plus, les nacres n'ont pas pu être traitées toutes au même moment car le prélèvement des contenus stomacaux nécessite d'assez longues préparations. On a pu constater lors des prélèvements que certaines huîtres avaient déjà digéré une partie de leur contenu stomacal et ne pourraient donc pas être analysées. L'étude a donc été consacrée aux cinq nacres dont la totalité du contenu stomacal a été récupéré. Les nacres 1 à 5 ont été les premières à être manipulées et les problèmes cités précédemment n'ont pas été rencontrés lors de l'analyse au laboratoire.

En outre, les manipulations et l'expérimentation sur du matériel biologique vivant comportent des difficultés. Les animaux stressés ou bien soumis à des conditions environnementales anormales peuvent réagir de façon inattendue. C'est pour cette raison qu'il faut rester prudent sur des conclusions émises à un temps  $t$  donné. Il n'est pas à exclure que les expérimentations sur le site à Takapoto, se situent pendant un bloom de dinoflagellés. Pour avoir une idée plus précise sur le régime alimentaire des nacres il faudrait pouvoir répéter les expériences dans le temps et sur un grand nombre d'individus.

L'approche directe pour l'étude du régime alimentaire de la nacre a donc des limites liées principalement à des problèmes techniques. De plus, l'analyse d'un contenu stomacal nécessite plusieurs heures d'observations et de comptages, il en est de même pour les autres échantillons prélevés sur les nacres. Néanmoins, les préférences alimentaires de l'huître perlière ont pu être mises en évidence, ce qui jusqu'à présent n'avait jamais été réalisé sur des nacres

prélevées directement dans le lagon d'un atoll. Les études de Hautefeuille (1994) et Marchal (1993) portent sur des nacres provenant du même atoll mais mises sur des filières puis élevées dans le lagon de Vairao. L'intérêt de cette expérience est justement d'étudier les nacres et leur comportement alimentaire dans leur site naturel.

La méthode de comptages utilisée fait intervenir des observations au microscope. Or la numération cellulaire au microscope est un procédé fastidieux qui n'exclut pas les erreurs d'interprétation, en particulier dans la reconnaissance du phytoplancton. De plus, il existe un biais lors du comptage des cellules surtout dans les pseudofèces. Malgré le traitement mécanique qu'ils ont subi, il reste toujours dans les échantillons quelques amas de cellules phytoplanctoniques et de débris divers englués par du mucus. Mis à part ces différents problèmes qui ont empêché une étude quantitative précise, cette approche directe nous apporte des résultats très précieux sur le plan qualitatif pour décrire le régime alimentaire des nacres.

L'utilisation du granulomètre laser au cours de cette étude a pour but de déterminer les spectres de tailles des particules dans les échantillons prélevés à Takapoto. Habituellement utilisé pour déterminer la taille de particules solides en suspension dans un liquide ; on voulait savoir si ce genre d'appareil pouvait nous fournir une analyse plus fine de la distribution des tailles des particules dans les divers échantillons prélevés. Les résultats obtenus ont soulevés un autre problème. Cette fois-ci la difficulté de l'expérimentation se trouve dans les limites de sensibilité de l'appareil. En effet, la concentration en particules dans les échantillons est trop faible pour qu'une distribution de fréquences de tailles puisse être détectée. Cet appareil ne sera utilisable que si on apporte des modifications dans la structure même du réseau de circulation de l'eau dans l'appareil. Une dérivation du circuit permettrait sans doute de limiter le trajet des particules dans le réseau et ainsi diminuerait la dilution des particules lors de leur trajet dans les canalisations du granulomètre.

## **4.2. La composition des contenus stomacaux**

Les observations effectuées sur les contenus stomacaux d'individus provenant de Takapoto, montrent que les particules ingérées par la nacre sont des organismes phytoplanctoniques très variés (Coccolithophoridés, Cryptophycées, Cyanophycées, dinoflagellés, diatomées) avec une forte prédominance des dinoflagellés. La présence d'organismes zooplanctoniques est notable chez *Pinctada margaritifera*, il s'agit de foraminifères, de larves de bivalves et de crustacés (individus entiers ou fragments d'appendices). De la même manière, Ota (1959) a relevé une grande variété d'organismes dans les contenus stomacaux de *Pinctada fucata* dont des larves de bivalves. De plus, Chellam (1983) a observé des gastéropodes ainsi que des spores indéterminées, des nauplii et des grains de sable dans les contenus stomacaux des huîtres perlières indiennes du Golfe de Manaar.

Ces résultats qui décrivent une grande diversité d'organismes dans les contenus stomacaux concordent avec les observations de Nasr effectuées sur le genre *Pinctada* en Mer Rouge. Toutefois, Nasr (1984) décrit une forte densité de diatomées du genre *Coscinodiscus* dans l'estomac des huîtres de Dongonab Bay. Herdman (1903) a observé une concentration élevée en spicules d'éponges chez les espèces de Ceylan et décrit comme principale source de nourriture des organismes unicellulaires (infusoires, foraminifères, radiolaires). Des embryons et larves de divers animaux, des filaments algaux ainsi que des spicules d'alcyonnaires et d'éponges font également partie du régime alimentaires de l'huître perlière. Chez *Pinctada fucata*, la principale source de

nourriture d'origine phytoplanctonique est constituée de petites diatomées du genre *Chaetoceros*, *Skeletonema*, *Nitzschia* et *Thalassiosira* (Chang *et al.*, 1988).

L'analyse des contenus stomacaux de *Pinctada margaritifera* en Polynésie française, sur des nacres élevées dans le lagon de Vairao (île de Tahiti), a été réalisée par Marchal (1993) et Hautefeuille (1994). L'existence d'une sélection suivant la nature des particules alimentaires a été mise en évidence. Cependant la composition du régime alimentaire des huîtres perlières est très différente de ce qui a été observé à Takapoto. Les nacres du lagon de Vairao se nourrissent essentiellement de diatomées de petite taille (2 à 20  $\mu\text{m}$ ) et une concentration élevée en spicules d'éponges a été trouvée dans les contenus stomacaux. L'analyse de l'eau du lagon de Vairao montre que le phytoplancton est dominé par les diatomées pennées. Ceci concorde avec les observations de Sournia et Ricard (1976 b) sur les lagons des îles hautes en Polynésie puisqu'ils décrivent une dominance des petites diatomées pennées parmi le phytoplancton. De la même façon, Sournia et Ricard (1976 a) mettent en évidence la dominance des dinoflagellés dans le phytoplancton d'un atoll fermé comme Takapoto. Ces remarques sont capitales pour conclure à propos du régime alimentaire de la nacre. En effet, les algues retrouvées en plus grande quantité dans l'estomac des nacres sont celles qui dominent dans l'eau environnant les animaux.

### 4.3. La sélection des particules

Le test du  $\chi^2$  a permis de mettre en évidence une différence significative entre les échantillons d'eau et les prélèvements effectués sur les nacres. De plus, l'analyse de la variance montre que, pour la majorité des algues répertoriées, la composition des contenus stomacaux et des pseudofèces diffère significativement de celle de l'eau. Le matériel ingéré par les nacres ne contient donc pas la même proportion de particules que l'eau filtrée par les branchies. Ces résultats confirment donc l'hypothèse d'une sélection des particules chez *Pinctada margaritifera*.

L'étude de la sélection des particules chez les bivalves est réalisée en comparant la proportion des algues dans les pseudofèces et dans l'eau. Des analyses menées par l'ORSTOM et l'IFREMER ont montré que les huîtres perlières ne consomment pas ou peu de bactéries et de Cyanophycées (Dufour et Torretton, 1994). L'étude n'a porté que sur les particules de taille supérieure à 5  $\mu\text{m}$ . En effet, on peut être certain de la sélection des particules uniquement lorsque l'animal a produit des pseudofèces. Les mécanismes impliqués dans la sélection sont encore très peu connus, cependant les observations suivantes doivent être prises en compte: (1) la sélection des particules n'est démontrée que lorsque des pseudofèces sont produites. Sous un certain seuil de concentration en particules, il n'y a pas de production de pseudofèces; toutes les particules retenues par les branchies sont ingérées sans discrimination. (2) Les particules ingérées se trouvent en solution tandis que les particules rejetées sous forme de pseudofèces sont engluées de mucus (Kiorboe et Mohlenberg, 1981).

De plus, les auteurs demeurent très partagés en ce qui concerne la théorie de la sélection des particules chez les Lamellibranches. Certains défendent l'idée de sélection des particules chez les bivalves suspensivores (Yonge, 1926; Atkins, 1936; Jorgensen, 1966). D'autres sont partisans d'une absence de sélectivité chez *Pinctada margaritifera*. Nasr (1984) démontre que l'huître perlière est capable d'ingérer une grande variété de formes phytoplanctoniques. De plus, Churchill et Lewis (1924) ainsi que Nelson (1924), lors de leur étude sur la nutrition de l'huître, montrent que les petites particules sont ingérées indépendamment de leur valeur nutritive. D'après les résultats obtenus sur les nacres de Takapoto, la sélection des particules se trouvant

dans l'eau est vérifiée chez *Pinctada margaritifera*. Cela ne semble pas contradictoire avec la possibilité pour la nacre de consommer des algues très variées.

Les bivalves filtreurs suspensivores trient les particules suivant un critère de taille (Jorgensen, 1966). Chez *Pinctada margaritifera* provenant de Takapoto, les critères de taille ont été étudiés. Les contenus stomacaux sont principalement composés de Dinoflagellés ("espèce 1" indéterminée) dont la taille moyenne est de 15  $\mu\text{m}$ . Les autres catégories d'algues ont leur dimension comprise entre 10 et 30  $\mu\text{m}$ .

#### **4.4. La composition des pseudofèces**

Les pseudofèces des nacres de Takapoto sont composées d'une majorité de dinoflagellés et en particulier de l'espèce 1 (non identifiée) et de *Gymnodinium*. Ce type de prélèvement comprend également une grande quantité de débris organiques et minéraux de taille et de forme très variées.

Selon Newell et Jordan (1983), les pseudofèces ne sont pas simplement composées des cellules qui ont été triées puis rejetées par l'huître. Les pseudofèces comprennent aussi des cellules qui se trouvent en excès dans le milieu.

## CONCLUSION

Les principaux objectifs de cette étude ont été atteints; il s'agissait de mettre au point les techniques de prélèvements et d'analyses mais aussi de soulever tous les problèmes méthodologiques inhérents à ces techniques. Ceci afin d'expérimenter des solutions aux problèmes existants.

De plus, l'étude de la composition du lagon de Takapoto a été menée à son terme. Les résultats montrent une dominance des dinoflagellés dans l'eau et la présence de Coccolithophoridés en proportions non négligeables par rapport au nombre total de cellules dénombrées. Les diatomées (tous genres confondus) sont peu présentes mais caractérisées par une grande diversité générique.

Le régime alimentaire de l'huître perlière a également été appréhendé. Les observations faites sur les contenus stomacaux ont permis de répertorier les principales algues dont la nacre se nourrit. *Pinctada margaritifera* consomme des dinoflagellés qui sont également dominants dans l'eau.

La question du critère de sélection n'a pu être élucidée, toutefois on dispose de quelques éléments de réponse qui s'avéreront très utiles dans le cas d'une poursuite de l'étude. La sélection chez *Pinctada* a été démontrée puisque les distributions de fréquence des algues entre l'eau et les nacres sont différentes. De plus, on ne retrouve pas de Coccolithophoridés dans les estomacs des huîtres perlières. On en déduit que la nacre effectue un tri des particules selon des critères qui restent à déterminer. L'analyse factorielle des correspondances est une technique appropriée pour traiter ce genre de problèmes et permettrait de mettre en évidence les critères de sélection des particules.

Il serait également très intéressant d'aborder le sujet d'un point de vue quantitatif et de déterminer le taux de filtration de chaque individu étudié. Le dénombrement des cellules est fastidieux et n'est pas fiable à 100% puisqu'il fait intervenir un biais lié à l'expérimentateur. Une autre approche des comptages des cellules phytoplanctoniques pourrait être entreprise notamment avec l'utilisation d'un analyseur d'images.

## RESUME

L'étude du régime alimentaire de l'huître perlière *Pinctada margaritifera* a porté jusqu'à présent sur des animaux élevés dans le lagon d'une île haute (Vairao, île de Tahiti).

L'intérêt de ce travail est d'étudier les huîtres perlières dans leur milieu d'origine, c'est à dire le lagon d'un atoll (Takapoto). L'analyse détaillée de la composition de l'eau a permis dans un premier temps de préciser les espèces du phytoplancton dont l'huître perlière dispose pour se nourrir. Puis la comparaison de la composition floristique de l'eau avec les prélèvements effectués sur les nacres (contenus stomacaux, fèces et pseudofèces) a permis de déterminer le régime alimentaire de *Pinctada margaritifera*. Elle consomme principalement des Dinoflagellés. De plus, un phénomène de sélection a été mis en évidence chez la nacre.

Pour cette étude, des protocoles de prélèvement spécifiques et d'analyse ont été mis au point.

## ABSTRACT

Until now, the diet preferences study of the pearl oyster *Pinctada margaritifera* was carried out on animals maintained in the peripheric lagoon of a volcanic island (Vairao, Tahiti).

In this study, the diet was assessed in the natural habitat of the pearl oyster (lagoon of the Takapoto atoll).

Analysis and sampling procedures were specifically adapted to the method of data analysis employed.

The phytoplanktonic species panel available for the pearl oyster was determined by the detailed analysis of water samples. The midgut contents, faeces and pseudofaeces were compared between each oyster and with the seawater floristic composition. The pearl oyster was found to actively select its food.

- Jones H. D., Allens J.R., 1986. Inhalant and exhalant pressures in *Mytilus edulis* (L.) and *Cerastoderma edule* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 98: 231-240.
- Jorgensen C. B., 1990. Water processing in filter-feeding bivalves. In *Behavioural Mechanisms of Food Selection*. NATO ASI Series, Subseries "Ecological Sciences", (Hughes Ed), Springer, Heidelberg, New York.
- Kellog J. L., 1915. Ciliary mechanisms of lamellibranchs with description of anatomy. *J. Morphol.*, 26: 625-701.
- Kiorboe T., Mohlenberg F., 1981. Particle selection in suspension-feeding bivalves. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 5: 291-296.
- Marchal G., 1993. L'huître perlière, étude du contenu stomacal. Rapport de stage, Institut Supérieur Technique d'Outre Mer. 53 pp.
- Menzel R. W., 1955. Some phases of the biology of *Ostrea equestris* Say and a comparison with *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Publ. Inst. mar. Sci. Univ. Tex.*, 4 (1): 73-148.
- Moore H. F., 1910. Volumetric studies of the food and feeding of oysters. *Bull. U.S. Bur. Fish.* 28: 1295-1308.
- Morton B., 1983. Feeding and digestion in bivalvia. In *The Mollusca*, 5: 65-147. (K.M. Ed).
- Nasr D. H., 1984. Feeding and growth of the pearl oyster *Pinctada margaritifera* (L.) in Dongonab Bay, Red Sea. *Hydrobiologia*, 110: 241-245.
- Nelson C., 1924. Food and feeding of the oyster. Report of the Department of Biology of the New Jersey Agricultural College Experiment station, New Brunswick, New Jersey, for the year ending June 30, 1923. Published by the St Trenton, New Jersey, pp. 197-199.
- Ota S., 1959a. Studies on feeding habits of *Pinctada martensii*. II. Seasonal changes in amount of faeces. *Bull. Natl. Pearl Res. Lab.*, 5: 429-433.
- Ricard M., Gueredrat J. A., Magnier Y., Renon J. P., Rochette J. P., Rougerie F., Sournia A., Wauthy B., 1979. Le plancton du lagon de Takapoto. *J. Soc. Océan.*, 35(62): 47-67.
- Ricard M., 1987. Diatomophycées. In *Atlas du phytoplancton marin*, Volume 2, 297 p. Editions du CNRS.
- Scherrer B., 1984. *Biostatistique*, 850 p., Morin G. Ed, Québec.
- Shumway S. E., Cucci T. L., Newell R. C., Yentsch C. M., 1985. Particle selection, ingestion and absorption in filter-feeding bivalves. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 91: 77-92.
- Sournia A., 1986. Cyanophycées, Dictyophycées, Dinophycées, Raphidophycées. In *Atlas du phytoplancton*, Volume 2, 219 p. Editions du CNRS.
- Sournia A., Ricard M., 1976 a. Données sur l'hydrobiologie et la productivité du lagon d'un atoll fermé (Takapoto, îles Tuamotu). *Vie Milieu*, vol. XXVI, fasc 2, série B: 243-279.
- Sournia A., Ricard M., 1976 b. Phytoplancton and its contribution to primary productivity in two coral reef areas of French Polynesia. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 21: 129-140.
- Taylor F. J. R., 1976. Dinoflagellates from the International Indian Ocean Expedition. A report on material collected by the R.V. "Anton Bruun" 1963-1964. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung Ed (Nagele u- Obermiller) Stuttgart.
- Yonge C. M., 1923. Studies on the comparative physiology of digestion. 1. The mechanisms of feeding, digestion, and assimilation in the Lamellibranch *Mya*. *Br. J. exp. Biol.*, 1: 15-63.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Atkins D., 1936. On the ciliary mechanisms and interrelationship of Lamellibranchs. Part I : Some new observations on sorting mechanisms in certain lamellibranchs. *J. microsc. Sci.*, 79: 181-308.
- Bernard F., 1994. Contribution à l'étude du mécanisme de filtration chez l'huître perlière *Pinctada margaritifera* (L.) var. *cumingii* (Jameson). Rapport de D.E.A., Université Française du Pacifique, 36 p.
- Buestel D., Jonquières G., Tiapari J., 1992. Résultats préliminaires sur la nutrition des huîtres perlières. Rapport interne I.F.R.E.M.E.R./C.O.P.
- Buestel D., Pouvreau S., 1994. Programme Général de Recherche sur la Nacre. Action de recherche Croissance-Milieu. REF?
- Chang M., Hong J. S., Huh H. T., 1988. Environmental Conditions in the Pearl Oyster Culture Grounds And Food Organisms of *Pinctada martensii* (Dunker). *Ocean Research* 10 (1): 67-77.
- Charpy L., Blanchot J., Lo L., 1992. Contribution des Cyanobactéries (*Synechococcus* sp.) à la production phytoplanctonique dans un lagon d'atoll fermé (Takapoto, Tuamotu, Polynésie française). *C. R. Acad. Sc.*
- Chellam A., 1983. Study on the stomach contents of pearl oyster *Pinctada fucata* (Gould) with preference to the inclusion of bivalve eggs and larvae. *Proc. Symp. Coastal Aquaculture, Mar. Biol. Ass. India, Pt. II* : 604-607.
- Chevalier J. P., Denizot M., Ricard M., Salvat B., Sournia A., Vasseur P., 1979. Géomorphologie de l'atoll de Takapoto. *J. Soc. Océan.*, 62 (35): 1-18.
- Chrétiennot-Dinet M. J., 1990. Cryptophycées. In *Atlas du phytoplancton marin, Volume 3*, 261 p. Editions du CNRS.
- Churchil E., Lewis I., 1924. Food and Feeding in feshwater mussels. *Bull. U.S. Bur Fish.*, 39: 439-471.
- Crisp D. T., Mann R. H. K., Mc Cormack J. C., 1978. The effects of impoundment and regulation upon the stomach contents of fish at Cow Green, Upper Teesdale. *J. Fish. Biol.*, 12:287-301.
- Dagnélie P., 1975. *Théorie et méthodes statistiques. Vol 1, 378 pp. Vol. 2, 463 pp.* Les presses agronomiques de Gembloux.
- Delesalle B., 1990. *Ecologie du phytoplancton des lagons de Polynésie Française. Thèse de doctorat, 214 p.* Ecole Pratique des hautes Etudes.
- Deslou-Paoli J. M., 1987. *Alimentation et digestion chez les bivalves. Rapport National Ecosystème Conchylicole IFREMER:1-43.*
- Hasle G. R., 1978. The inverted- microscopy method. In *Phytoplankton manual*, 337 p, Sournia Ed. Museum d'histoire Naturelle, Paris.
- Hautefeuille F., 1994. Aspects économiques et techniques de la perliculture en Polynésie française. Contribution à l'étude de l'alimentation de l'huître perlière *Pinctada margaritifera*. Rapport de stage, Institut Supérieur technique d'Outre Mer. 48 pp.
- Herdman W. A., 1903. Observations and experiments on the life-history and habits of the pearl oyster. In *Report to the government of Ceylon on the pearl oyster fisheries of the gulf of Manaar. The Royal Society, London*, 1: 1-307.
- Jamoneau C., 1993. Evaluation et caractérisation de la matière en suspension dans la colonne d'eau, après filtration différentielle, au cours d'un cycle mortes eaux-vives eaux. Rapport de stage. Institut Universitaire de Technologie- Biologie Appliquée. La Rochelle.