

ANALYSE DU CIRCUIT D'ALIMENTATION EN EAU DE MER  
DE L'ECLOSERIE DU L.P.G.I.M. RONCE LES BAINS.

RAPPORT INTERNE DE STAGE (1987)

effectué par Christian DUFY

sous la direction de Messieurs H. GRIZEL  
et T. NOEL



ANALYSE DU CIRCUIT D'ALIMENTATION EN EAU DE MER  
DE L'ECLOSERIE DU L.P.G.I.M. RONCE LES BAINS.

RAPPORT INTERNE DE STAGE (1987)

effectué par Christian DUFY

sous la direction de Messieurs H. GRIZEL  
et T. NOEL

## REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à l'égard de Messieurs Henri GRIZEL (Directeur de la Station IFREMER La Tremblade), Maurice HERAL (Chef du Laboratoire National Ecosystèmes Conchylicoles) et Thierry NOEL (chercheur) pour m'avoir accordé toute leur confiance lors de ce stage de formation.

Je remercie l'ensemble de l'équipe de la station pour leur soutien permanent et avec laquelle j'ai eu grand plaisir à travailler.

J'adresse également mes remerciements à Messieurs Daniel RAZET, Jean PROU ainsi que Madame Jacqueline GARNIER qui ont bien voulu consacrer une partie de leur temps pour m'aider et sans qui de nombreuses analyses et interprétations n'auraient pu se faire rapidement.

Je ne saurais oublier les thésards pour leurs multiples conseils avisés ainsi que Sylvie TAILLADE qui a eu la gentillesse de dactylographier ce rapport.

## SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION.....	1
INSTALLATION ET CONCEPTION DE L'ECLOSERIE.....	2
MATERIELS ET METHODES.....	4
Analyses hydrologiques.....	5
Température - salinité.....	5
Oxygène dissous.....	5
pH.....	7
Analyses particulières.....	8
Turbidité.....	8
Nombre de particules.....	8
Analyses biochimiques.....	11
Protocoles.....	11
RESULTATS.....	31
DISCUSSION.....	56
Analyses hydrologiques.....	56
Température.....	56
pH.....	57
Salinité.....	57
Oxygène dissous.....	57

Analyses particulières.....	61
Turbidité.....	61
Nombre de particules.....	62
Analyses biochimiques.....	65
Chlorophylle a et phéopigments a.....	65
Protides, lipides, glucides.....	67
Sels nutritifs.....	68
EAU DE FORAGE.....	69
TRAITEMENT DES DONNEES.....	72
CONCLUSION.....	74
BIBLIOGRAPHIE.....	75

## INTRODUCTION

Compte tenu des maladies endémiques et épizootiques qui affectent le cheptel conchylicole, il s'avérait impératif pour l'IFREMER de créer un pôle scientifique axé sur ce programme précis, et ce, parallèlement à un développement des moyens d'investigations en génétique.

La Laboratoire de Pathologie et de Génétique des Invertébrés Marins situé à Ronce les Bains, opérationnel depuis Juillet 1986, doit répondre à cette double vocation.

La réalisation de programmes de pathologie expérimentale et de manipulations génétiques en continu sur des animaux invertébrés marins (mollusques, crustacés) dépend étroitement d'une éclosérie dont la mise en service partielle ne date que de Juin 1987.

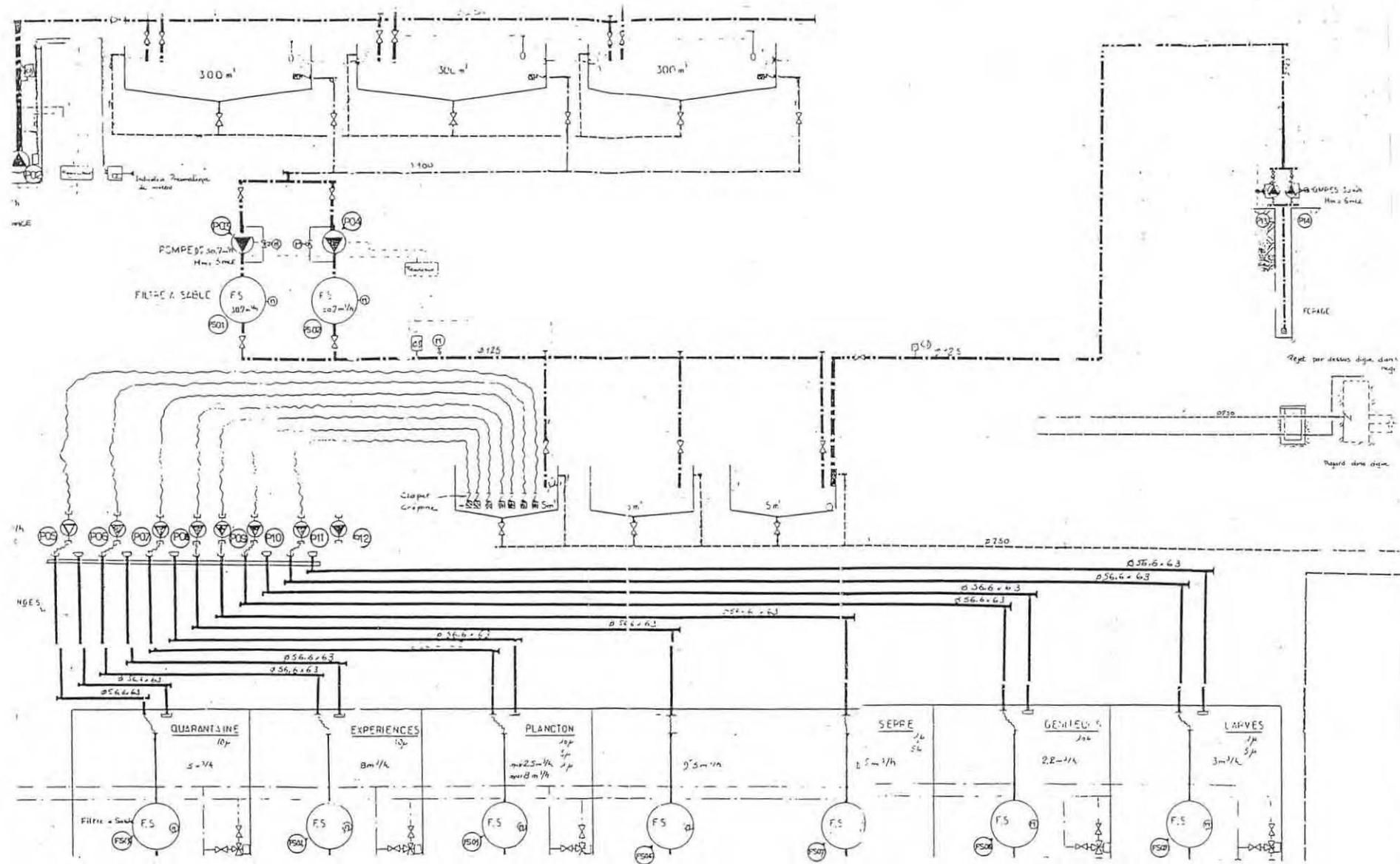
Après 1 mois de fonctionnement, il devenait possible de commencer des analyses hydrologiques et biochimiques élémentaires afin d'établir les caractéristiques de référence et de déceler d'éventuelles anomalies de conception.

### Optique de ce rapport

Cette étude préliminaire a été réalisée au cours de 7 semaines et se base sur 21 relevés successifs (du 15 Juillet au 11 Août 1987).

Elle visait essentiellement à mettre en place une méthodologie d'analyse la plus directe possible et propre à visualiser ultérieurement, par rapport aux données premières, une évolution des différents paramètres étudiés. Ceci, tant en fonction du vieillissement des circuits que des fluctuations des paramètres estuariens ou bien encore selon les modifications susceptibles d'être apportées aux installations.

Par conséquent, ce rapport est construit de manière à permettre la réalisation de nouvelles expériences dans des conditions similaires. Dans un but évolutif, il sera donc possible de reprendre les données et d'y avoir accès sur le matériel informatique en un minimum de temps.



LEGENDE

- Distribution Eau de Mer, Réseau Extérieur
- Distribution Eau de Mer, Réseau Intérieur
- Distribution Eau de Mer, Réseau Extérieur Entier - Lot V.R.D
- Rejet Eau de Mer des Bassins de Stockage - Lot V.R.D
- Rejet Eau de Mer des Salles Humides - Lot V.R.D
- Rejet Eau de Mer des Salles Humides.

FIGURE 1 : SCHEMA SYNOPTIQUE DU RESEAU D'ALIMENTATION EN EAU DE MER DE L'ECLOSERIE.

## INSTALLATION ET CONCEPTION DE L'ECLOSERIE

### Approvisionnement en eau de mer (cf tableau synoptique)

L'eau alimentant l'écloserie est de l'eau de mer naturelle, pompée au milieu de l'estuaire de la Seudre au moyen d'une canalisation de 368 mètres de long, protégée par une crépine évitant la pénétration de corps de taille supérieure à 10 cm.

De par sa position, cette prise d'eau ne permet de pomper l'eau que lorsque le niveau de la mer est au-dessus du niveau de mi-marée.

Cet apport cyclique et la nécessité de laisser sédimenter les particules fines imposent la présence de bassins de décantation. Ce sont des bacs à ciel ouvert de 300 m<sup>3</sup> dans lesquels l'eau est stockée durant 24 heures.

Ce n'est qu'après cette étape que l'eau transite à travers un filtre à sable (Triton) de porosité 40 µm, vers un bac de 5 m<sup>3</sup>, lui-même à découvert.

L'eau est ensuite pompée de manière indépendante vers chacune des 6 salles intérieures de l'écloserie.

Les salles sont équipées de filtres à sable (Triton) de porosité 10 µm au travers desquels l'eau accède aux canalisations internes.

Une dernière filtration sur cartouche de plus faible porosité (1 µm) est effectuée avant le remplissage des bacs.

### Remplissage des bacs extérieurs

Le remplissage des différents bacs est géré automatiquement en fonction de la hauteur de la marée et du niveau de l'eau dans chaque bassin, grâce à des contacteurs étanches à renversement qui mettent en route les différentes pompes.

Il est possible de pomper de l'eau décantée dans un bassin de 300 m<sup>3</sup> tandis que la sédimentation s'opère dans l'autre.

#### Eau de forage

L'eau de mer provenant d'un puits de forage de 120 mètres de profondeur a également été testée. Elle doit servir ultérieurement à des essais de production d'algues compte tenu de ses caractéristiques physico-chimiques (T° constante, sels nutritifs, concentration élevée en ammoniacque, absence de micro-organismes). Le forage traverse une couche calcaire et pompe l'eau ayant percolé au travers d'une strate sableuse. Elle est canalisée vers un des bacs de 5 m<sup>3</sup> puis dirigée vers la serre (cf tableau synoptique).

## MATERIELS ET METHODES

### Conditions de prélèvements

Les prélèvements sont effectués dans des flacons plastique de 0,5 litre à bouchon vissé. Ceux-ci sont rincés à l'eau douce puis à l'eau distillée.

- Bassins extérieurs de 300 m<sup>3</sup>

L'eau est prélevée à 2 mètres de profondeur au moyen d'une bouteille à prélèvement de type Néréide puis transvasée dans les flacons. Les imprécisions dues à la couche superficielle (eau de pluie, impuretés) sont ainsi évitées.

- Bac de 5 m<sup>3</sup>

L'eau est prélevée à son arrivée dans le bac.

- Salles humides

Après avoir purgé le circuit interne, on échantillonne l'eau par le tuyau d'évacuation de sécurité qui est situé près du filtre à sable.

Il est nécessaire d'effectuer ces opérations en un minimum de temps afin de minimiser les variations des caractéristiques de l'eau et notamment de la température.

### Codage utilisé pour identifier les échantillons

- I = Bac 300 m<sup>3</sup> sans décantation
- II = Bac 300 m<sup>3</sup> décanté 24 h
- 3 = Bac 5 m<sup>3</sup>
- Q = Salle quarantaine
- Ex = Salle Expériences
- PY = Salle phytoplancton
- EI = Salle élevages larvaires (géniteurs)
- M = Salle maturation (prélevage, larves)
- S = Serre
- F = Eau de forage

## ANALYSES HYDROLOGIQUES

### - Température - Salinité

La même sonde est utilisée (Modèle conductometer LF 191 WTW). Elle permet une lecture directe et immédiate sans calibration préalable. Il suffit de rincer à l'eau distillée entre chaque mesure et de la sécher avant rangement.

Température en °C

Salinité en ‰ (g/l)

### - Oxygène dissous

La sonde utilisée (oxymeter OXI 191 WTW) requiert une calibration quotidienne.

Afin d'avoir une stabilisation rapide de la mesure, mettre l'appareil sous tension (position "Standby") au moins 15 minutes avant l'étalonnage. Il faut également afficher la pression atmosphérique (position "mbar") avec le bouton "mbar".

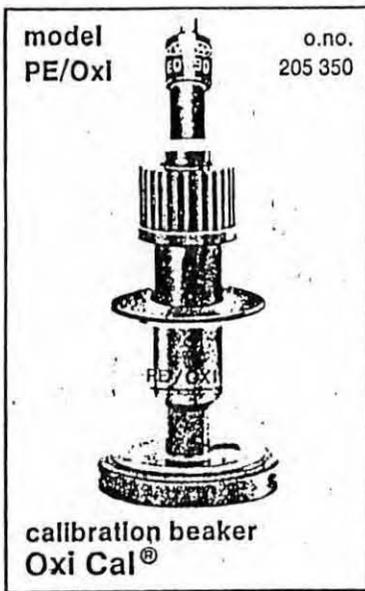
\* Etalonnage : 2 types d'étalonnages sont possibles

1) Etalonner de manière très précise la sonde à partir de la solution suivante :

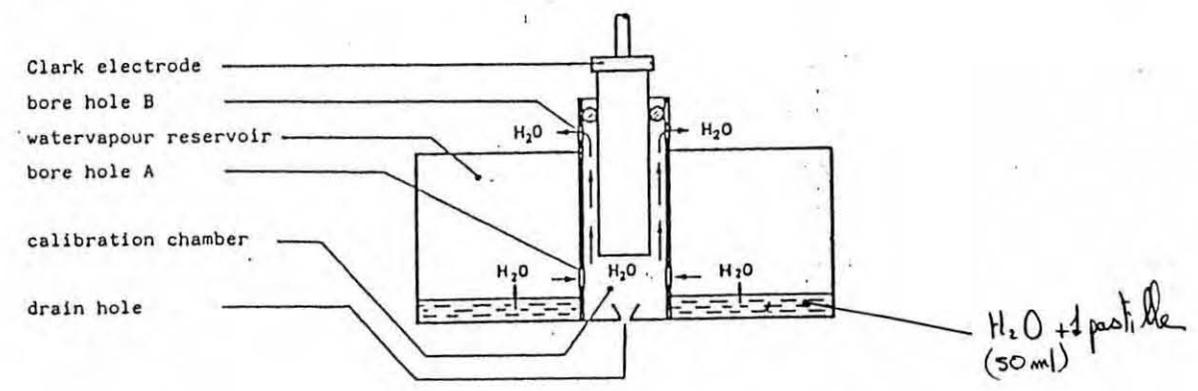
- 1 pastille limitant le développement bactérien
- 50 ml H<sub>2</sub>O

5 ml de cette solution sont versés dans l'appareil de calibration rapide ("Oxycal"). Introduire la sonde et régler à 102 ‰ de saturation sur la position "‰ Sat" avec le bouton "Steilheit Slope". Pour plus de précision, se reporter à la procédure donnée dans le mode d'emploi de l'appareil.

2) Etalonnage rapide quotidien à partir de l'oxygène de l'air à une salinité de 0 ‰ (cf graphique p 6). Il suffit ici d'introduire la sonde



13. construction of OxiCal<sup>R</sup> beaker (fig. 1)



- 4 p -

calibration value  
(% sat.)

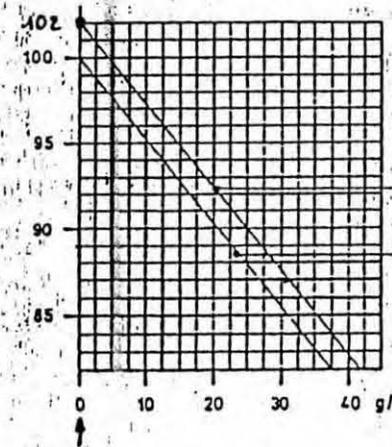


diagram 1

salt content correction, calibration  
value to be adjusted in relation to  
salt content

quick calibration with  
OxiCal<sup>R</sup>

conventional calibration

table 1

determination of salt content via conductivity measurement

dans l'appareil de calibration "Oxycal" après avoir été rincée et séchée.  
Régler sur 102 % de saturation.

La sonde est stockée dans une ampoule d'eau distillée.

Unités :  $O_2$  en mg/l (ppm) (position mg/l)  
 $O_2$  en pourcentage de saturation (% sat)

NB : La fiabilité de l'appareil entre les mesures en mg/l et en % de saturation a été vérifiée (voir résultats)

Un enregistrement du % de saturation de l'oxygène dissous a été fait en continu sur 60 heures en salle de quarantaine.

L'expérience a été menée avec une sonde Orbisphère (oxygen indicator modèle 2714) et une imprimante à stylet.

#### - pH

On mesure l'acidité de l'eau avec une sonde (pHmètre) qui doit être réétalonnée avant chaque série de mesures (Crison, pH/mV 506) :

- Régler à la température de l'eau testée (20°C)
- Etalonner à partir de la solution de pH = 7,02 avec le bouton "étalonnage" puis à partir de la solution de pH = 4,00 avec le bouton "% slope".
- Entre chaque lecture, rincer à l'eau distillée et sécher la sonde.

## ANALYSES PARTICULAIRES

### - Turbidité

La turbidité est mesurée à l'aide d'un turbidimètre (HACH Modèle 2100A) qui exprime les valeurs en unité NTU. L'ampoule calibrée à 10 NTU a été retenue comme étalon adéquat compte tenu de la turbidité présente dans l'eau de l'écloserie. L'appareil étant très sensible, il faut veiller à la propreté du tube et du puits.

Une homogénéisation de l'échantillon est nécessaire pour effectuer la mesure.

### - Nombre de particules

#### \* Préparation des échantillons

L'appareil utilisé est un coulter counter TA 11 avec une sonde de 50  $\mu\text{m}$ . Juste avant de faire la mesure, les 100 ml d'échantillon sont agités et filtrés sur un tamis de 25  $\mu\text{m}$  pour éviter le colmatage de l'orifice de la sonde. Il est préférable de faire l'analyse dans les 2 heures qui suivent le prélèvement afin de limiter le développement bactérien (Laborde et al., 1986).

#### \* Préparation du blanc

Le blanc est réalisé à partir d'une eau la moins chargée en particules possible (un des échantillons) et devra être soustrait aux comptages ultérieurs. Il représente le "bruit de fond" de l'eau testée.

Filtrer au moins 250 ml sur 2 membranes de cellulose Sartorius (type SM 11306 format 47) de 0,45  $\mu\text{m}$  superposées.

Repasser 3 fois la même eau sur les mêmes filtres.

Enregistrer 3 comptages du "blanc".

\* Étalonnage

Il se fait à partir du "blanc" auquel on ajoute 2 gouttes d'une solution de pollen calibré à 3,07  $\mu\text{m}$ .

On recherche à l'aide du trimer, le même effectif en particules sur les canaux 7 et 8. Le comptage de nature électronique nécessite un étalonnage sur une eau de même salinité (électrolyte).

\* Principe de correction à l'étalonnage

$$T' = \left( \frac{\phi \text{ pollen}}{\phi \text{ canal 7.8}} \right)^3 \times T$$

T = valeur du "trimer" qui donne le même effectif sur les canaux 7 - 8.

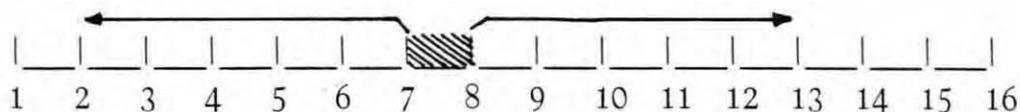
T' = nouvelle valeur du "trimer" à afficher.

$$\text{ex : } \left( \frac{3,07 \mu\text{m}}{3,1 \mu\text{m}} \right)^3 \times 232,15 = 225,47$$

en fait, avec la sonde 50  $\mu\text{m}$ , le rapport  $\frac{3,07 \mu\text{m}}{3,1 \mu\text{m}} = 0,99$

et on peut conserver la première valeur de trimer (ce n'est pas le cas des sondes d'orifice supérieur).

On peut considérer qu'avec un étalonnage sur les canaux 7 - 8, la précision est correcte.



On n'utilise pas le canal 1 (bruit de fond trop important) et les canaux 14 à 16 ont fréquemment un effectif inférieur à 100 qui n'est pas considéré comme significatif.

Autres réglages : impédance = 8-40 K

temps de comptage = 5,2 s

volume compté/mesure = 0,05 ml (sonde 50  $\mu$ l)

\* Comptage

Les résultats sont exprimés en nombre de particules par canal lorsqu'on travaille sur la position POP.

Correspondance des canaux pour la sonde 50  $\mu$ m

1	(	0,6 $\mu$ m
2	(	0,8 $\mu$ m
3	(	1,0 $\mu$ m
4	(	1,2 $\mu$ m
5	(	1,5 $\mu$ m
6	(	1,9 $\mu$ m
7	(	2,4 $\mu$ m
8	(	3,1 $\mu$ m
9	(	3,9 $\mu$ m
10	(	4,9 $\mu$ m
11	(	6,1 $\mu$ m
12	(	7,7 $\mu$ m
13	(	9,7 $\mu$ m
14	(	12,3 $\mu$ m
	(	15,5 $\mu$ m

On fait 3 comptages pour purger la sonde entre les échantillons avant d'en enregistrer 3 successifs.

\* Calculs

Pour chaque échantillon il faut calculer :

- la moyenne des 3 comptages
- retirer à toutes les moyennes, la moyenne du "blanc"

Ceci ce fait sur le matériel informatique (voir § traitement des données).

ANALYSES BIOCHIMIQUES

- Préparation

Pour le dosage des protides, lipides, glucides, la préparation est la suivante :

- prélèvement
- filtration sur membranes fibre de verre (Whatman GFC 0,45 $\mu$ m 4 - 7 cm réf. 5557) calcinées au four à 450°C pendant 1 h.
  - 250 ml pour les protides et glucides
  - 500 ml pour les lipides
- 3 tubes sont nécessaires par échantillon
- les filtres sont conservés dans des tubes à essais au congélateur (- 30°C)

Types de tubes utilisés

Protides : tubes cristal en plastique L : 110  
(chez Labo Express Service)

Glucides : tubes 22 x 100 polypropylène (réf. 268)  
(chez Labo Express Service)

Lipides : tubes à hémolyse  
épaisseur 9.10  
12.13 x 100 verre sodocalcique

Ces tubes doivent être bouchés.

- Méthodes utilisées

Analyse des protides selon Lowry (1951)

Analyse des lipides selon Marsh & Weinstein (1966)

Analyse des glucides selon Dubois (1956)

Les protocoles exposés dans les pages suivantes m'ont été gracieusement communiqués par Mr D. Razet, IFREMER La Tremblade.

DOSAGE DES PROTEINES DISSOUTES OU  
PARTICULAIRES D'APRES LA METHODE DE LOWRY (1951)

---

Dans le but de mieux évaluer l'apport nutritif du milieu aux mollusques, spécialement aux huîtres, et de compléter les connaissances apportées par les dosages de l'ATP des chlorophylles et simultanément des sels biogènes, il nous est apparu intéressant pouvoir mesurer l'apport en protéines soit particulières soit dissoutes dans l'eau de mer.

METHODE UTILISEE

D'après la méthode de LOWRY et collaborateurs appliquée aux sérums humains, il nous a été possible de déceler les traces contenues dans l'eau de mer en augmentant les proportions de réactif.

REACTIF

(A) 2 % de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dans NaCl 0,1 N (4 g/l)

(B) 0,5 % de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  E.D.

(B') sol. tartrate de K ou Na à 1 %

(C) solution alcaline de cuivre préparée comme suit :

50 cc de solution A + 1 cc de solution B + 1cc B'. Cette solution doit être préparée tous les jours car peu stable.

(D) réactif de Folin et Ciocalteu

Vérifier le titre de la solution du commerce (sigma) et la ramener à N par dilution avec de l'eau distillée (titrer avec NaOH et phénol phtaleine). Il est courant de diluer 2 fois la solution du commerce.

## PROTEINES TOTALES (particulaires et dissoutes)

### Mode opératoire

Dans des tubes de 10 à 15 ml, introduire 1 cc d'eau à analyser, ensuite aditionner en agitant rapidement 5 ml de réactif C, attendre 10 minutes puis, en agitant vigoureusement, on ajoute 0,5 ml du réactif D ; on attend alors 30 mn.

La lecture s'opère ensuite au spectrophotomètre à 750 nm sur cellule de 20 à 50 mm suivant les appareils.

Nous comparons ensuite nos résultats à ceux fournis par des solutions étalons préparées à partir d'albumine de boeuf (fourniture Sigma).

$$1 \text{ gamma de protéines/cc} = 1 \text{ mg/litre de protéine}$$

Les résultats seront donc exprimés en mg d'équivalent albumine/l.

On préparera donc à partir de la solution mère des solutions de 5 à 100 mg/l.

## PROTEINES PARTICULAIRES

On filtre sur membrane de 0,45  $\mu\text{m}$  une quantité aliquote d'eau à analyser suivant les concentrations (faire des essais), on extrait alors les protéines du filtre dans 1 ml d'eau bidistillée + 5 ml de réactif C et on suit le même processus après broyage minutieux du filtre avec un agitateur dans un tube de 10 à 15 cc.

NB : Tenir compte du volume filtré pour les calculs et ramener ensuite les résultats en mg/litre d'eau de mer. La turbidité due au filtre nécessite la centrifugation des tubes.

### TRAITEMENT DES FILTRES

Pour éliminer toute trace de matières organiques, les filtres en fibre de verre (Whatman) sont calcinés à 450°C pendant 1 heure.

### REMARQUES IMPORTANTES

Le choix du filtre nécessite des précautions et il est important de faire des essais à blanc sur des filtres neufs pour apprécier leur propreté car il peut y avoir un apport initial en protéines dû au filtre.

Il est important d'après nos expériences de remarquer que les manipulations par les doigts apportent des protéines ; il est aussi nécessaire de travailler avec des pinces propres (pose et dépose des membranes filtrantes).

La verrerie utilisée doit être rigoureusement soignée : lavage à l'alcool et dessiccation ensuite.

### BIBLIOGRAPHIE

- LOWRY M., ROSEBROUG N.J., FARA A.L. and RANDALL J.R., 1951.- Protein measurement with the folin phenol reagent.- J. Biol. Chem., 193 : 265-275.
- MALARA G. et CHARRA R., 1972. Dosage des protéines particulières selon la méthode de Lowry.- Note de travail, S.Z.V. Villefranche-sur-Mer 5 pages.
- RAZET D. et GARNIER J., 1976. Adaptation de la méthode de Lowry aux dosages des protéines particulières dans l'eau de mer. Rapport interne I.S.T.P.M. La Tremblade.

## DOSAGE DES LIPIDES PARTICULAIRES DE L'EAU DE MER

---

### PRINCIPE

L'hydrolyse acide et à chaud des acides gras révèle une coloration brune dont le maximum d'absorption se situe aux environs de 360 nm.

### ECHANTILLONNAGE

On recueille les particules d'un volume d'eau de mer prédéterminé de l'ordre de 1 litre sur filtre Whatman GFC calciné à 450° pendant une heure. Dans un tube à hémolyse en verre les particules retenues peuvent être conservées au congélateur pendant plusieurs mois.

### EXTRACTION

Les lipides sont extraits dans le chloroforme de la façon suivante :

- Introduire dans le tube à hémolyse contenant le filtre après décongélation 2 ml de chloroforme.
- Broyer finement avec une spatule ou une canne de verre le filtre et laisser extraire au moins 1 heure au réfrigérateur pour éviter toute évaporation du solvant.
- Pipetter la solution ainsi formée à l'aide d'une pipette fine ou d'une pipette automatique à cône dans un autre tube à hémolyse.
- Réintroduire 1 ml de chloroforme sur le broyat du premier tube afin de rincer ce dernier.
- Pipetter de nouveau le reliquat de chloroforme que l'on a ajouté à la première solution.

- Evaporer le solvant à 40°C dans une étuve pendant au moins 24 heures (jusqu'à la disparition complète du solvant)

- Rajouter 2 ml d'acide sulfurique concentré sur les lipides ainsi retenus et porter à 200°C dans un bain de sable ou dans un bloc d'aluminium chauffant pendant au moins 15 minutes.

- Après refroidissement, rajouter avec précautions 3 ml d'eau distillée de manière à obtenir un mélange homogène. la réaction est très exothermique.

- Après refroidissement, lire la D.O. à 360 nm.

#### EXPRESSION DES RESULTATS

Les densités optiques lues au spectrophotomètre sont à comparer à celles obtenues à partir d'une solution standard évaporée d'acide tripalmitique ou glycérol tripalmitate à des concentrations comprises entre 0 et 200 µg/ml.

#### BIBLIOGRAPHIE

MARSH J.B. and WEINSTEIN D.B., 1966.- Simple charring method for determination of lipids. J. of lipids research, vol. 7 : 571-576.

RAZET D., GARNIER J., 1980. Dosages des lipides particuliers de l'eau de mer. Rapport interne I.S.T.P.M. La Tremblade.

## DOSAGE DES GLUCIDES PARTICULAIRES ET DISSOUS DANS L'EAU DE MER

---

### PRINCIPE

En présence d'un acide minéral fort, les pentoses donnent des furfurals et les hexoses donnent du 5 hydroxymethyl furfural. Le furfural et ses dérivés se combinent avec le phénol (ou d'autres corps phénoliques, ex : naphтол) pour donner un complexe coloré. C'est cette réaction qui est utilisée dans le protocole suivant.

### ECHANTILLONNAGE

Les particules d'un volume d'eau de mer (à déterminer suivant la turbidité) sont recueillies sur un filtre Whatman GFC 0,45  $\mu\text{m}$  préalablement calciné à 450°C pendant 1 heure dans un four à moufle. Filtres et particules peuvent être stockés à - 20°C plusieurs mois avant d'être analysés.

De même environ 10 ml du filtrat sont congelés pour les dosages des glucides dissous.

### REACTIFS UTILISES

- Solution de phénol à 5 %. Cette solution est stable si on la conserve dans un flacon en verre à 4°C. Elle est préparée à partir de solution mère concentrée (80 g de phénol pour 20 ml d'eau). Le phénol cristallisé s'oxyde et rosit quand il est exposé à l'air et à la lumière. Cette coloration disparaît après distillation.

- Acide sulfurique concentré très purifié.

### MODE OPERATOIRE

Introduire dans un tube à centrifuger (16:20) en verre ou en polypropylène :

- 1 ml d'eau distillée
- le filtre sur lequel a été retenue la matière particulaire
- 1 ml de solution de phénol à 5 %

- \* Broyer le filtre à l'aide d'une canne de verre.
- \* Laisser reposer au moins 40 minutes à la température du laboratoire.
- \* Ajouter rapidement à l'aide d'une pipette automatique 5 ml d'acide sulfurique concentré.
- \* Homogénéiser aussitôt.
- \* Laisser reposer 10 minutes à la température de la salle ou au mieux dans un bain d'eau à 25 - 30°C.
- \* Mesurer la densité optique du surnageant à 490 nm après centrifugation à 3 000 tours.mn<sup>-1</sup> pendant 10 minutes.

#### ETALONNAGE ET EXPRESSION DES RESULTATS

Les densités optiques lues au spectrophotomètre sont à comparer à celles obtenues avec une solution de glucose à des concentrations de 0 à 100 µg/l.

Les résultats sont exprimés en ug d'équivalent en glucose.

NB : Dosage des glucides dissous d'eau de mer : la même méthodologie que pour les dosages des sucres particuliers. 1 ml de l'échantillon d'eau de mer filtrée remplace le ml d'eau distillée.

#### BIBLIOGRAPHIE

- DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBECS P.A. and SMITH F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28 (3) : 350-356.
- MOREAU J., 1970. Contribution aux recherches écologiques sur les claires à huîtres du bassin de Marennes-Oléron. Thèse, Nantes, 90 p.
- MALARA-CHARRA, 1972. Dosage des glucides particuliers selon la méthode de Dubois. Note de travail. Villefranche-sur-Mer.

## DOSAGE DES CHLOROPHYLLES

-----

### MATERIEL

- Tubes à centrifuger en verre, fermés par un bouchon à vis
- Filtres (Whatman GFC 2.5 cm réf. 5567) en fibre de verre.

### PROTOCOLE

Les dosages ont été effectués sur de petits volumes (50 à 100 ml) à l'aide d'un fluorimètre modèle TURNER.

L'étalonnage du fluorimètre se fait par rapport à une solution concentrée de chlorophylle dosée au spectrophotomètre. Cette solution sert également au calcul de la valeur de "T" et de "F".

### CALCULS

Les résultats sont exprimés en ug de chlorophylle par litre d'eau de mer et ont été calculés sur ordinateur.

## PROTOCOLE SUR LES CHLOROPHYLLES ET PHEOPIGMENTS

### FILTRATION

-----

1) Utilisation d'une bouteille à renversement, l'eau de mer étant mise dans un bidon alimentaire de 5 l.

2) Pour des filtrations d'1 l sur grande membrane. Marque : Whatman GFC :

- Homogénéiser le prélèvement en renversant plusieurs fois le bidon.
- Préfiltrer aussitôt sur un tamis de 250  $\mu\text{m}$  en dosant le volume à filtrer dans un bécher plastique de 1 l.
- Passer la totalité du litre sur la membrane en réglant la pression de la pompe à 1/3 d'atmosphère.
- Mettre la membrane et son dépôt au congélateur aussitôt dans une boîte de pétri.

3) Pour des petits volumes à filtre ex : 100 cc - 200 cc sur petite membrane : Whatman GFC.

- Utiliser une seringue plastique avec un support plastique, dans lequel sera placé le filtre.
- Brancher l'ensemble sur la pompe, mettre en marche et passer la totalité du volume à filtrer.
- Adjonction de  $\text{Mg CO}_3$

$\text{Mg CO}_3$  est utilisé pour conserver le milieu basique afin d'éviter une dégradation par acidification de la chlorophylle en phéopigment.

Nos essais ne montrent pas une influence de la quantité de carbonate. 1 ml d'une solution à 1 % (10 g/l) sera alors employé. Il semble préférable de déposer le  $\text{Mg CO}_3$  avant la filtration ce qui permet de diminuer la porosité de la membrane de fibre de verre.

- Récupérer le filtre, le placer au congélateur dans une boîte de pétri ou dans un tube hermétique.

## SPECTROPHOTOMETRE

-----

### DEFINITION

Mesure la densité optique (Do) d'une lumière monochromatique (1 seule couleur).

### PRINCIPE

Une source lumineuse (lampe à iode blanche) avec devant un prisme qui décomposera la source lumineuse en un spectre de l'U.violet à l'infra-rouge.

Modèle utilisé 550 SE Marque PERKIN-ELMER.

### MISE EN MARCHÉ DE L'APPAREIL ET MESURES

L'appareil doit être allumé au moins  $\frac{1}{2}$  h avant son utilisation.

Les cuves devant recevoir les échantillons doivent être soigneusement lavées et rincées.

### ETALONNAGE DU SPECTRO, OU FAIRE LES BLANCS

Prendre les deux cuves de 15 cc, les remplir d'acétone à 90 %.

Disposer les 2 cuves dans les 2 compartiments prévus du spectro exactement dans la même position de façon que la source lumineuse traverse parfaitement bien l'échantillon.

Fermer la porte pour éviter toute charge extérieure de lumière.

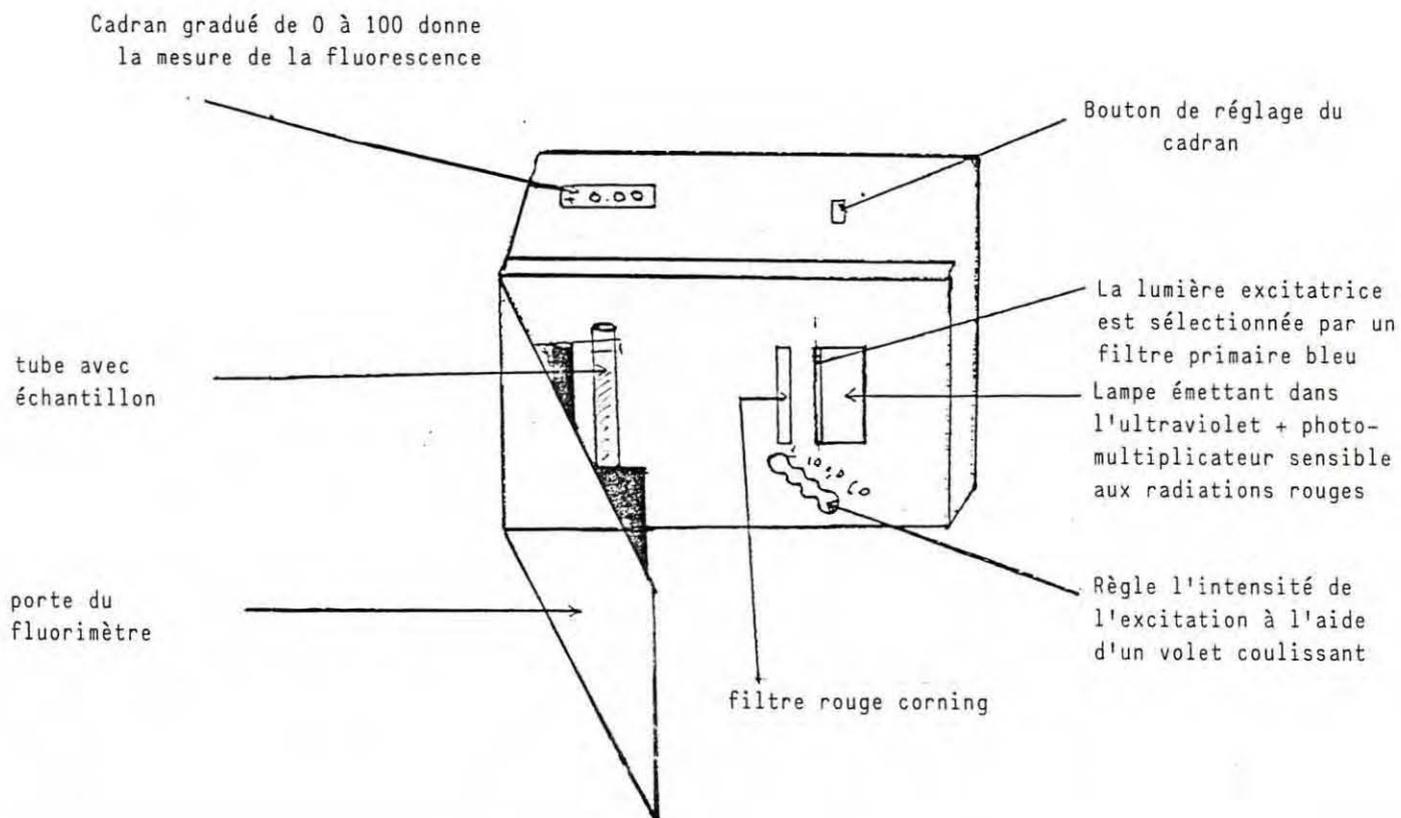
Faire le point zéro, si les cuves sont propres, l'appareil doit marquer 0,00.

Garder 1 seule cuve contenant de l'acétone (celle située au fond).

## GENERALITES SUR LE FLUORIMETRE

### METHODE DE YENTSCH ET MENZEL (1963)

Les chlorophylles et leurs dérivés possèdent la propriété d'émettre une fluorescence rouge lorsqu'ils sont excités par des radiations bleues.



### MESURE AU FLUORIMETRE

#### MISE EN ROUTE DE L'APPAREIL

Il faut le mettre en route  $\frac{1}{2}$  h avant son utilisation, temps de chauffe obligatoire.

### ETALONNAGE

Régler l'intensité de l'excitation à l'aide du volet sur fente 1 (lecture + précise).

Régler la lecture sur +0,00, l'appareil est prêt à être utilisé.

### APRES EXTRACTION ET CENTRIFUGATION

Ouvrir le tube, prélever le surnageant dans un tube propre.

Placer le tube dans le fluorimètre et lire l'émission correspondant à chaque échantillon (La).

Il faut refaire à chaque fois le zéro.

Acidifier l'échantillon aussitôt après la 1ère lecture avec 50 µl HCl 1N pour 5 cc d'acétone.

Mélanger la solution en renversant le tube 3 fois en bouchant l'extrémité à l'aide d'un "Parafilm".

Repasser au fluorimètre et lire la nouvelle émission (Lo). Laisser agir pendant 30 secondes minimum.

### CALCULS DE LA CHLOROPHYLLE A ET DES PHEOPIGMENTS A OU CALCULS DES CONCENTRATIONS EN PIGMENTS

$$\text{Chloro a ug/litre} = F \cdot \frac{T}{T - 1} \cdot (Lo - La) \cdot \frac{va}{Vf}$$

$$\text{Phaeo a ug/l} = F \cdot \frac{T}{T - 1} \cdot (TLa - Lo) \cdot \frac{va}{Vf}$$

F et T sont des constantes calculées lors de l'étalonnage du spectrophotomètre et différentes pour chaque sensibilité.

$v_a$  = volume d'acétone = 5 ml

$V_f$  = volume d'échantillon filtre au départ.

### CENTRIFUGATION

Lorsque l'extraction est terminée (1 h minimum), centrifuger les tubes pendant 15 mn à 6 000 tours.

Remarque : Faire très attention à équilibrer les tubes.

### CONSERVATION

On peut garder l'échantillon quelques semaines au congélateur dans un tube fermé hermétiquement.

### ACIDIFICATION

Se fait avec de l'HCl (N) quantité de 50  $\mu$ l pour 5 cc pour l'utilisation du fluorimètre.

Au spectrophotomètre avec la cuve de 15 cc mettre 150  $\mu$ l d'HCl. S'il n'y a pas les 15 cc mettre en fonction du volume (voir les graduations sur la cuve) 5 cc 50  $\mu$ l HCl, 10 cc 100  $\mu$ l d'HCl, 15 cc 150  $\mu$ l d'HCl.

### BROYAGE

#### PETITS FILTRES

1) Les membranes se décongèlent aussitôt l'acétone mise dans le tube.

2) Méthode de broyage :

- La membrane est placée directement dans le tube à centrifuger
- Mettre 5 cc d'acétone exactement
- Prendre une petite spatule (côté carré) qui broiera le filtre sur un vortex. Opération rapide de l'ordre de 2 mn.

- Refermer hermétiquement le tube, mettre à extraire pendant 1 h minimum à l'abri de la lumière en T° ambiante, ou au frigo, pas d'importance.

### GRANDS FILTRES

#### 1) Méthode de broyage :

- Utilisation d'un petit mortier avec son pilon.
- Mettre au fond du mortier une pincée de sable de Fontainebleau.
- Plier le filtre en deux, le mettre dans le mortier et ajouter 2 cc d'acétone à 90 %.
- Broyer énergétiquement le tout jusqu'à avoir une pâte.
- Bien rincer le pilon et verser la totalité du filtre broyé dans un grand tube à centrifuger.
- Refermer hermétiquement le tube.
- Extraction pendant 1 heure minimum à T° ambiante.

### METHODES DE CALCUL AU SPECTROPHOTOMETRE

Do 665<sub>o</sub> = différence des deux premiers dosages avant acidification.

Do 665<sub>a</sub> = différence des deux autres dosages après acidification.

### EQUATIONS

$$\text{Chla } \mu\text{g/l} = \frac{26,7 \cdot (D 665_o - 665_a) \cdot v_a}{Vf \cdot L}$$

$$\text{Phaeo a } \mu\text{g/l} = \frac{26,7 \cdot (1,7 \cdot (D 665_a) - D 665_o) \cdot v_a}{Vf \cdot L}$$

va = volume acétone ml

Vf = volume filtré en l

L = Chemin optique en cm (longueur de la cuve).

N° échant.	V	vcc	D 665 <sub>o</sub>	D 750 <sub>o</sub>	D 665 <sub>a</sub>	D 750 <sub>a</sub>	Chlo a	Pheo a
N8 h	0,2	15	0,090	0,007	0,075	0,010	7,209	11,013
j	0,2	15	0,099	0,005	0,082	0,011	9,211	10,693
j	0,2	15	0,108	0,012	0,090	0,016	8,811	11,934

$$N8 h = Chlo a = \frac{26,7 \cdot (0,083 - 0,065) \cdot 15}{0,2 \times 5} = 7,209 \mu g/l$$

$$Pheo a = \frac{26,7 \cdot (1,7 \cdot (0,065) - 0,083) \cdot 15}{0,2 \times 5} = 11,013 \mu g/l$$

#### PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR LEUR PASSAGE AU SPECTRO

Lorsque les tubes ont été centrifugés

Récupération du surnageant (V.A 15 cc) dans la cuve.

Bien nettoyer les bords de la cuve pour éviter toute modification du passage de la source lumineuse.

#### DOSAGES PROPUREMENT DITS

A chaque changement d'échantillons, bien rincer la cuve à l'eau distillée et une dernière fois à l'acétone à 90 %.

#### POUR CHAQUE ECHANTILLON

- 1ère mesure à 750 nm (angstrom) affichage de cette D.O., que l'appareil ira chercher nous donnant le chiffre d'absorption dans cette densité optique. Celle-ci correspond à la turbidité qui ne nous intéresse pas.

- 2ème mesure à 665 nm même méthode de recherche que précédemment, le résultat sera la densité optique de la chlorophylle + la turbidité.

Pour avoir la D.O. de la chlorophylle pure, il faut soustraire D. 750 nm c'est à dire la turbidité à D. 665 nm c'est à dire la chlorophylle + la turbidité.

Puis tout de suite après le 2ème dosage, il faut acidifier l'échantillon pour avoir les phéopigments.

Pour 15 cc d'acétone + chlorophylle il faut mettre 3 fois 50  $\mu$ l de HCl N.

Bien homogénéiser l'échantillon à l'aide d'un parafilm, retourner plusieurs fois la solution.

Refaire aussitôt les dosages à 750 nm et 665 nm.

DOSAGE DES NITRATES, NITRITES,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{PO}_4$ , Si, UREE

---

Seule la préparation des échantillons a été effectuée au LPGIM.

Il est nécessaire de filtrer l'eau sur membrane en fibre de verre  $0,45 \mu$  (Whatman GFC) afin de protéger l'appareil de mesure.

Un volume de 30 ml par échantillon est suffisant.

STOCKAGE

On stocke l'eau au congélateur ( $- 80^\circ\text{C}$ ) dans des flacons de 50 ml en plastique cristal, fermés par un bouchon à vis (35 x 70).

Il est indispensable d'indiquer la salinité de chaque prélèvement.

DOSAGE

Les échantillons ont été dosés sur un analyseur de type chaîne automatique (Skalar) à la station IFREMER de l'Houmeau (La Rochelle) par Mme Françoise MORNET.

Les résultats sont exprimés en  $\mu$  mol/l d'eau de mer.

R E S U L T A T S

### DONNEES SUR LA MAREE

Figure 2 : Coefficients de Marée

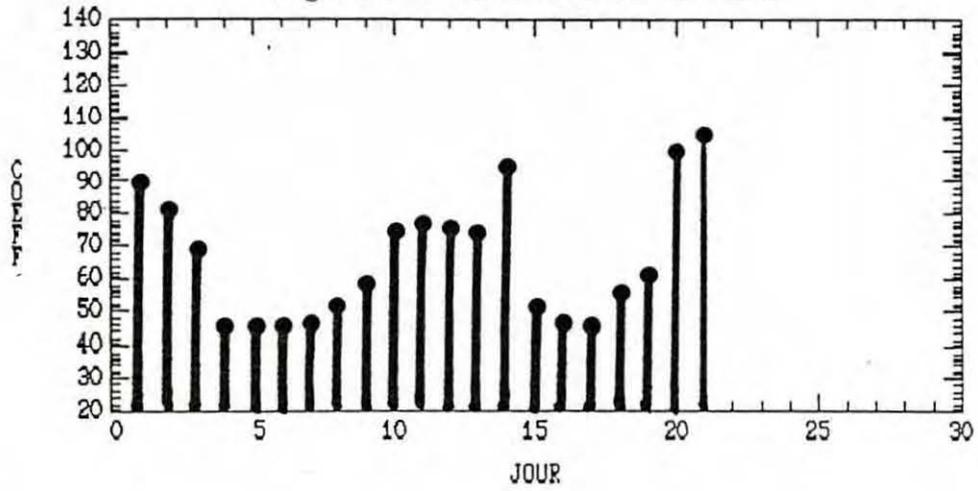


Figure 3 : Frequency Histogram

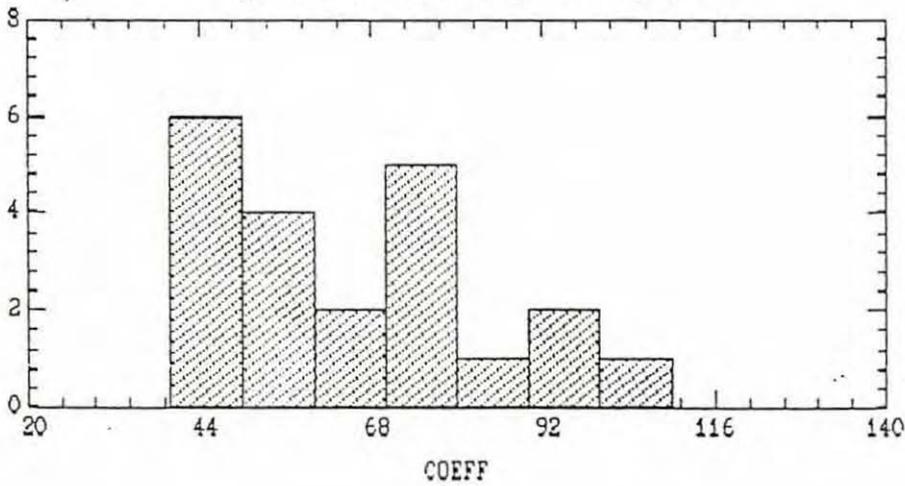
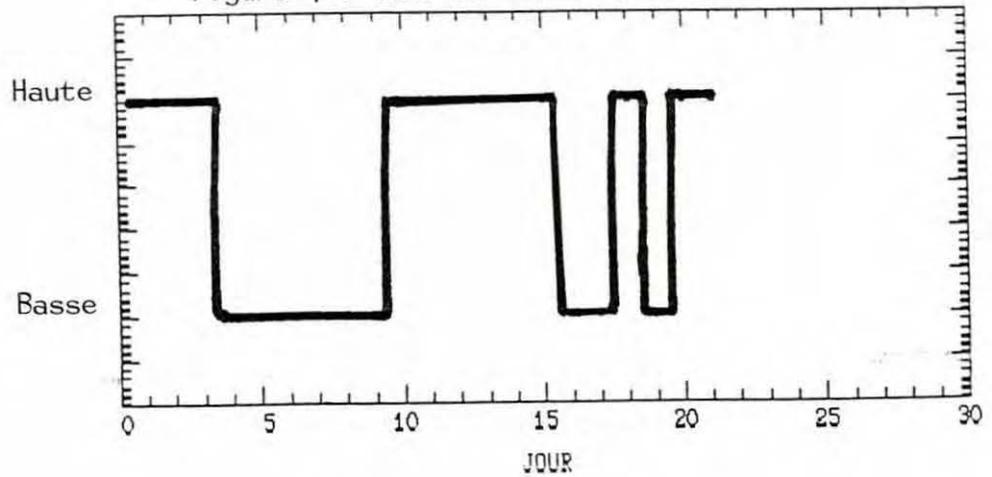
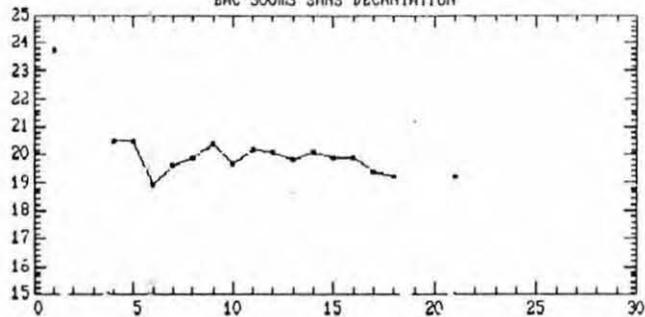


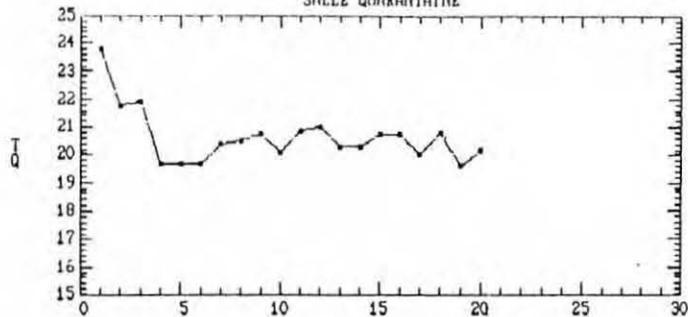
Figure 4 : Etat de la Mer (Haute ou Basse)



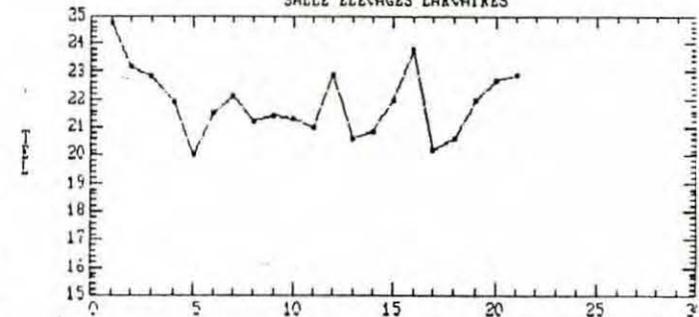
Plot of T1 vs JOUR  
BAC 300m3 SANS DECAANTATION



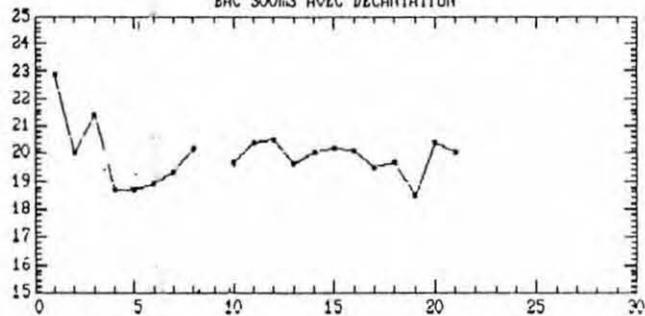
Plot of TQ vs JOUR  
SALLE QUARANTAINE



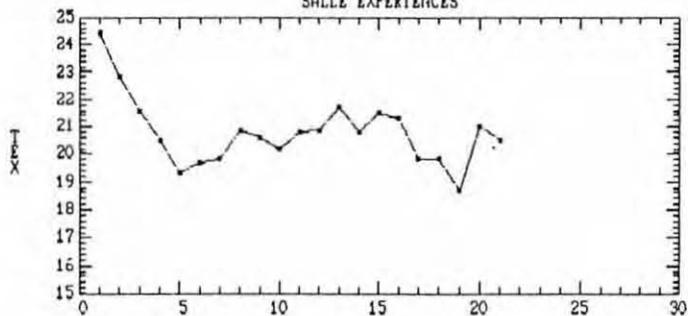
Plot of TLR vs JOUR  
SALLE ELEVAGES LARVAIRES



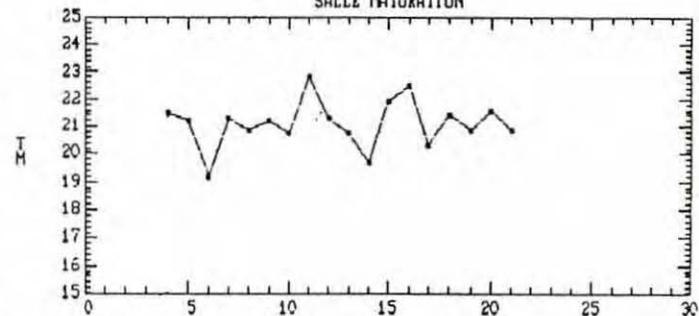
Plot of TII vs JOUR  
BAC 300m3 AVEC DECAANTATION



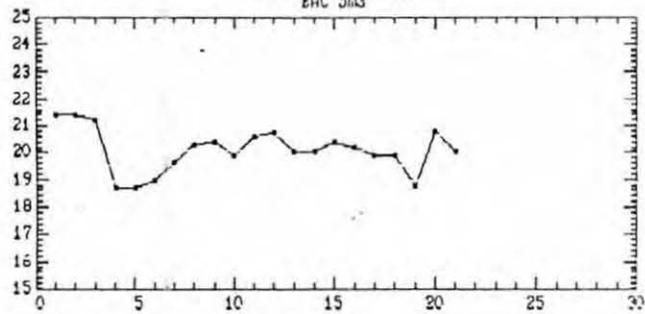
Plot of TIX vs JOUR  
SALLE EXPERIENCES



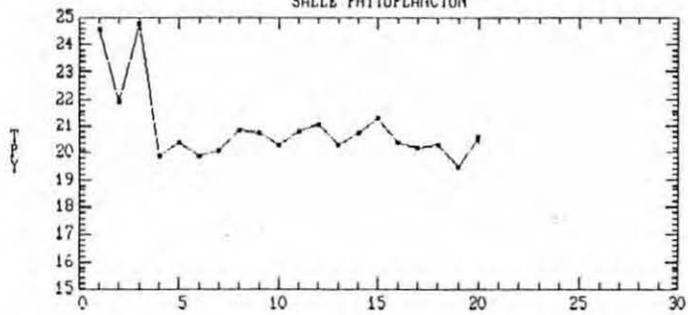
SALLE MATURATION



Plot of T3 vs JOUR  
BAC 5m3

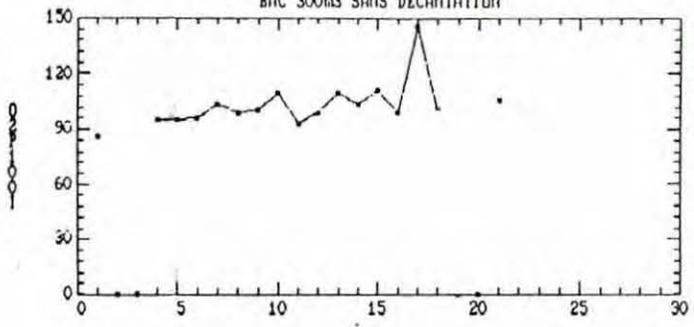


Plot of TPR vs JOUR  
SALLE PHYTOPLANCTON

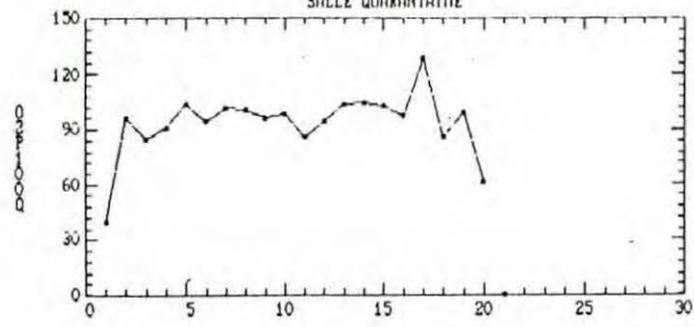


DONNEES DES TEMPERATURES POUR TOUS LES ECHANTILLONS (°C).

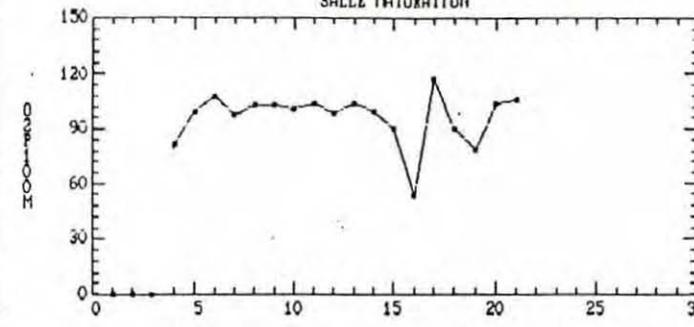
Plot of O2P1001 vs JOUR  
BAC 300m3 SANS DECAANTATION



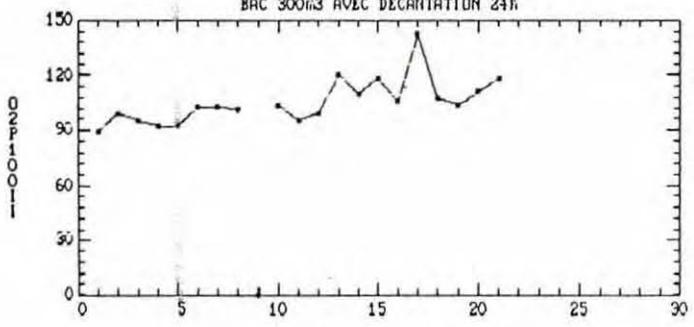
Plot of O2P1000 vs JOUR  
SALLE QUARANTAINE



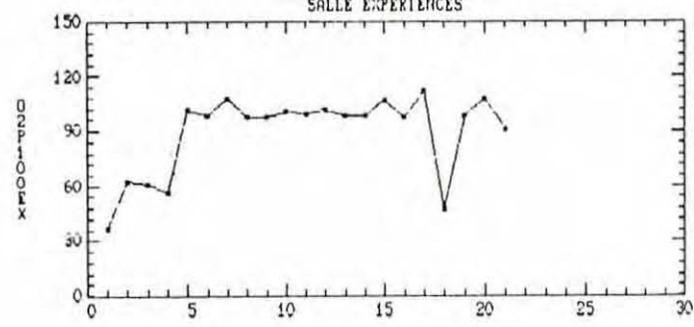
Plot of O2P100H vs JOUR  
SALLE MATURATION



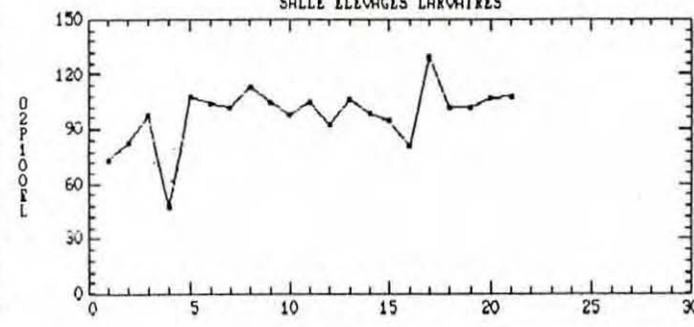
Plot of O2P10011 vs JOUR  
BAC 300m3 AVEC DECAANTATION 24h



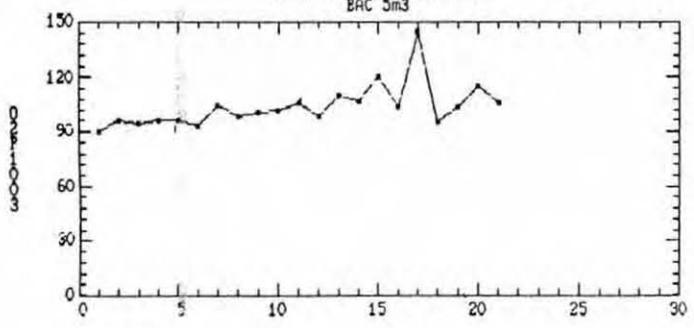
Plot of O2P100EX vs JOUR  
SALLE EXPERIENCES



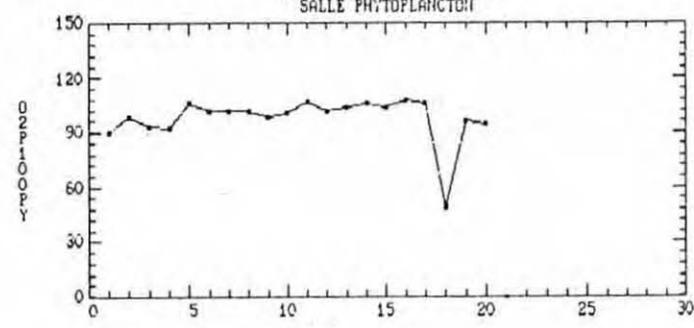
Plot of O2P100EL vs JOUR  
SALLE ELEAGES LARVAIRES



Plot of O2P1003 vs JOUR  
BAC 5m3



Plot of O2P100PY vs JOUR  
SALLE PHYTOPLANCTON



RELEVES DU POURCENTAGE DE SATURATION EN OXYGENE

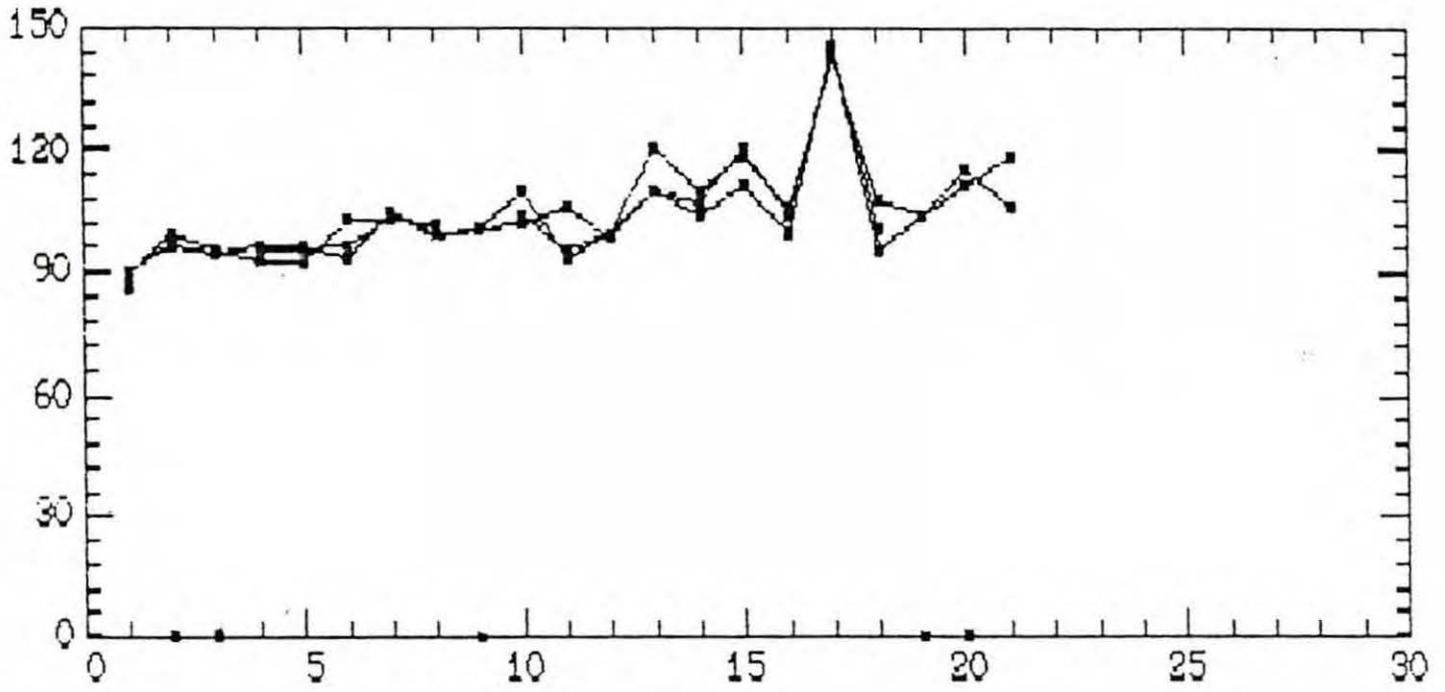


Figure 5 : Relevés superposés du pourcentage de saturation en oxygène des bacs extérieurs.

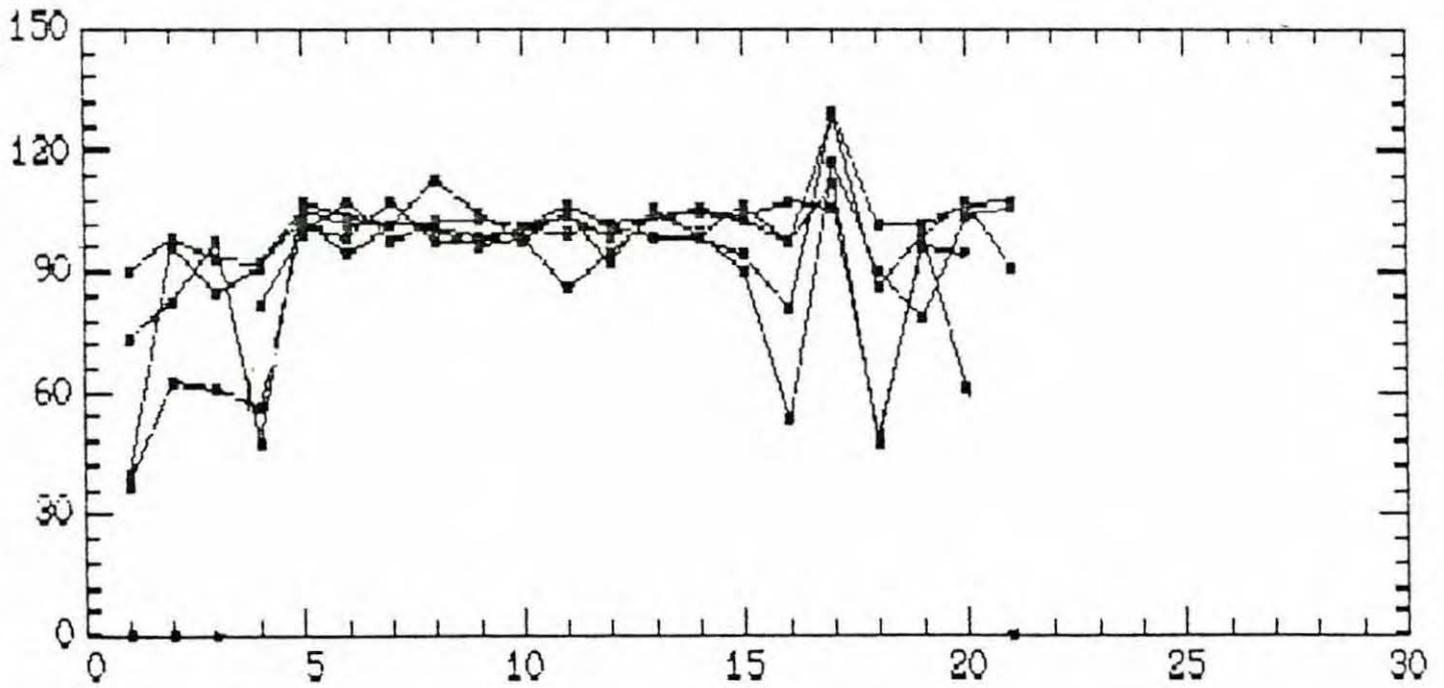
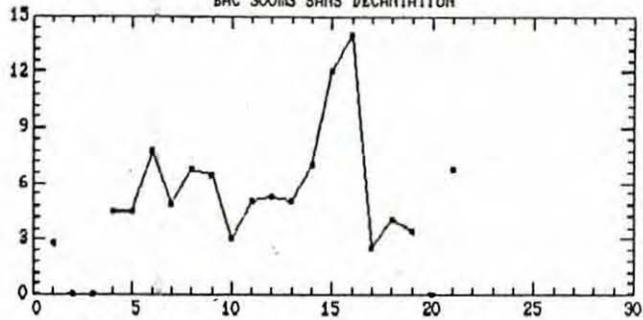
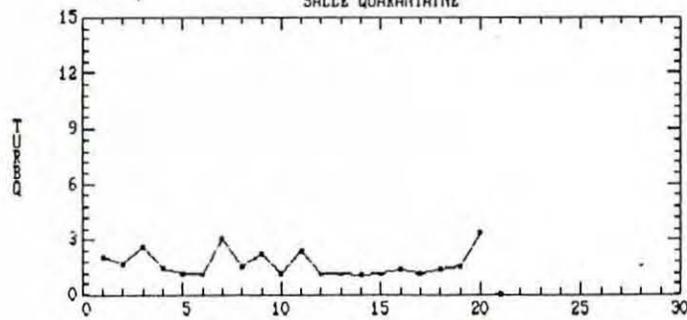


Figure 6 : Relevés superposés du pourcentage de saturation en oxygène des salles intérieures.

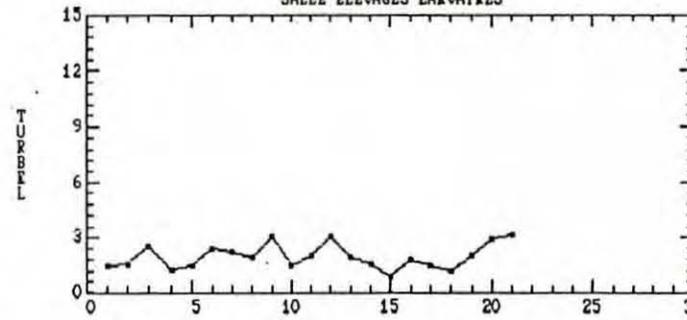
Plot of TURBI vs JOUR  
BAC 300m3 SANS DECONTANTION



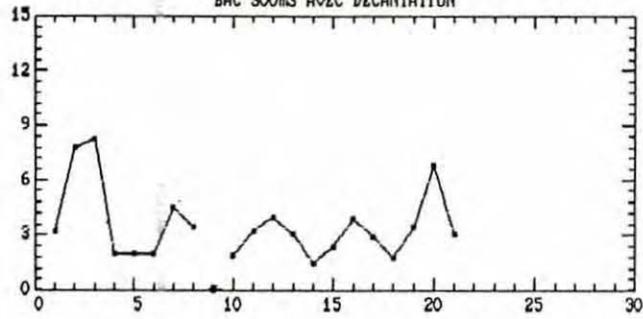
Plot of TURBO vs JOUR  
SALLE QUARANTAINE



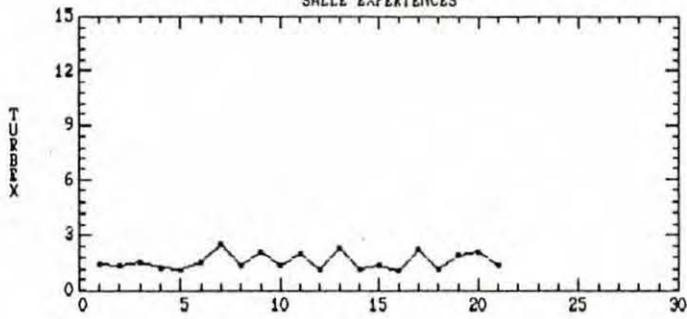
JOUR  
Plot of TURBEL vs JOUR  
SALLE ELEVAGES LARVAIRES



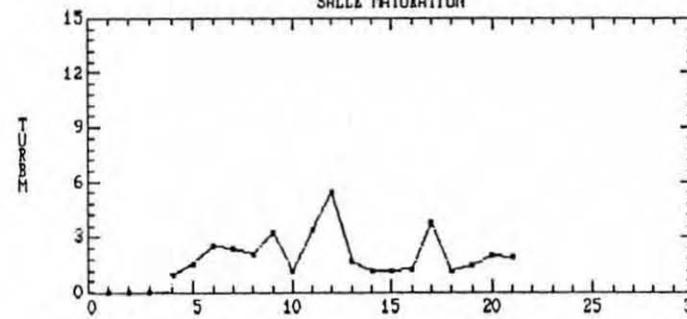
Plot of TURBI1 vs JOUR  
BAC 300m3 AVEC DECONTANTION



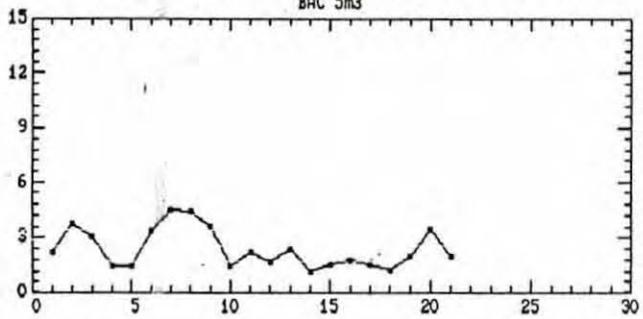
Plot of TURBEX vs JOUR  
SALLE EXPERIENCES



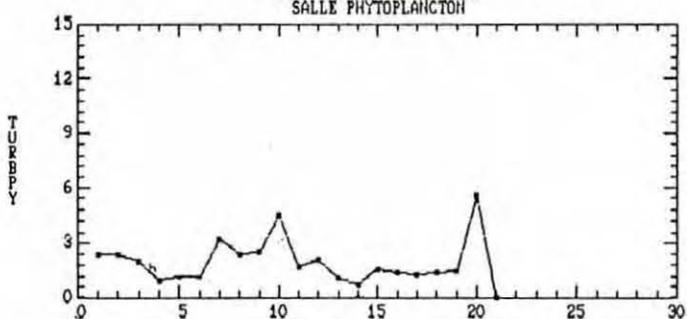
Plot of TURBH vs JOUR  
SALLE MATURATION



Plot of TURB3 vs JOUR  
BAC 5m3



Plot of TURBPY vs JOUR  
SALLE PHYTOPLANCTON



RELEVES DES VALEURS DE TURBIDITE (NTU).

## ECHANTILLON I

TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU		
**.*	**.*	*.**	**.*	***.*	**.*	Sum	
19.5	31.2	8.01	9.6	103.4	6.0	Ave	
6.8	0.9	0.03	1.5	163.8	9.3	Var	
2.6	0.9	0.17	1.2	12.8	3.1	Sdv	
10.0	29.0	7.70	7.4	86.0	2.5	Min	
23.7	32.1	8.25	13.4	146.0	14.0	Max	

Number of Observations: 17

## ECHANTILLON II

TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU		
**.*	**.*	*.**	**.*	***.*	71.2	Sum	
19.9	31.3	8.06	9.7	105.7	3.6	Ave	
1.0	0.9	0.04	1.4	155.9	3.8	Var	
1.0	0.9	0.20	1.2	12.5	1.9	Sdv	
18.5	28.3	7.54	7.9	89.0	1.5	Min	
22.9	32.2	8.33	13.3	143.0	8.3	Max	

Number of Observations: 20

## ECHANTILLON 3

TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU		
**.*	**.*	*.**	**.*	***.*	50.7	Sum	
20.2	31.5	8.00	9.5	103.9	2.4	Ave	
1.4	0.2	0.04	1.4	144.4	1.1	Var	
1.2	0.5	0.19	1.2	12.0	1.0	Sdv	
18.7	30.0	7.57	7.6	90.0	1.2	Min	
24.1	32.2	8.29	13.5	145.0	4.5	Max	

Number of Observations: 21

## ECHANTILLON Q

TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU		
**.*	**.*	*.**	**.*	***.*	39.8	Sum	
20.6	31.5	8.04	8.6	93.7	2.0	Ave	
1.0	0.2	0.05	2.6	317.8	2.2	Var	
1.0	0.5	0.23	1.6	17.8	1.5	Sdv	
19.6	30.0	7.52	3.6	40.0	1.0	Min	
23.8	32.2	8.60	11.5	129.0	7.6	Max	

Number of Observations: 20

## ECHANTILLON EX

TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU		
**.*	**.*	*.**	**.*	***.*	33.8	Sum	
20.7	31.6	7.99	8.2	89.6	1.6	Ave	
1.5	0.1	0.04	4.7	484.1	0.2	Var	
1.2	0.3	0.20	2.2	22.0	0.4	Sdv	
18.7	30.7	7.51	2.8	37.0	1.0	Min	
24.4	32.2	8.40	11.1	112.0	2.5	Max	

Number of Observations: 21

## ECHANTILLON PY

TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU		
**.*	**.*	*.**	**.*	***.*	40.9	Sum	
20.8	31.5	8.01	9.0	98.2	2.0	Ave	
1.2	0.2	0.05	1.7	165.4	1.5	Var	
1.1	0.5	0.22	1.3	12.9	1.2	Sdv	
19.5	30.0	7.50	4.3	49.0	0.7	Min	
24.6	32.1	8.23	10.8	110.0	5.6	Max	

Number of Observations: 20

## DONNEES STATISTIQUES.

## ECHANTILLON EL

TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU		
**.*	**.*	*.**	**.*	***.*	40.2	Sum	
21.9	31.5	8.00	8.8	97.9	1.9	Ave	
1.5	0.2	0.03	2.5	270.5	0.4	Var	
1.2	0.5	0.18	1.6	16.7	0.7	Sdv	
20.0	30.0	7.53	4.1	47.0	0.8	Min	
24.8	32.3	8.24	11.8	130.0	3.1	Max	

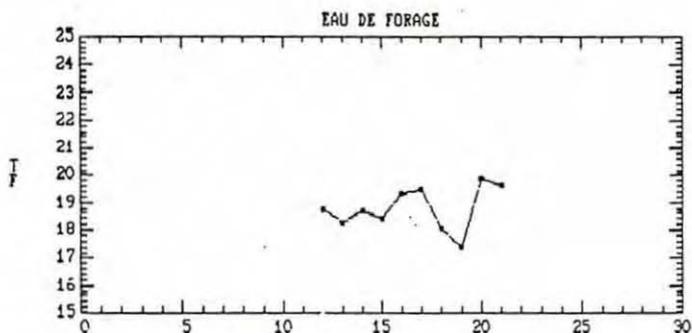
Number of Observations: 21

## ECHANTILLON M

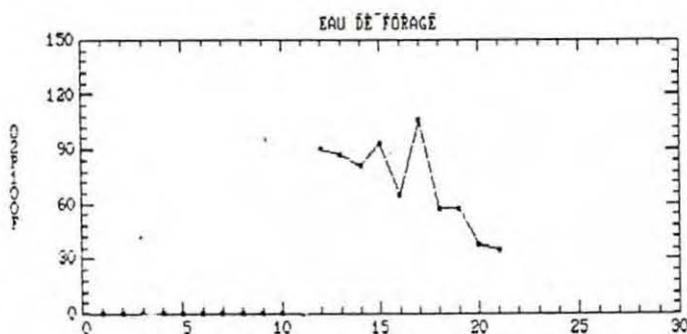
TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU		
**.*	**.*	*.**	**.*	***.*	38.5	Sum	
21.1	31.6	7.99	8.8	96.7	2.1	Ave	
0.7	0.1	0.03	1.9	202.4	1.4	Var	
0.9	0.4	0.17	1.4	14.2	1.2	Sdv	
19.2	30.9	7.52	4.6	53.0	0.9	Min	
22.8	32.0	8.18	11.0	117.0	5.5	Max	

Number of Observations: 18

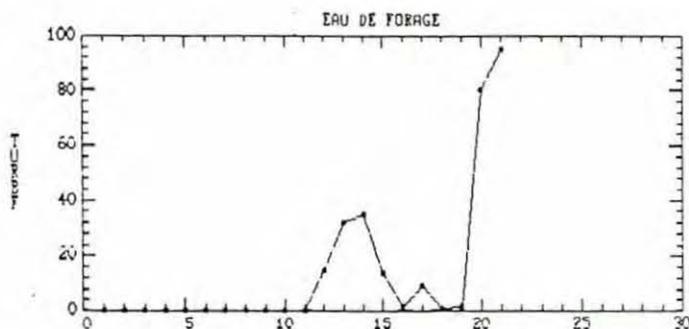
CARACTERISTIQUES DE L'EAU DE FORAGE



Température (°C)



Pourcentage de saturation en oxygène



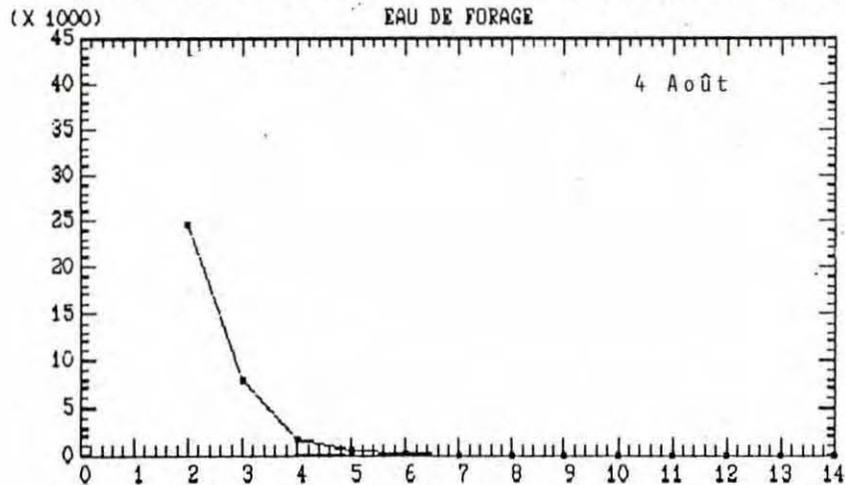
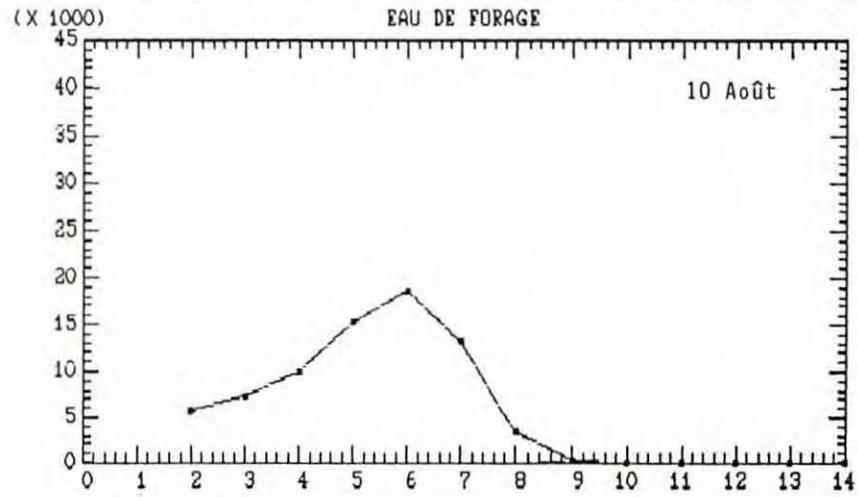
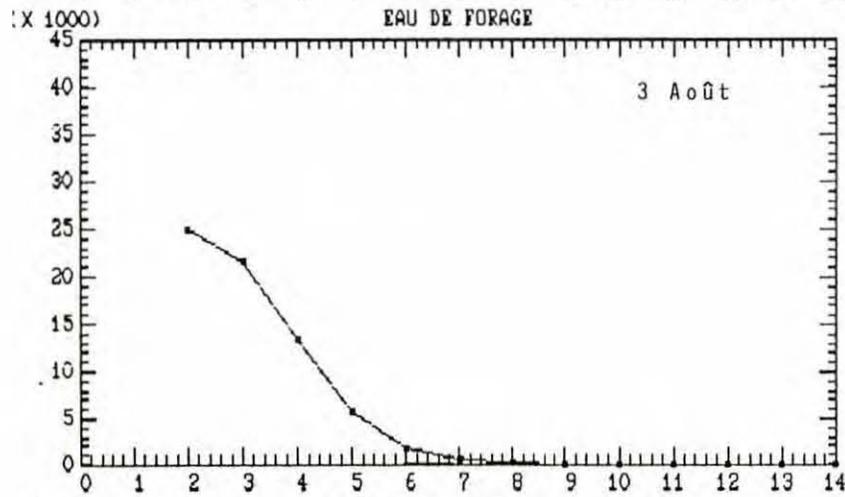
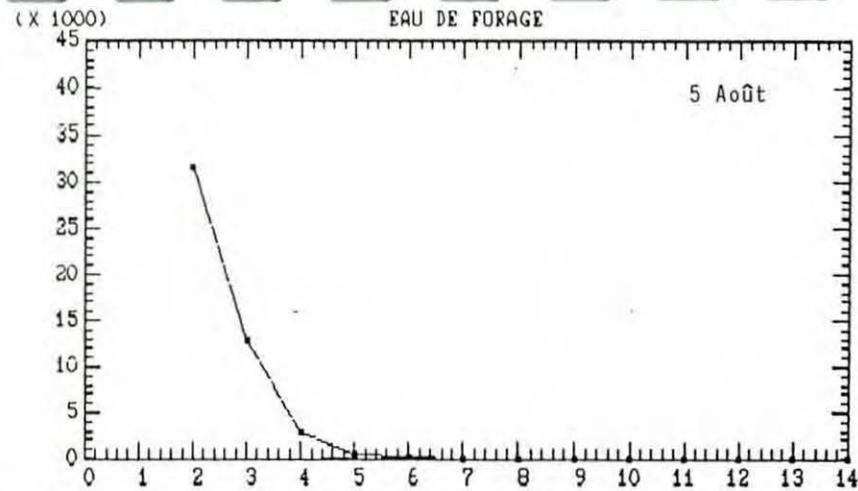
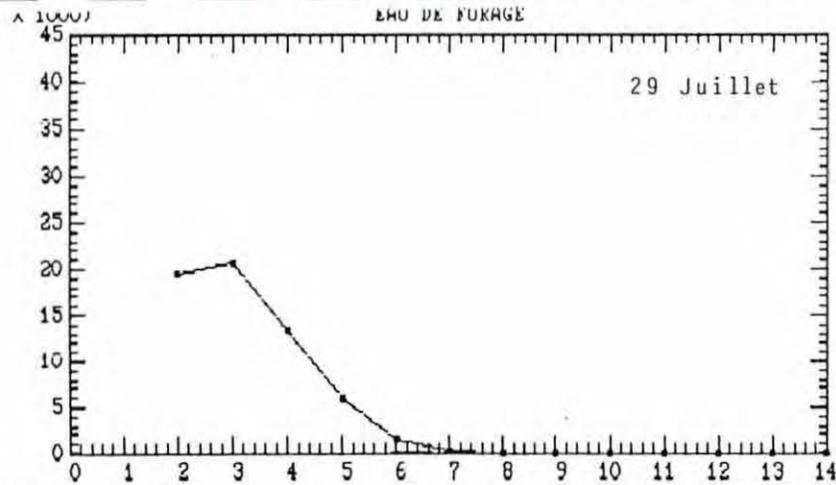
Turbidité (NTU)

ECHANTILLON F

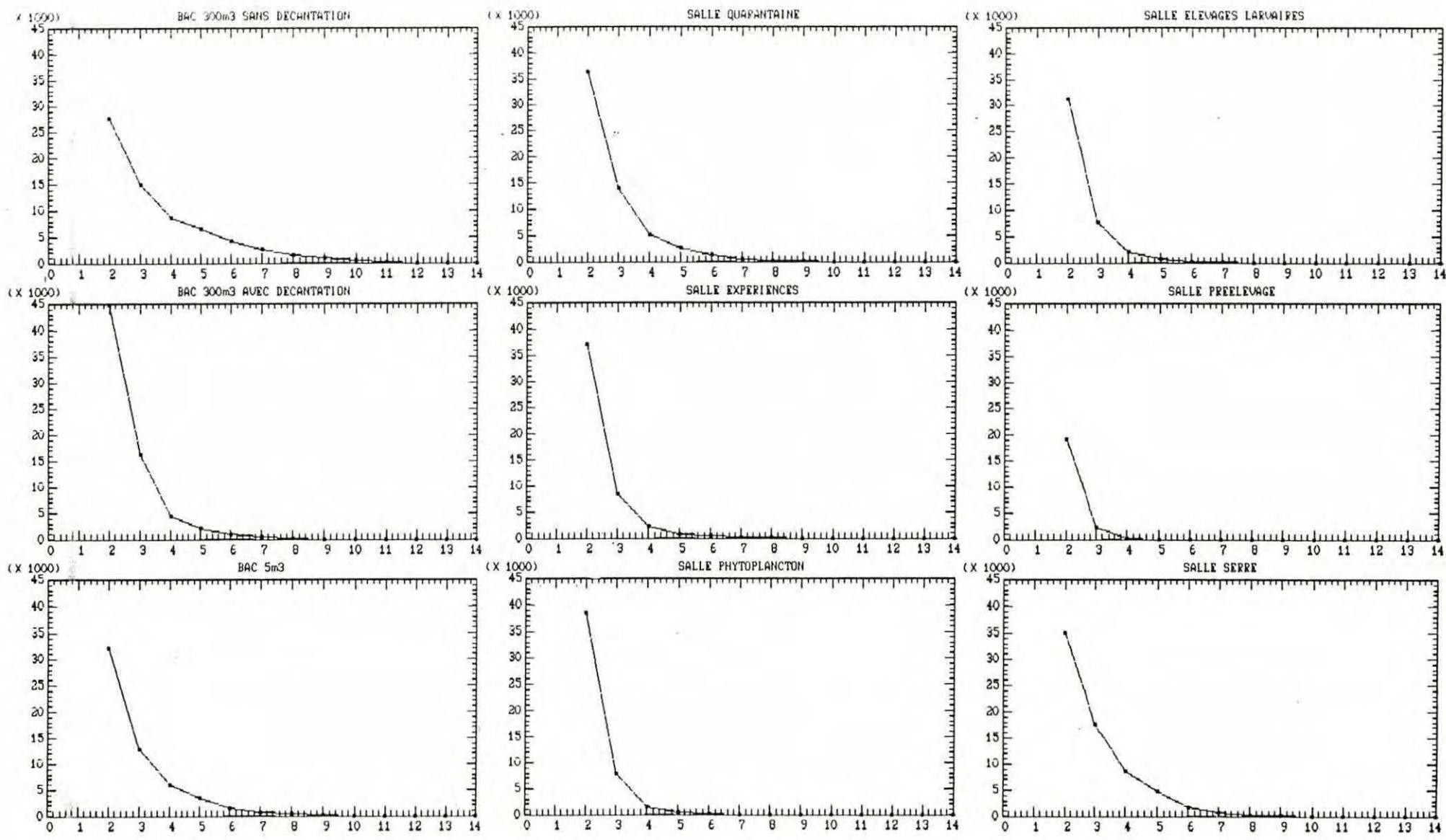
DONNEES STATISTIQUES

TEAU	SAL	PH	O2MG	O2P10	NTU	
**.*	**.*	*.**	68.4	723.0	**.*	Sum
18.8	<b>25.5</b>	7.38	6.8	72.3	27.1	Ave
0.6	<b>4.5</b>	0.10	5.7	640.9	**.*	Var
0.8	<b>2.4</b>	0.31	2.4	25.3	34.3	Sdv
17.4	<b>21.3</b>	6.86	3.3	35.0	1.0	Min
19.9	<b>28.0</b>	8.07	10.3	106.0	95.0	Max

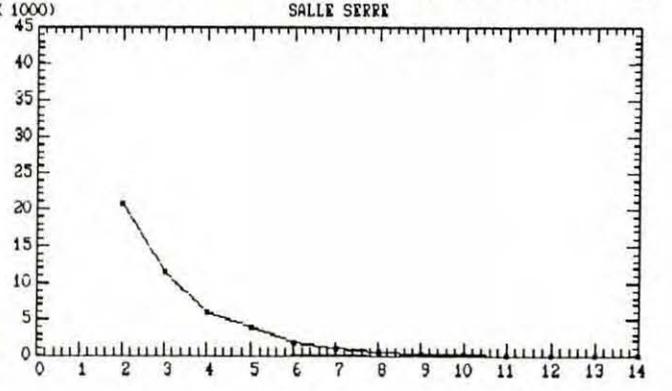
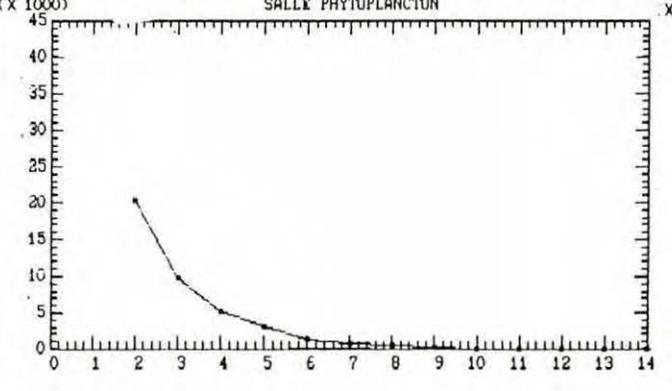
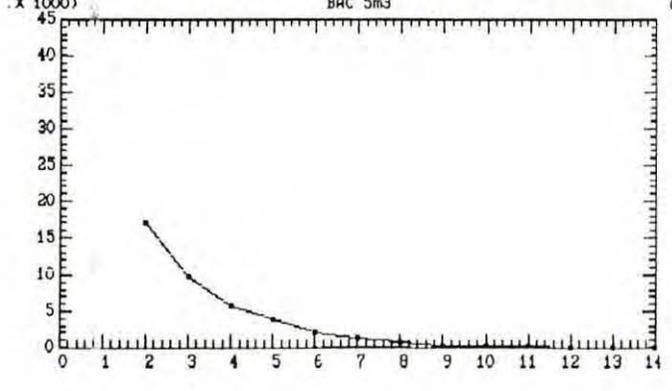
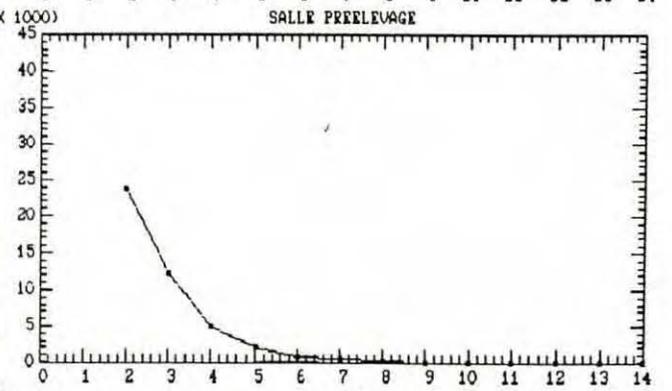
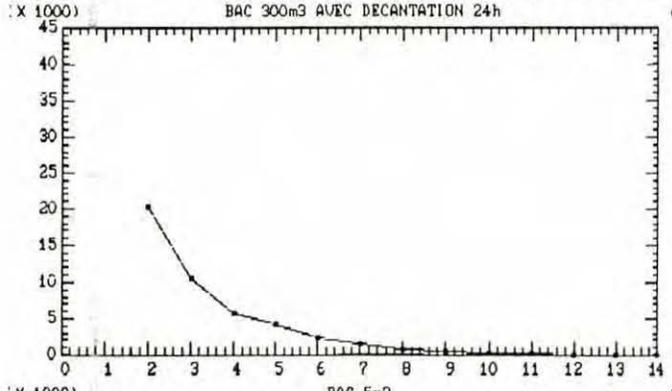
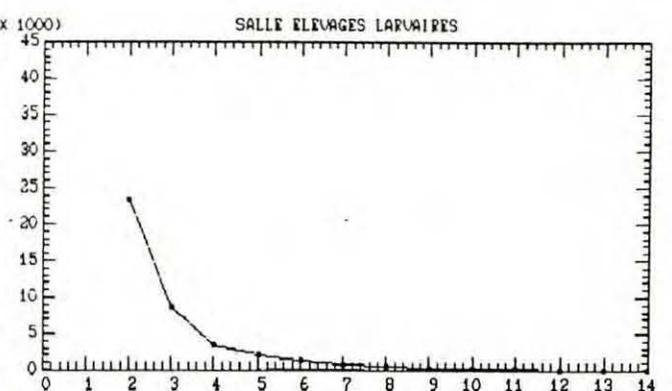
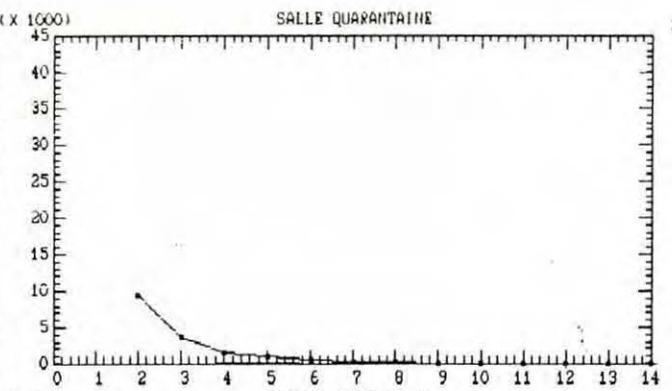
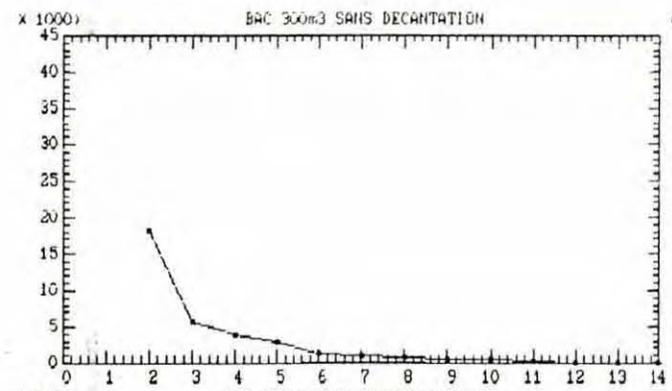
Number of Observations: 10



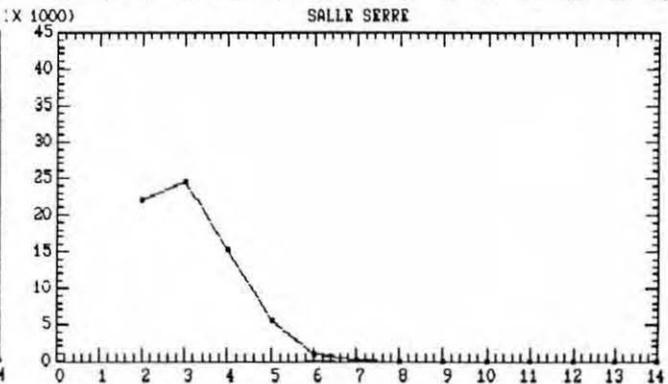
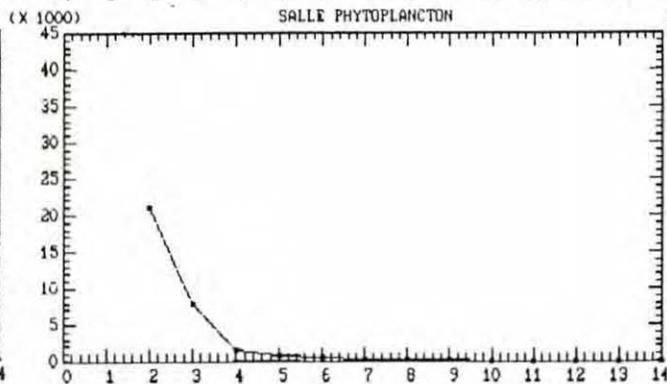
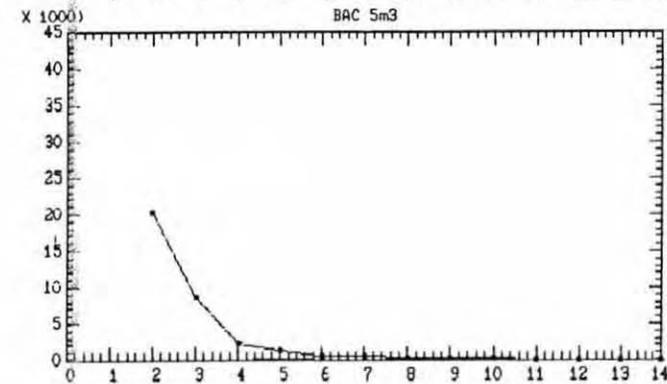
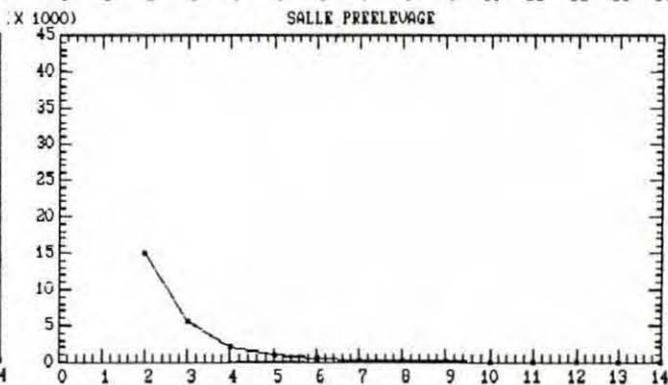
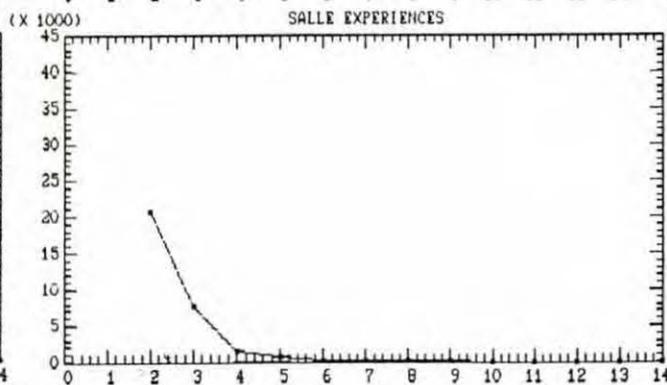
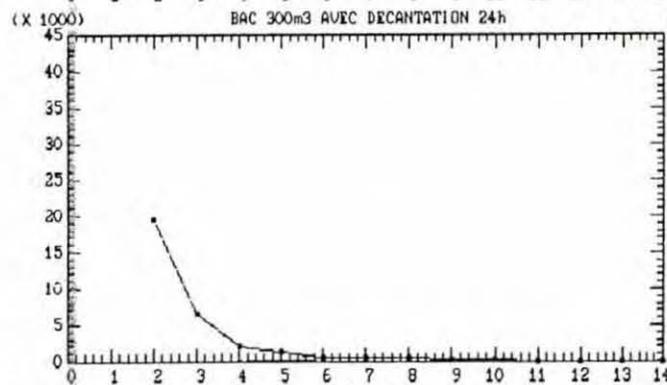
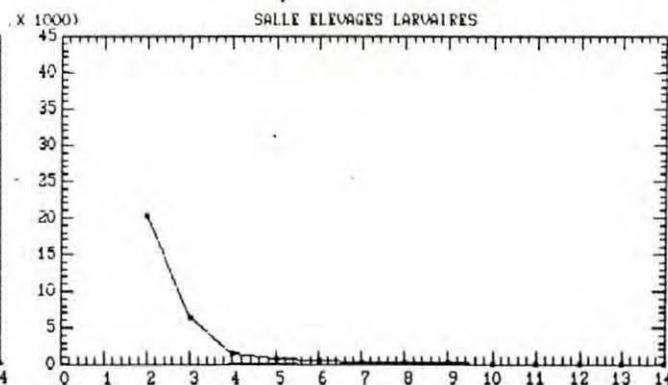
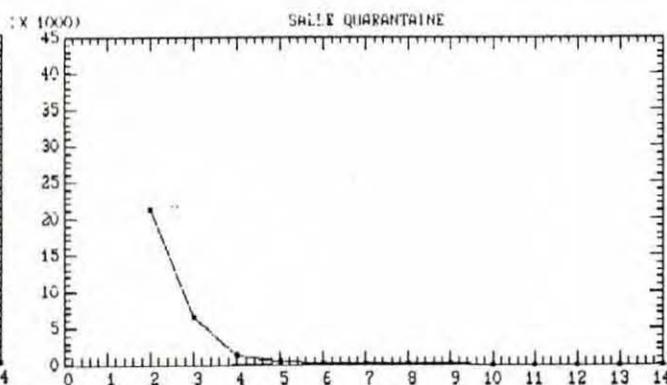
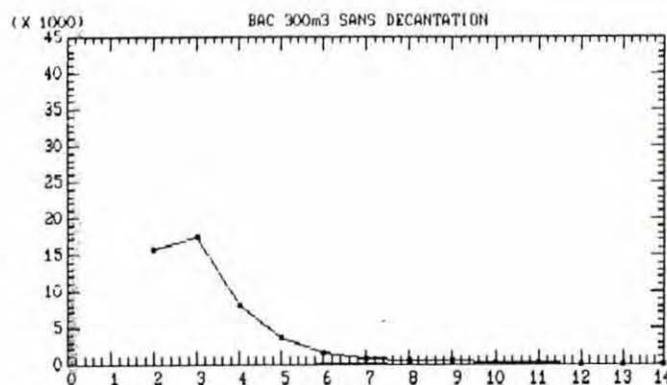
COMPTAGE DE PARTICULES  
DANS L'EAU DE FORAGE.



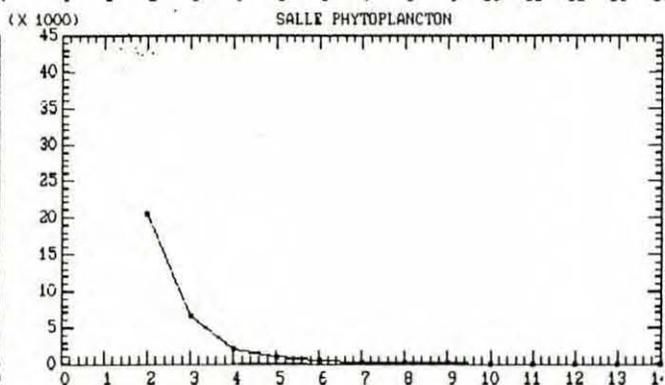
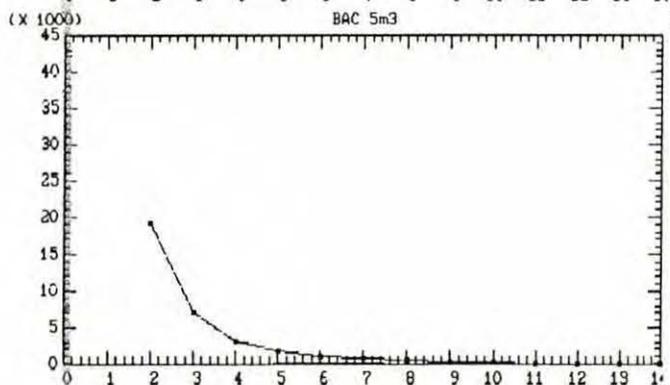
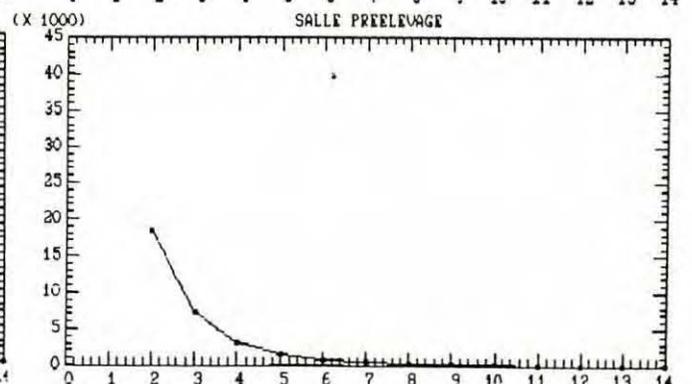
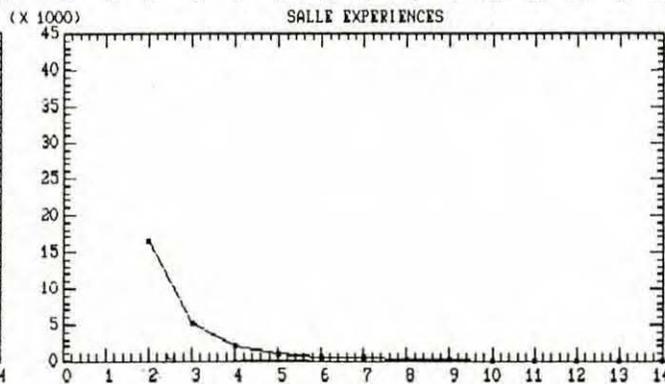
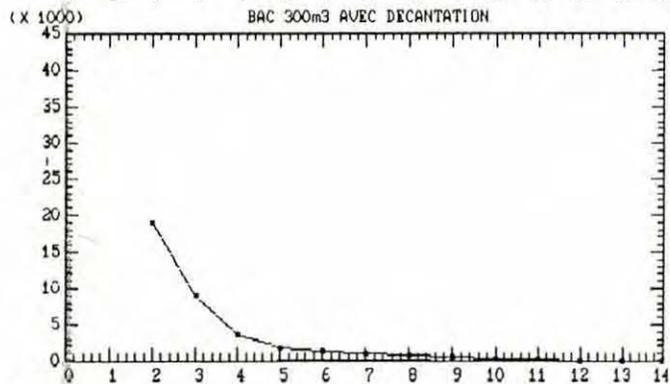
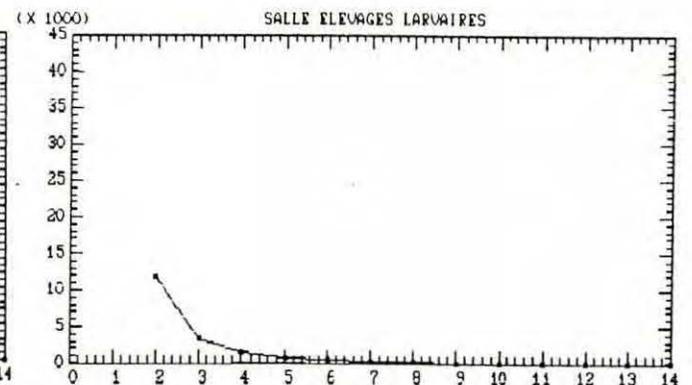
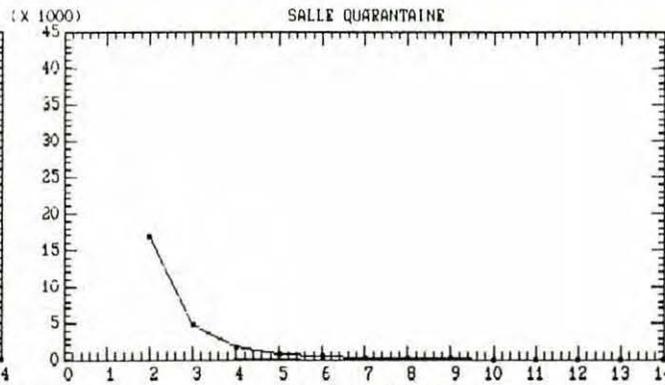
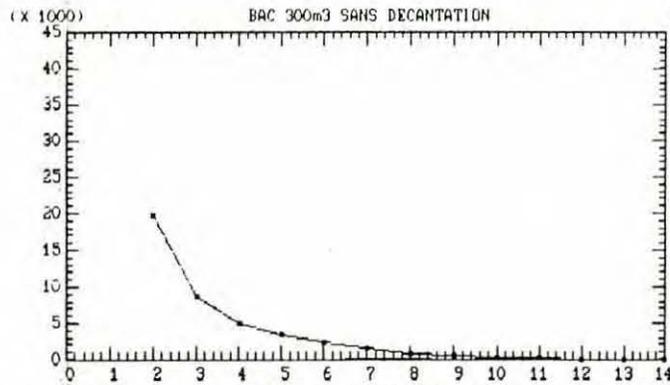
COMPTAGE DE PARTICULES (21/07).



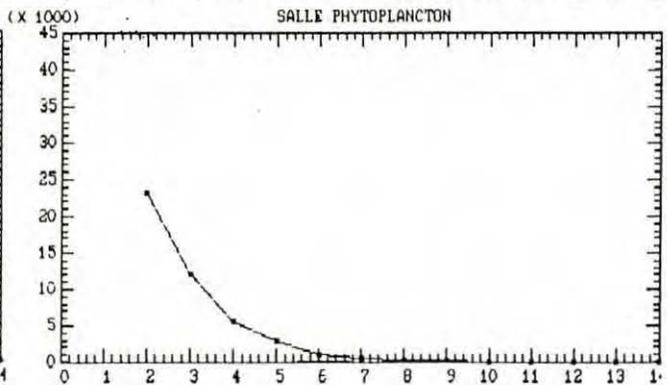
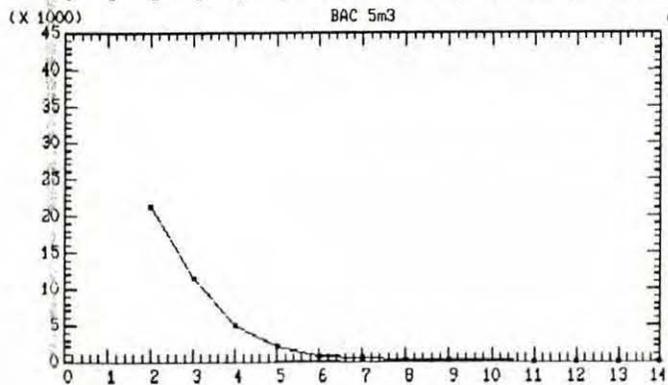
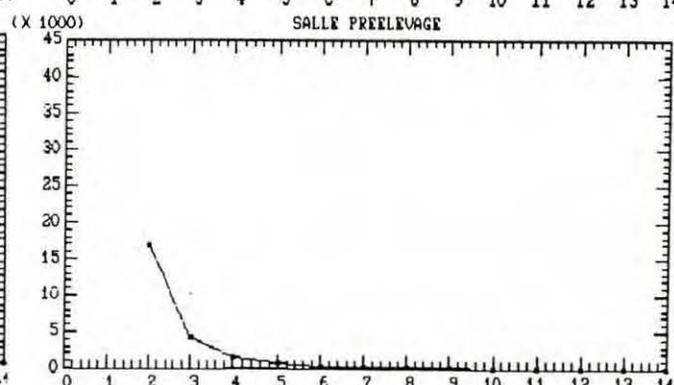
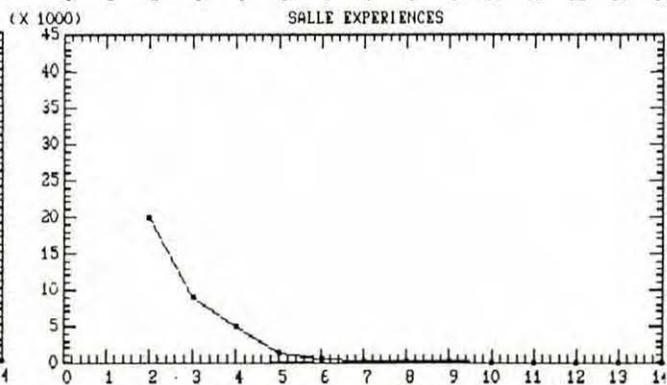
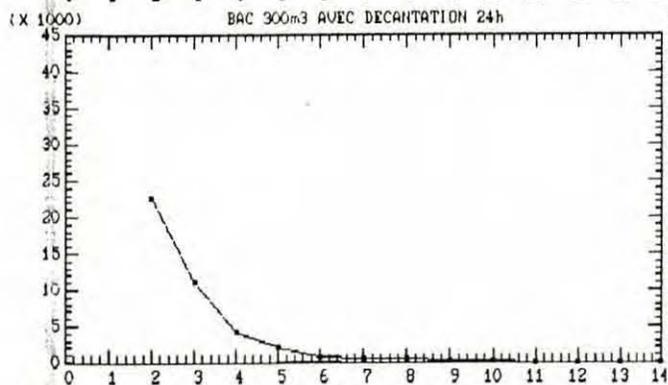
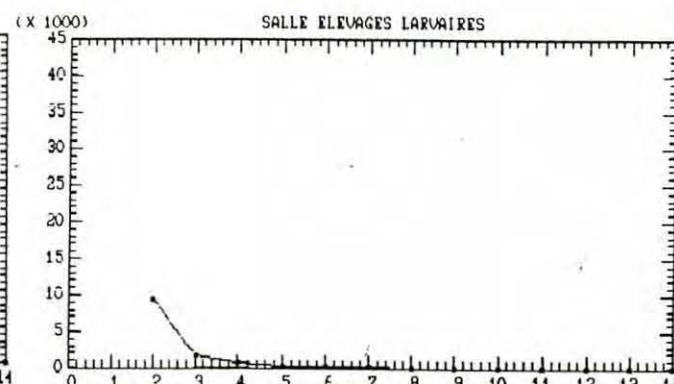
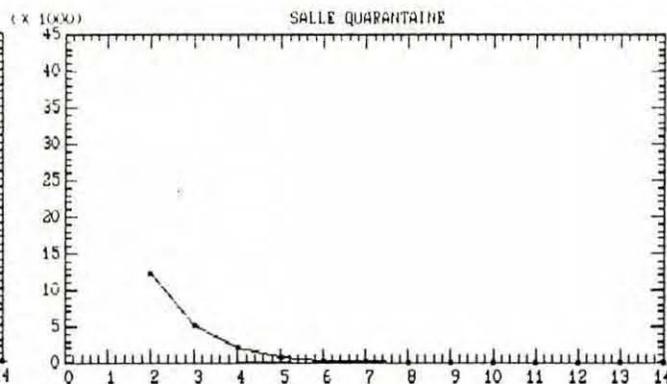
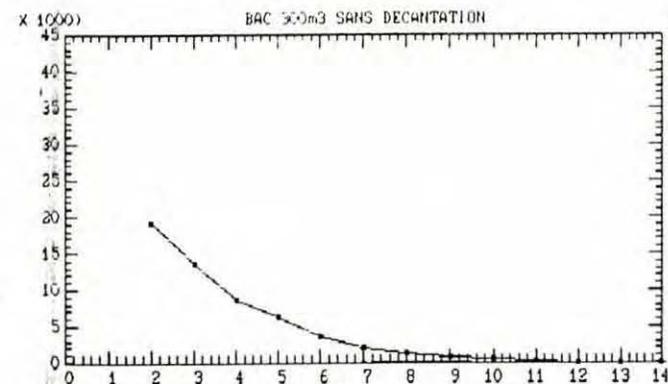
COMPTAGE DE PARTICULES (22/07).



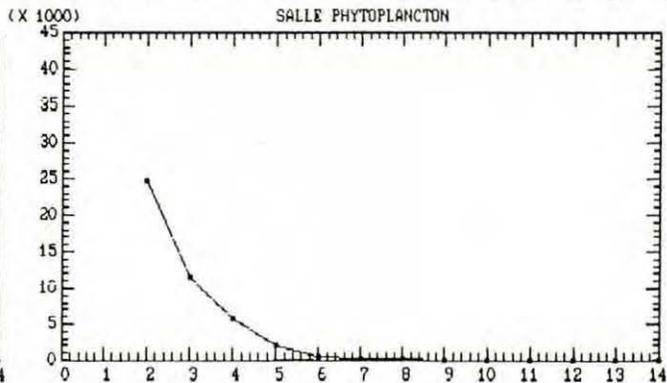
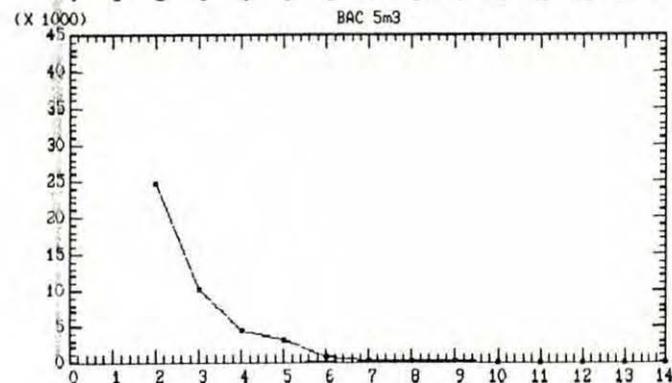
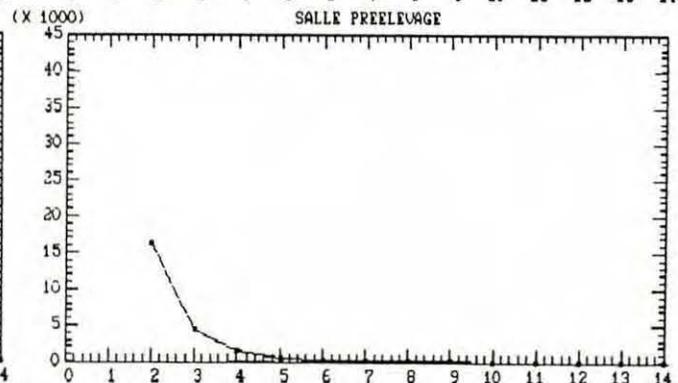
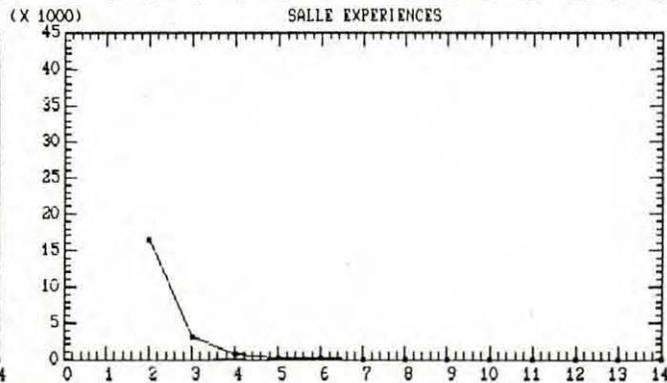
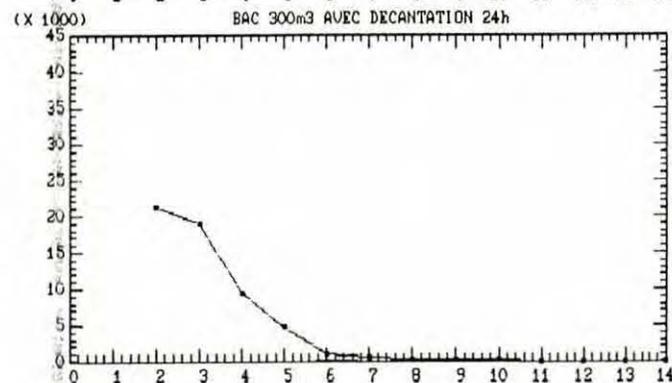
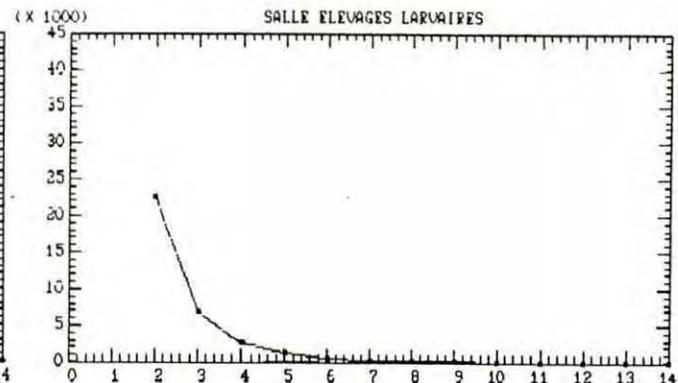
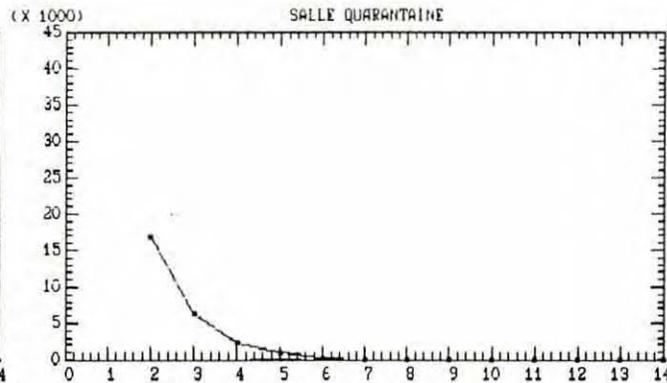
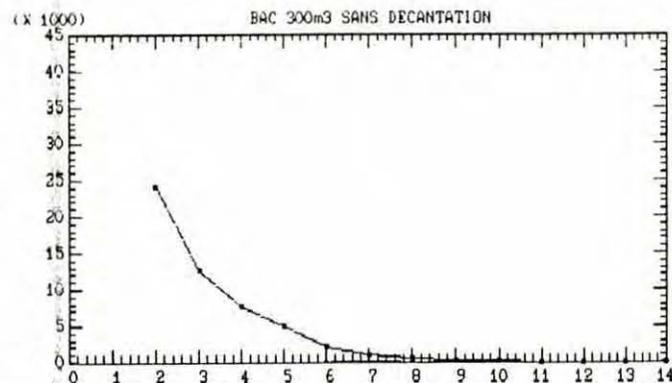
COMPTAGE DE PARTICULES (27/07).



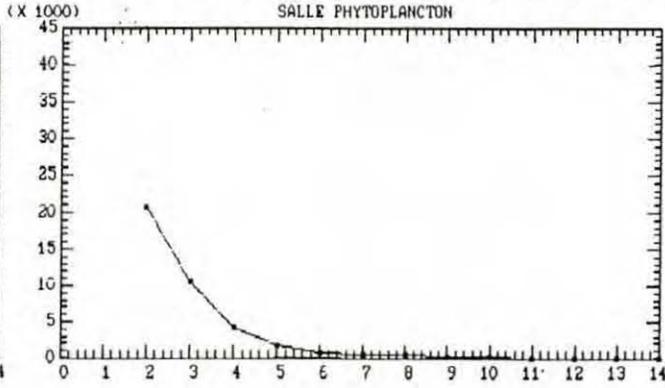
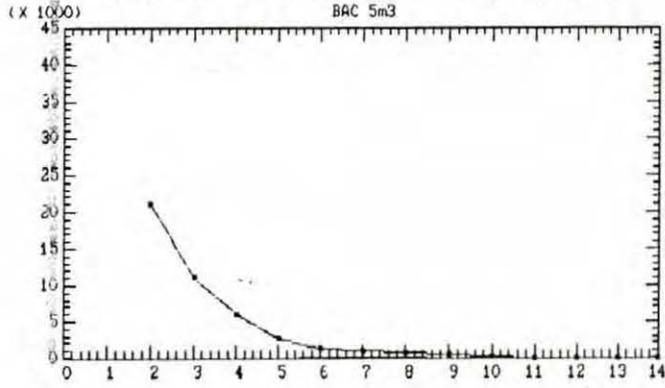
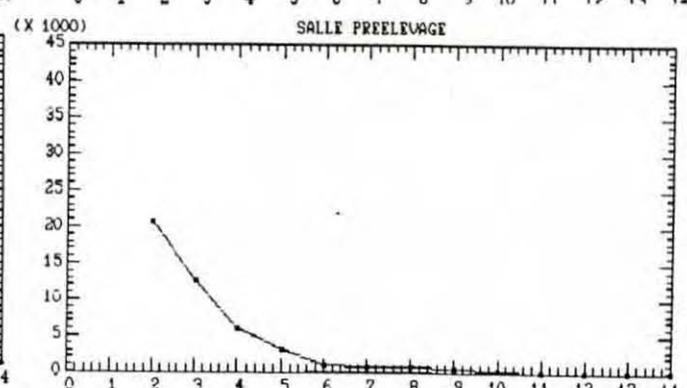
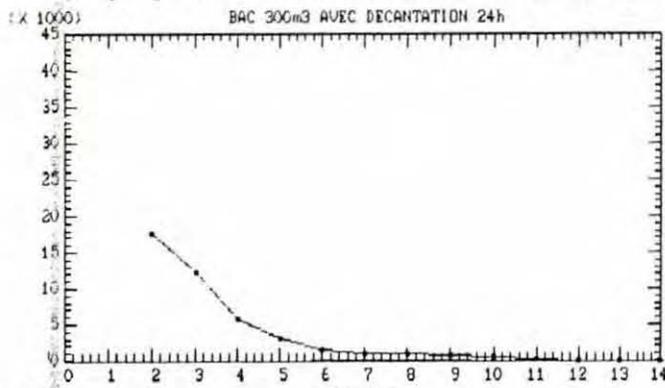
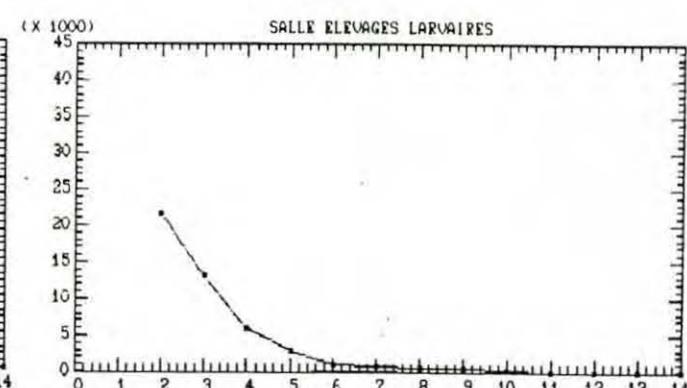
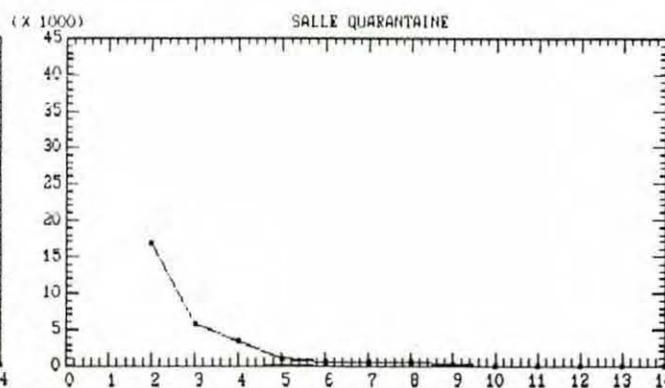
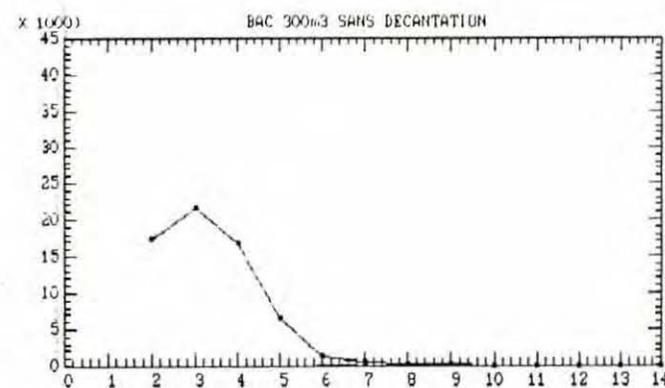
COMPTAGE DE PARTICULES (29/07).



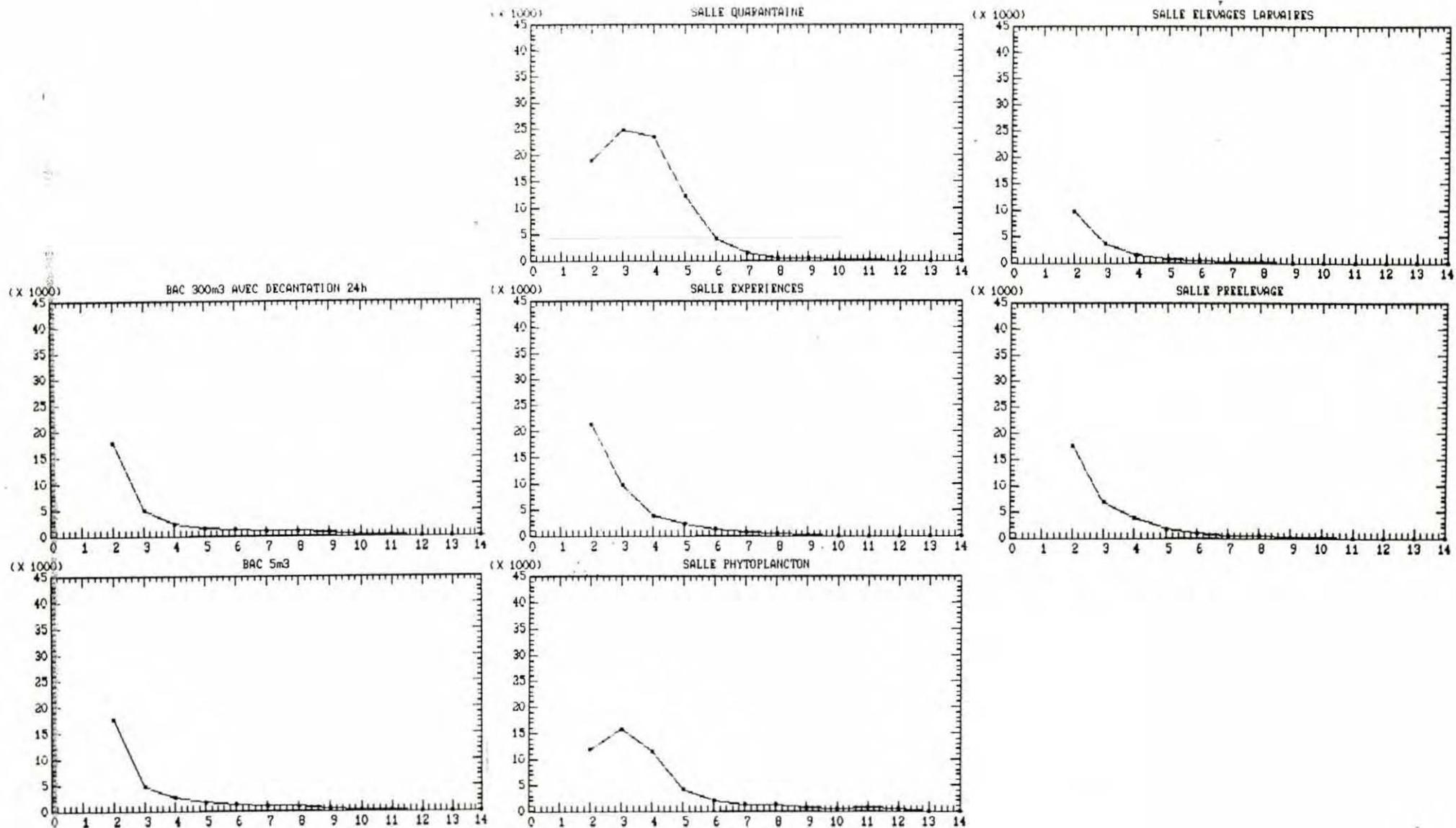
COMPTAGE DE PARTICULES (3/08).



COMPTAGE DE PARTICULES (4/08).



COMPTAGE DE PARTICULES (5/08).



COMPTAGE DE PARTICULES (10/08).

TEAU	O2P10	P1000	T01																
18.9	116.9	96.0	21.77470	25.7	88.0	72.0	22.25260	21.4	109.3	90.0	21.45040	21.1	124.8	102.0	22.34888	21.1	124.8	102.0	22.34888
18.9	123.3	103.0	19.66170	23.7	104.5	86.0	21.51660	18.1	70.2	58.0	21.09575	22.9	113.4	92.0	23.22665	22.9	113.4	92.0	23.22665
19.0	113.2	93.0	21.67104	22.9	109.6	89.0	23.16241	18.5	122.8	104.0	18.10406	21.3	123.9	99.0	25.14252	18.5	122.8	104.0	18.10406
19.7	116.0	94.0	23.37681	24.1	108.5	90.0	20.57708	18.8	127.1	104.0	22.16694	18.8	119.6	102.0	17.21504	18.8	119.6	102.0	17.21504
19.7	119.9	98.0	22.37537	23.8	51.2	40.0	27.98349	19.6	121.6	100.0	21.59332	19.8	135.6	110.0	23.26850	19.6	121.6	100.0	21.59332
19.9	121.6	102.0	19.24337	24.4	40.2	37.0	8.74704	18.7	124.6	99.0	25.85346	19.6	149.9	121.0	23.85877	18.7	124.6	99.0	25.85346
21.5	128.0	104.0	23.07010	24.6	112.4	90.0	24.90290	19.5	118.6	96.0	23.52771	20.0	133.9	110.0	21.75831	19.5	118.6	96.0	23.52771
19.2	130.8	108.0	21.10001	24.8	89.7	73.0	22.82657	22.0	126.8	102.0	24.29284	20.3	126.8	104.0	21.88167	22.0	126.8	102.0	24.29284
20.3	124.2	106.0	17.13349	22.6	98.7	78.0	26.50083	20.9	97.5	79.0	23.39303	21.7	123.1	99.0	24.37995	20.9	97.5	79.0	23.39303
19.6	126.4	104.0	21.49532	20.0	118.6	100.0	18.55457	17.4	71.3	58.0	22.90518	20.3	128.0	104.0	23.09209	17.4	71.3	58.0	22.90518
19.3	119.2	103.0	15.70001	21.4	118.1	96.0	23.02894	20.4	133.9	111.0	20.64154	20.6	128.8	106.0	21.51323	20.4	133.9	111.0	20.64154
19.6	125.3	105.0	19.29644	21.8	120.3	96.0	25.27833	20.8	141.6	115.0	23.10049	20.7	127.6	104.0	22.71400	20.8	141.6	115.0	23.10049
20.4	124.3	102.0	21.88088	22.8	79.5	63.0	26.18707	20.2	77.4	61.0	26.93009	18.3	102.5	87.0	17.77147	20.2	77.4	61.0	26.93009
19.8	124.3	108.0	15.12407	21.9	117.7	98.0	20.14994	21.0	134.0	108.0	24.04354	20.1	129.2	104.0	24.20585	21.9	117.7	98.0	20.14994
20.1	127.7	102.0	25.18786	23.2	99.8	83.0	20.22608	19.6	116.9	94.0	24.32551	20.0	132.9	110.0	20.83784	23.2	99.8	83.0	20.22608
22.1	124.0	102.0	21.52714	22.5	93.0	76.0	22.36730	21.7	132.4	107.0	23.75092	20.0	130.2	107.0	21.66944	22.5	93.0	76.0	22.36730
21.3	119.6	97.0	23.29559	21.4	114.7	95.0	20.68752	21.3	126.8	104.0	21.91132	20.3	129.7	105.0	23.48045	21.4	114.7	95.0	20.68752
19.9	123.5	100.0	23.45989	21.2	110.3	94.0	17.37366	19.9	42.7	38.0	12.42752	20.8	120.0	98.0	22.44252	21.2	110.3	94.0	17.37366
20.2	126.7	102.0	24.26070	21.9	102.2	85.0	20.24587	20.2	109.5	106.0	3.32534	20.7	131.9	106.0	24.41978	21.9	102.2	85.0	20.24587
20.3	119.0	98.0	21.38910	21.6	70.8	61.0	16.01323	20.0	140.8	118.0	19.30369	20.9	122.9	99.0	24.15733	21.6	70.8	61.0	16.01323
20.5	123.4	101.0	22.20504	21.8	110.2	93.0	18.47911	20.0	129.1	106.0	21.77955	19.7	120.3	100.0	20.28323	21.8	110.2	93.0	18.47911
20.9	113.5	97.0	17.03843	22.8	117.7	97.0	21.37031	20.5	118.2	91.0	29.88977	18.7	95.8	81.0	18.26471	22.8	117.7	97.0	21.37031
20.9	124.3	102.0	21.90137	21.9	56.2	47.0	19.64538	20.9	131.8	108.0	22.02950	19.0	131.8	111.0	18.69730	21.9	56.2	47.0	19.64538
21.2	138.6	113.0	22.66704	20.5	116.2	95.0	22.31596	20.9	129.8	106.0	22.47320	20.2	142.8	118.0	21.05095	20.5	116.2	95.0	22.31596
20.9	127.0	103.0	23.34216	18.7	112.5	92.0	22.29462	19.6	40.9	35.0	16.96329	20.4	146.1	120.0	21.70847	18.7	112.5	92.0	22.29462
21.1	120.8	99.0	22.01734	18.7	119.0	96.0	23.93459					20.7	129.3	103.0	25.57798	18.7	119.0	96.0	23.93459
20.4	123.3	101.0	22.05119	19.7	110.6	91.0	21.57929					20.5	131.6	107.0	22.94771	19.7	110.6	91.0	21.57929
20.4	124.6	101.0	23.37783	20.5	69.6	57.0	22.03197					21.3	126.4	104.0	21.53076	20.5	69.6	57.0	22.03197
20.7	118.6	96.0	23.50682	19.9	115.2	92.0	25.16741					22.0	118.6	94.0	26.14841	19.9	115.2	92.0	25.16741
20.6	115.7	97.0	19.30579	21.9	56.2	47.0	19.64538					21.9	109.6	90.0	21.77316	21.9	56.2	47.0	19.64538
20.7	122.6	98.0	25.11080	21.5	98.0	82.0	19.55746					18.4	107.2	93.0	15.26927	21.5	98.0	82.0	19.55746
21.4	128.3	105.0	22.17500	25.6	109.8	90.0	21.97496					19.9	121.8	100.0	21.77206	25.6	109.8	90.0	21.97496
21.2	125.1	103.0	21.45376	20.5	116.2	95.0	22.31596					20.1	129.2	106.0	21.86234	20.5	116.2	95.0	22.31596
26.2	50.4	41.0	22.97153	18.7	112.5	92.0	22.29462					20.2	128.1	104.0	23.15393	18.7	112.5	92.0	22.29462
19.7	135.1	110.0	22.78410	18.7	119.0	96.0	23.93459					20.7	118.5	97.0	22.16177	18.7	119.0	96.0	23.93459
19.7	129.8	104.0	24.77494	19.7	125.3	104.0	20.45531					21.3	119.8	97.0	23.51213	19.7	125.3	104.0	20.45531
19.9	126.3	102.0	23.78830	19.3	123.1	102.0	20.68600					20.4	131.3	108.0	21.58440	19.3	123.1	102.0	20.68600
20.1	122.7	99.0	23.97241	20.4	129.6	106.0	22.25397					23.8	102.5	81.0	26.54875	20.4	129.6	106.0	22.25397
20.2	125.6	101.0	24.38987	20.0	131.3	108.0	21.55738					22.5	64.0	53.0	20.82178	20.0	131.3	108.0	21.55738
20.3	125.9	101.0	24.62061	21.2	120.4	100.0	20.38226					19.5	79.6	65.0	22.44676	21.2	120.4	100.0	20.38226
21.3	121.4	97.0	25.13507	19.3	119.2	98.0	21.67526					19.4	176.1	146.0	20.63455	19.3	119.2	98.0	21.67526
20.7	126.7	101.0	25.47035									19.5	175.1	143.0	22.47610				
21.6	80.4	68.0	18.22630									19.9	179.1	145.0	23.52421				
20.2	114.8	93.0	23.44739									20.0	152.6	129.0	18.28631				
20.4	120.7	95.0	27.08838									19.8	147.0	112.0	31.24435				
20.6	129.3	106.4	21.48418									20.2	144.1	110.0	30.99099				
20.9	107.0	86.0	24.36949									20.2	157.4	130.0	21.10136				
20.8	127.0	100.0	27.03283									20.3	147.0	117.0	25.66739				
20.8	132.4	107.0	23.77428									19.5	132.3	106.0	24.81239				
21.0	131.6	105.0	25.30357									19.2	124.7	101.0	23.45758				
22.8	131.6	104.0	26.57093									19.7	131.2	108.0	21.52345				
20.1	122.3	100.0	22.29895									19.9	121.1	95.0	27.46390				
20.5	124.7	100.0	24.69531									20.8	102.8	86.0	19.56750				
20.7	121.2	98.0	23.66329									19.8	57.1	47.0	21.51511				
21.0	117.8	94.0	25.31662									20.3	57.6	49.0	17.57409				
20.9	124.3	102.0	21.82988									20.6	125.4	102.0	22.98123				

T01

3939.94721 Sum  
22.13453 Ave  
10.66893 Var  
3.26633 Sdv  
3.32534 Min  
31.24435 Max

Number of Observations: 178

T01 = SUREVALUATION DU TAUX D'OXYGENE DISSOUS MESURE AVEC  
LA SONDE WTW Oxymeter PAR RAPPORT A LA VALEUR THEORIQUE.

PROCEDURE DE CALCUL DU POURCENTAGE DE SATURATION EN OXYGENE DISSOUS DANS L'EAU

```
LET A=0
LET T=0
LET D=0
LET B=0
LET C=0
LET F=0;LET J=0; LET M=0

FINISH ALL
USE DUFYDRO
E.SUPD=TRUE
OBTAIN FIRST FROM DUFYDRO
WHILE NOT PASTEND(DUFYDRO) AND #FOUND=TRUE DO
T=(TEAU+273.16)/100
F=173.4292+(249.6339/T)+(143.3483*LN(T))
B=F-21.8492*T
C=B+SAL*(-0.033096+(0.014259*T)-(0.0017*T**2))
D=EXP(C)

O2P100=100*O2ML/D
```

Cette procédure a pu être utilisée grâce à Monsieur RAZET.

- 49 -  
**PROTIDES PARTICULAIRES**

Tableau 1 : Données brutes (D.O.)

	AP	BP	CP	DP	DOP	COP
	0.350999	0.206	0.126	-0.03	0.034	0
	0.501	0.15	0.201	0.350001	0.177	40
	0.359999	0.185	0.158	0.31	0.296	80
	0.947001	0.16	0.095	0.171	0.4	120
	0.306	0.162	0.112	0.132		
	0.614999	0.0920001	0.0010001	0.161		
	0.29	0.151	0.043	0.156		
	-0.03	0.159	0.142	0.173		
	0.12	0.128	0.034	0.035		

Simple Regression of COP on DOP

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept	-14.1428	4.40751	-3.20879	0.0049319
Slope	326.98	16.6558	19.6316	2.58466E-3

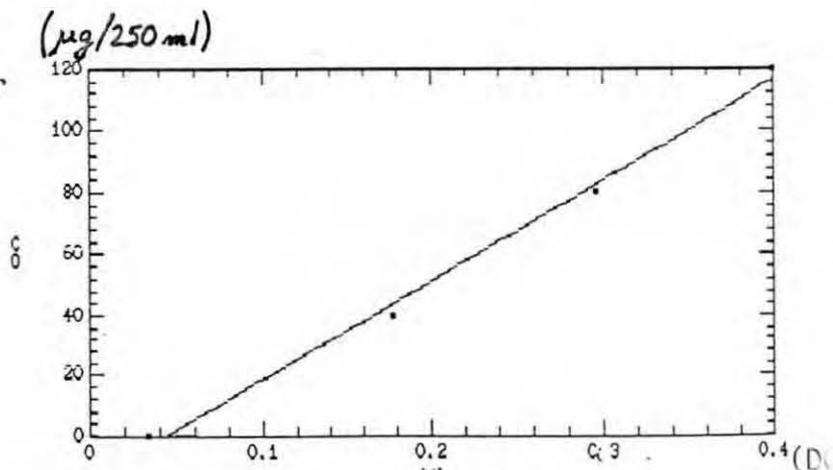
Tableau 2 : Calcul de la droite de régression

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio
Model	7958.6989	1	7958.6989	385.3992
Error	41.301070	2	20.650535	
Total (Corr.)	8000.0000	3		

Correlation Coefficient = 0.997415  
 Std. Error of Est. = 4.54429

Figure 8 : Droite de régression à partir de la gamme étalon.



AP                  BP                  CP                  DP

	412,97	317,5	108,23	traces
	703,32	139,6	310,95	401,2
	414,28	185,39	150,08	348,84
1	182,03	152,69	67,68	167,08
	343,65	155,31	89,9	116,07
	747,8	63,76	49,37	154,0
	322,72	140,92	traces	147,46
	traces	151,38	129,15	169,7
-	100,34	110,84	traces	traces

Tableau 3 : Concentration en protides particulaires (ug/l).

Tableau 4 : Données brutes (D.O.)

	AL	BL	CL	DL	COL	DOL
	0.29	0.164	0.172	-0.06	0	0.1485
	0.64	0.064	0.21	0.27	60	0.466
	0.24	0.101	0.124	0.044	120	0.8295
	0.42	0.213	0.096	0.01		
	0.324	0.94	0.1	0.03		
	0.465	0.062	0.05	0.163		
	0.343	0.065	0.084	0.186		
	-0.06	0.102	0.088	0.038		
	0.04	0.065	0.05	0.085		

Simple Regression of COL on DOL

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept	-23.2828	3.0763	-7.56844	0.0036306
Slope	173.989	5.5402	31.4048	0.0202646

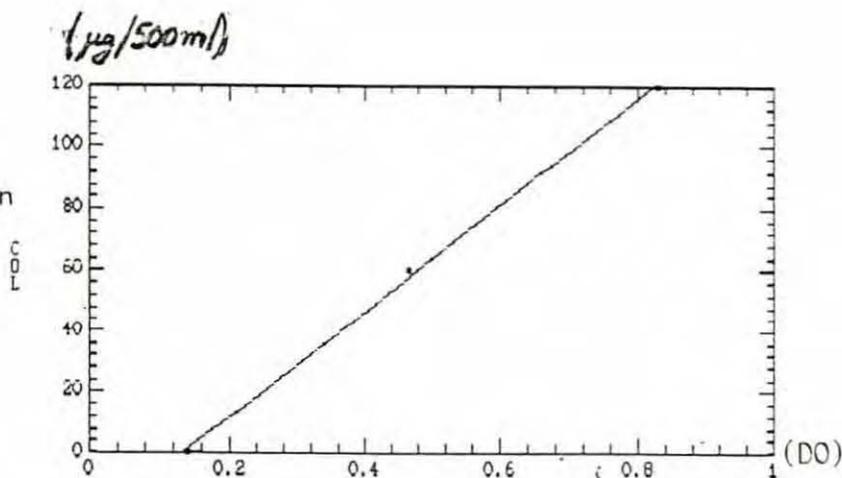
Tableau 5 : Calcul de la droite de régression.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio
Model	7192.7071	1	7192.7071	986.2625
Error	7.2928935	1	7.2928935	
Total (Corr.)	7200.0000	2		

Correlation Coefficient = 0.999493  
Std. Error of Est. = 2.70054

Figure 9 : Droite de régression à partir de la gamme étalon



AL                      BL                      CL                      DL

54,35	10,5	13,28	traces
176,14	traces	26,5	47,38
36,95	traces	traces	traces
99,58	27,55	traces	traces
66,18	280,52	traces	traces
115,24	traces	traces	10,15
72,79	traces	traces	18,15
traces	traces	traces	traces
traces	traces	traces	traces

Tableau 6 : Concentration en lipides particuliers (ug/l).

- 51 -  
GLUCIDES PARTICULAIRES

Tableau 7 : Données brutes (D.O.)

	AG	BG	CG	DG	DOG	COG
	0.490354	0.35	0.280001	-0.0499993	0.02	0
	1.25085	0.42	0.200001	0.443904	0.293	40
	1.55105	0.23	0.320001	0.196952	0.578	80
	0.950655	0.19	0.510001	0.114635	0.915	120
	0.85059	0.25	0.210001	0.0734765		
	0.950655	0.25	0.250001	0.0487813		
	0.200164	0.2	0.190001	0.0570131		
	-0.05	0.22	0.230001	0.27927		
	0.350262	0.37	0.400001	0.0981717		

Simple Regression of CO on DO

Parameter	Estimate	Standard Error	T Value	Prob. Level
Intercept	-0.656249	2.66489	-0.246257	0.820451
Slope	134.344	4.75276	28.2665	1.24923E-3

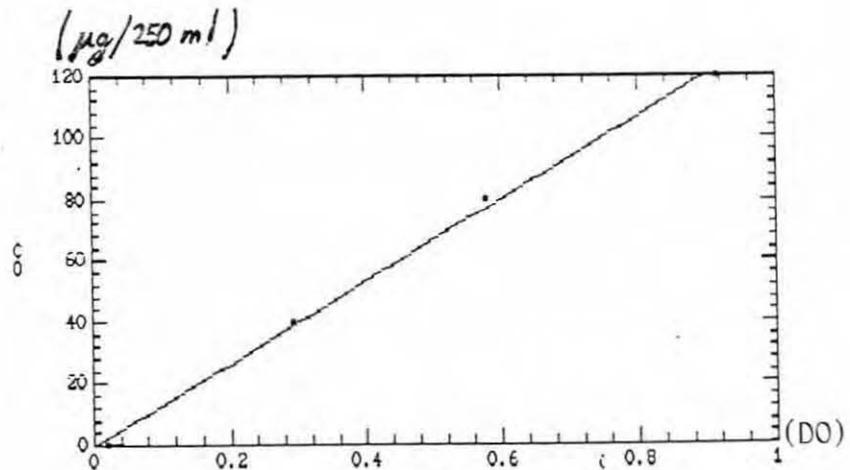
Tableau 8 : Calcul de la droite de régression.

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio
Model	7980.0248	1	7980.0248	798.9946
Error	19.975167	2	9.987583	
Total (Corr.)	8000.0000	3		

Correlation Coefficient = 0.998751  
Std. Error of Est. = 3.16031

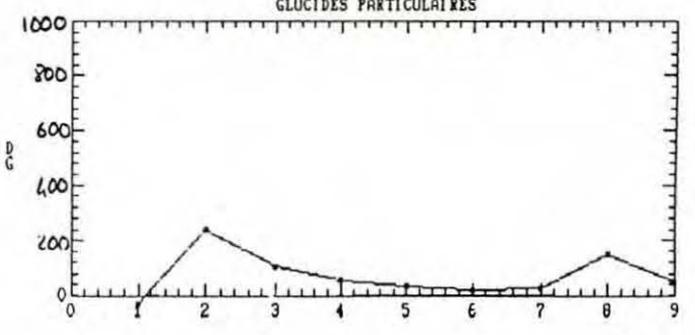
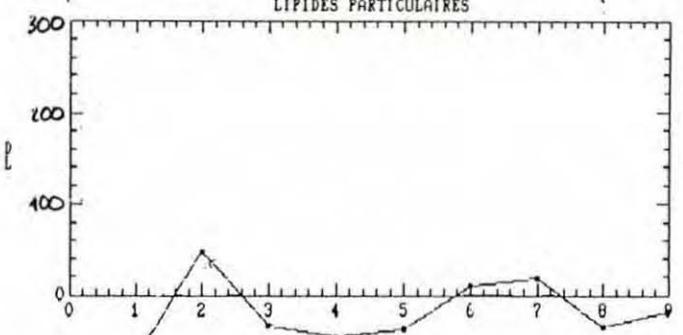
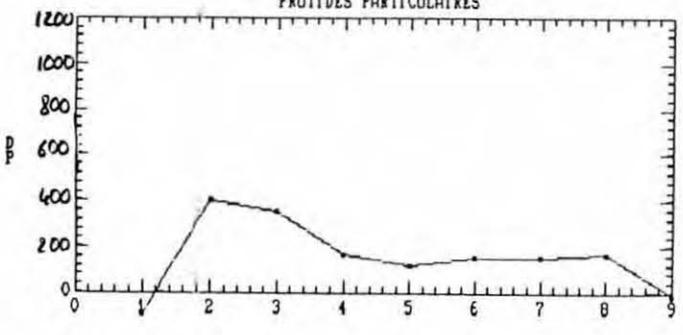
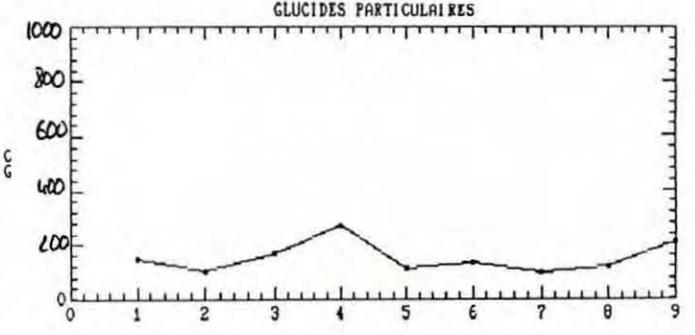
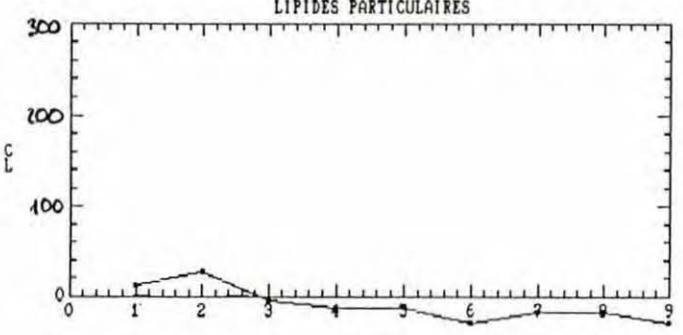
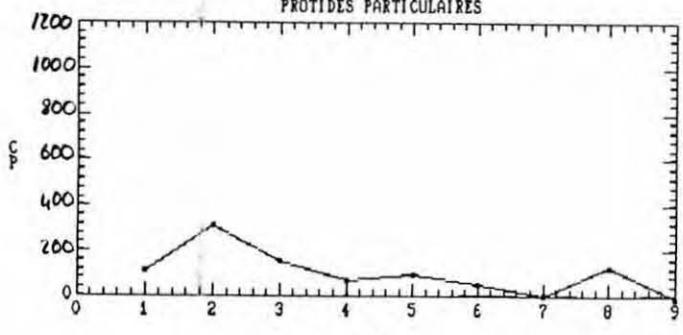
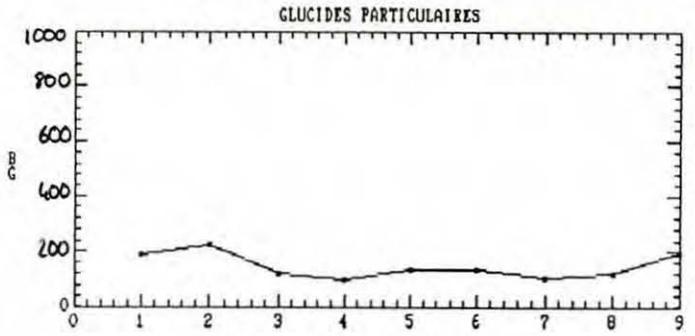
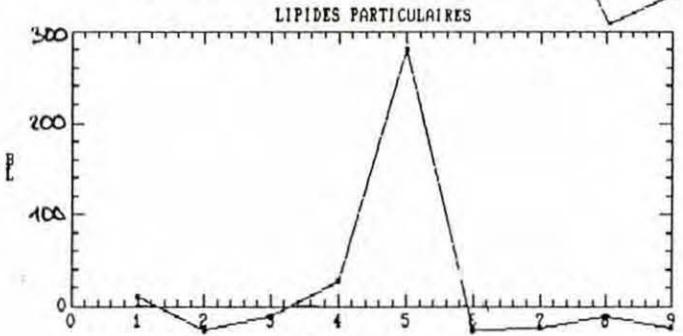
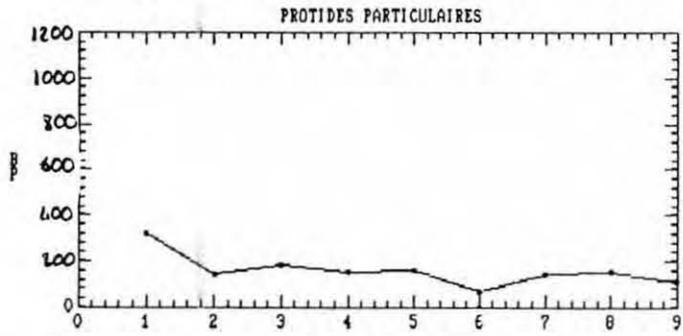
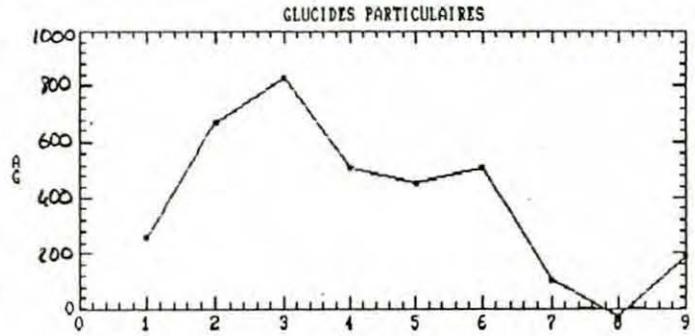
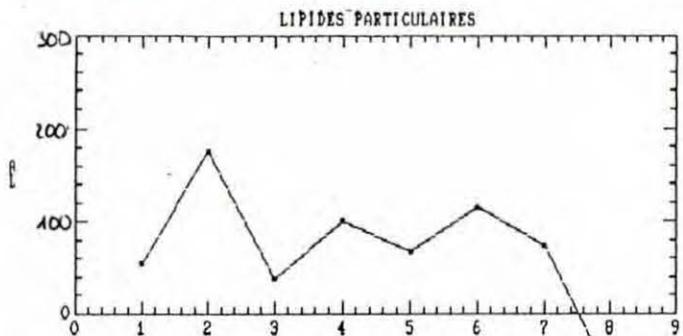
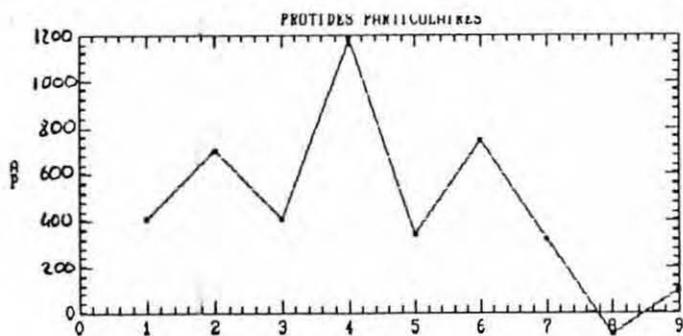
Figure 10 : Droite de régression à partir de la gamme étalon



AG                      BG                      CG                      PG

260,88	185,46	147,84	traces
669,56	223,07	104,85	235,9
830,88	120,97	169,33	103,21
508,24	99,47	271,43	58,97
454,48	131,72	110,22	36,86
508,24	131,72	131,72	23,59
104,95	104,85	99,47	28,01
traces	115,6	120,97	147,45
185,6	196,2	212,32	50,13

Tableau 9 : Concentration en glucides particulaires ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ).



GRAPHIQUES DES CONCENTRATIONS EN PROTIDES, LIPIDES, GLUCIDES. (µg/l)

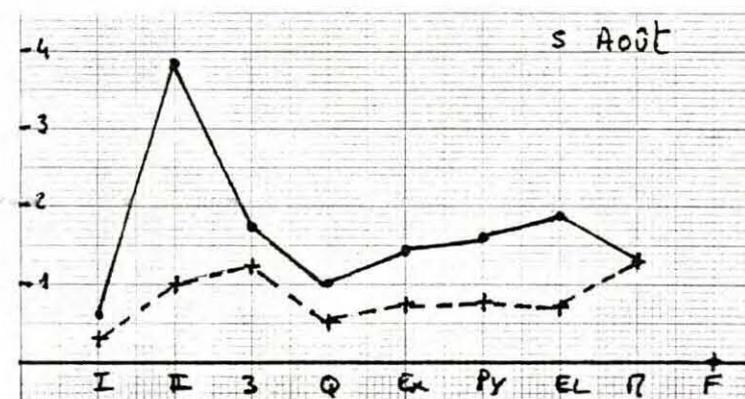
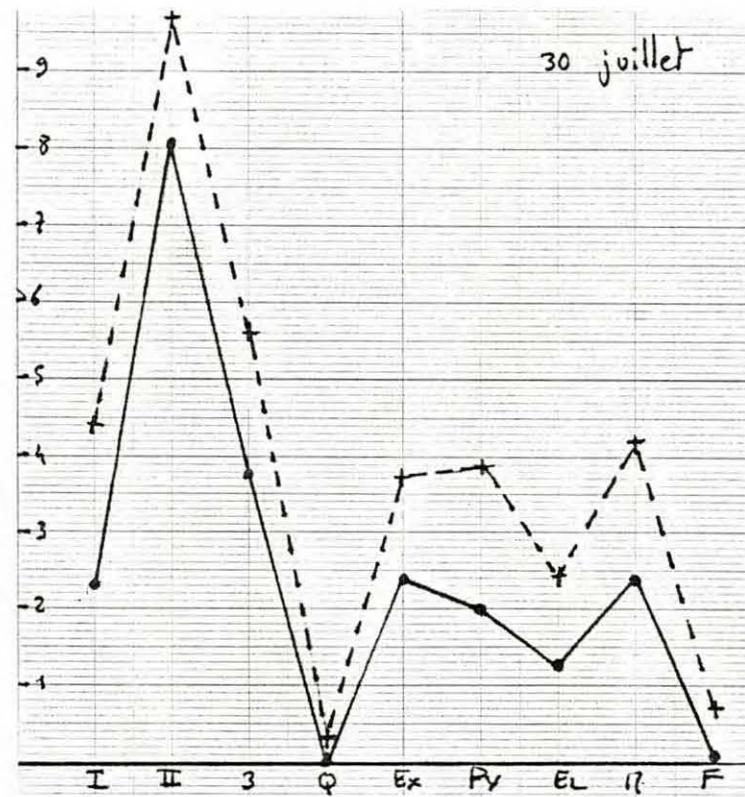
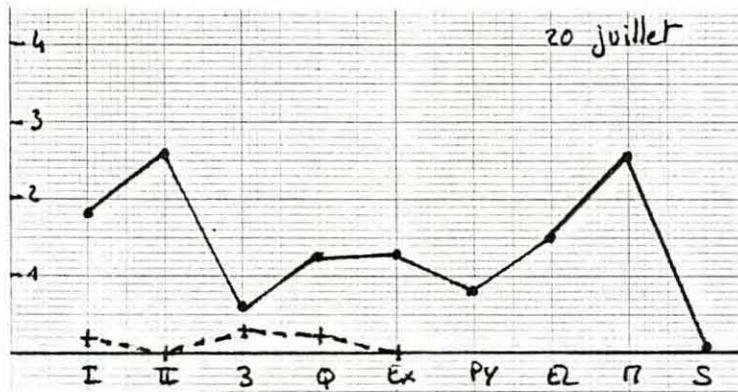
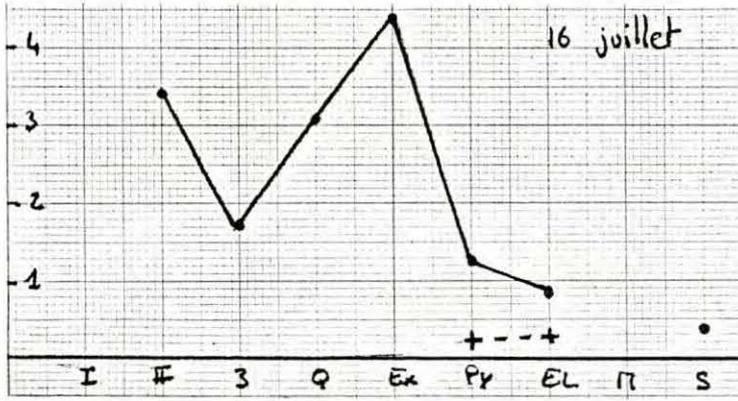
Tableau 10 : CONCENTRATIONS EN PIGMENTS ( $\mu\text{g/l}$ ).

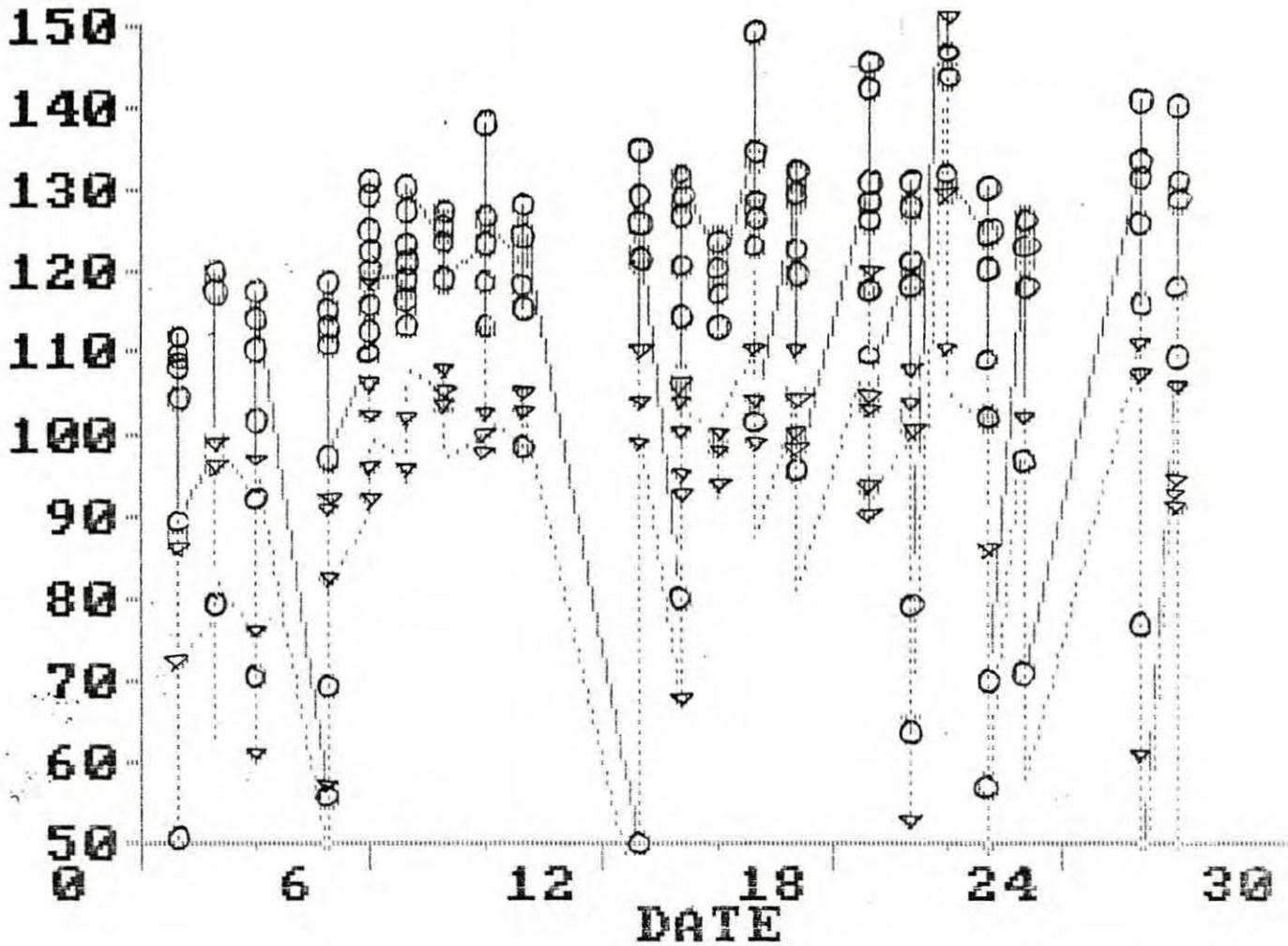
	Ch	Ph	Ch	Ph	Ch	Ph	Ch	Ph
I	-	-	1,77	0,18	2,31	4,41	0,63	0,3
II	3,45	0,01	2,6	0,01	8,07	9,68	3,86	1,01
3	1,72	0,01	0,61	0,3	3,75	5,58	1,75	1,25
Q	3,08	0,01	1,26	0,22	0,02	0,32	0,97	0,5
Ex	4,40	0,01	1,27	0,03	2,4	3,72	1,41	0,74
PY	1,24	0,24	0,82	0,01	1,99	3,87	1,58	0,82
EL	0,88	0,3	1,51	0,01	1,26	2,38	1,89	0,74
M	-	-	2,53	0,01	2,4	4,19	1,31	1,25
S/F	0,37	0,01	0,08	0,03	0,07	0,69	0,03	0,04
	16/7		20/7		30/7		5/8	

Tableau 11 : DOSAGE DES SELS NUTRITIFS ( $\mu\text{atg/l}$ ).

	Nitrites	Nitrates	NH <sub>4</sub>	PO <sub>4</sub>	Si	Urée
I	0,25	3,26	2,07	2,95	8,97	0,99
II	-	0,96	0,18	4,40	6,12	3,08
3	0,03	4,80	1,44	1,8	7,59	20,6
Q	0,44	2,28	2,05	1,45	6,89	3,38
Ex	0,04	2,90	0,31	3,40	7,47	0,91
PY	0,04	5,18	2,47	1,61	7,82	1,73
EL	0,03	2,75	1,52	2,40	10,84	1,78
M	0,07	2,33	0,94	2,0	11,59	1,19
F	-	1,91	201,4	1,8	160,5	1,84

- 54 -  
 CHLOROPHYLLE a ET PHEOPIGMENTS a ( $\mu\text{g/l}$ )





○ valeur mesurée (WTW)  
▽ valeur théorique

Figure 7 : Graphique visualisant les surestimations du taux d'oxygène dissous (% saturation).

D I S C U S S I O N

## DISCUSSION

### ANALYSES HYDROLOGIQUES

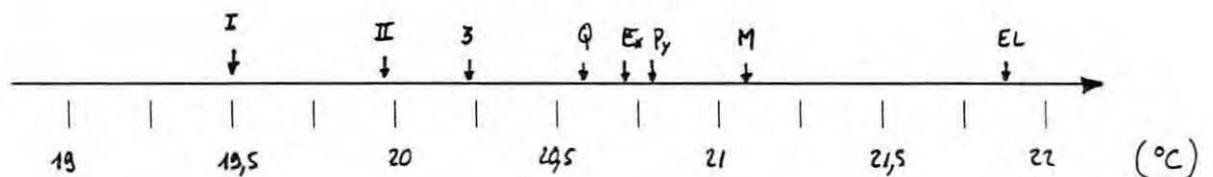
#### - Température

Les fluctuations autour de leur moyenne de la température de l'eau de l'ensemble des échantillons sont relativement faibles.

On notera tout de même que l'eau pompée directement dans l'estuaire (bac 1) suit des valeurs légèrement plus constantes et proches de 19°5. Ceci est dû au volant thermique de l'eau de mer.

Par contre, une fois stockée (bac 2, 3 et salles), la température va dépendre de plusieurs facteurs dont le temps de stockage dans les bacs 2 et 3 ainsi que la température ambiante externe.

La comparaison des moyennes des températures fait apparaître un réchauffement progressif lors du transit de l'eau pour la période considérée (juillet-août) et pouvant atteindre 3°C.



Une température de 20°C est considérée comme nécessaire en période de reproduction des huîtres. L'installation agit donc favorablement sur ce point par le réchauffement qu'elle occasionne.

Quelques relevés effectués en serre ont visualisé la très grande sensibilité de cette salle aux variations de lumière naturelle et la valeur moyenne enregistrée et constamment supérieure à celle des autres salles.

### - pH

Le pH de l'eau de mer est de 8,00 en moyenne ce qui correspond tout à fait aux valeurs habituelles mesurées dans l'estuaire (Héral et al., 1984).

De plus, le pH ne varie pas significativement au cours du trajet de l'eau au sein de l'écloserie.

### - Salinité

La salinité moyenne évolue très peu au cours du trajet de l'eau et se maintient à 31,5 ‰ dans les salles comparée à 31,2 ‰ en mer.

On peut donc considérer comme nulle l'influence du réseau d'alimentation sur ce facteur (facteur conservatif).

### - Oxygène dissous

Les résultats les plus intéressants ont été obtenus lors de l'évaluation du taux d'oxygène dissous dans l'eau. Celui-ci a été mesuré en pourcentage de saturation et en mg/l d'eau de mer.

#### \* Au niveau des bacs extérieurs

La superposition des courbes (figure 5) révèle la constance du taux d'oxygène entre les bacs 1, 2 et 3. Cela signifie que, ni la décantation de 24 heures, ni le passage au travers du filtre à sable extérieur de 40  $\mu\text{m}$  n'affectent ce paramètre.

On conserve donc la concentration naturelle de l'eau en oxygène dissous, et ce jusqu'à l'entrée des salles. Cette valeur est d'ailleurs suffisamment élevée (104 %).

#### \* Au niveau des salles intérieures

Les quatre premières mesures ont révélé immédiatement une différence significative pour ce facteur entre les bacs extérieurs et les différentes salles.

3 cas se distinguaient :

- la salle de phytoplancton conservait un taux d' $O_2$  identique à celui présent dans l'estuaire
- la serre présentait un taux extrêmement faible
- les autres salles étaient constamment inférieures à 90 % et avec des variations très importantes selon les jours et la salle.

Les 3 situations en présence exprimaient donc bien des différences d'utilisation des salles et vraisemblablement liées à l'état de leurs filtres respectifs.

- le filtre de la salle de phytoplancton était rincé régulièrement chaque matin.
- la serre étant une salle peu sollicitée, son filtre était peu rincé. La stagnation de l'eau qui en résulte et la température élevée qui règne dans les canalisations font que le taux d' $O_2$  est toujours très faible.
- les autres salles sont l'objet d'utilisations plus irrégulières en fréquence, ce qui se répercute sur l'état des filtres.

Ces constatations ont amené à l'expérience suivante qui a duré dix jours environ (relevés 5 à 15).

Chaque mesure était désormais précédée d'un rinçage des filtres à sables internes aux salles (10  $\mu m$ ). Les résultats sont immédiats et très significatifs.

Toutes les salles retrouvent un taux d'oxygène dissous autour de 105 % (identique ou supérieur à celui de l'eau de l'estuaire). Ceci est également valable pour les salles dont la teneur en  $O_2$  était très faible. De plus, la variabilité devient quasi nulle.

- Cette expérience importante a donc révélé plusieurs problèmes au niveau des filtres à sable ( $10 \mu$ )

Il y a un encrassement des filtres suffisamment rapide pour permettre une baisse de la qualité de l'eau en oxygène. En plus du phénomène de colmatage, il s'agit certainement d'un problème de stagnation de l'eau à l'intérieur du filtre lorsque le circuit est fermé. Cela favorise probablement un développement bactérien au sein même des filtres (nids bactériens).

Il est nécessaire d'effectuer un rinçage complet chaque jour et surtout avant chaque nouvelle mise en élevage afin d'avoir un taux correct d' $O_2$ . A ce sujet, bien que l'on conserve une concentration en  $O_2$  satisfaisante, il est préférable de conserver les systèmes de bullage dans les bacs.

Il semble donc que le fait même que le circuit de l'écloserie fonctionne de manière alternative et irrégulière soit le facteur principal favorisant la prolifération de consommateurs d'oxygène. Ceci a été mis en évidence par une expérience effectuée en continu sur 60 heures en salle de quarantaine. la concentration d' $O_2$  en mg/l a été mesurée en aval du filtre à sable.

### Résultats

Avant rinçage : 6,5 mg/l ( 75 %)

Après rinçage : 8,5 mg/l ( 100 %)

Cette valeur se maintient ensuite durant au moins 50 heures puis décroît jusqu'à 70 mg/l de la 50ème à la 60ème heure. Après 60 heures, un rinçage complet réhausse immédiatement la concentration à 7,5 mg/l.

Le vieillissement des filtres ( $10 \mu$ ) est donc bien moindre lorsque le circuit fonctionne en continu, ce qui n'est pas le cas des filtres à cartouches ( $1 \mu$ ).

Cette expérience a également montré un léger rythme circadien puisque le taux d' $O_2$  remonte en milieu de journée (production par les organismes photosynthétiques).

**- Vérification de la fiabilité de la sonde WTW OXYMETER**

La totalité des mesures du pourcentage de saturation en oxygène dissous a été comparée aux valeurs théoriques en fonction de la température afin de mettre en évidence une éventuelle déviation de l'appareil.

Il apparaît une surévaluation de 20 % environ par rapport aux valeurs théoriques (fig. 7). Cette valeur étant constante, les résultats demeurent comparables entre eux.

## ANALYSES PARTICULAIRES

### - Turbidité

Les mesures de turbidité n'autorisent qu'une estimation globale de la quantité de particules en suspension dans l'eau de mer. Par cette méthode, on ne distingue pas les proportions de matières sestoniques minérales ou organiques, ni la répartition entre le vivant et le non vivant (plancton et tripton).

Elle permet par contre de visualiser l'efficacité de la décantation et des filtrages successifs.

Le rôle de l'installation étant aussi de contrôler l'eau utilisée par les organismes filtreurs (mollusques), il est intéressant de ramener celle-ci à une turbidité la plus constante et la plus faible possible, ceci dans un soucis de comparer des résultats sur différents bacs ou salles d'expériences et de faciliter les élevages larvaires.

La turbidité du bassin à la sortie de l'estuaire de la Charente peut atteindre 300 NTU en période hivernale et ceci associé à une charge sestonique de 8 000 mg/l. Dans l'estuaire de la Seudre où est puisée l'eau de l'écloserie, on constate rarement des charges sestoniques supérieures à 200 mg/l. Il y a donc un rapport 1/40 pour la charge sestonique entre ces deux stations. Exprimée en turbidité, cela situerait l'estuaire de la Seudre autour de  $300/40 = 7,5$  NTU (valeur proche de celle du bac 1). Héral et al. relèvent des turbidités estivales inférieures à 40 voire 20 NTU.

L'eau du bac 1 présente une turbidité moyenne de 6,8 NTU avec une variance relativement élevée. La qualité de cette eau dépend directement des conditions naturelles estuariennes, c'est à dire du degré d'agitation de l'eau (vagues, coefficients de marée, saison) et peut être de l'état de la marée (haute ou basse) ainsi que des apports telluriques (ruissellement).

Une décantation préliminaire de 24 heures semble une étape nécessaire à la clarification de l'eau. On parvient ici à une turbidité

moyenne de 3,6 NTU et les valeurs sont plus constantes. Pourtant, le bac 2 peut subir également un léger brassage des particules fines puisqu'il est exposé au vent. D'où la nécessité de le nettoyer régulièrement.

La turbidité est ensuite diminuée au niveau du bac 3 grâce au filtre 40  $\mu\text{m}$ . En fait, cette filtration est une "sécurité" dans le cas où il subsisterait un trouble encore élevé après décantation. Dans le cas inverse, on n'observe pas de changements notables après filtration.

La seconde filtration sur 10  $\mu$  au niveau de chaque salle abaisse la turbidité de 2,4 NTU à des valeurs inférieures à 2 NTU.

Il est à noter que ces valeurs sont relativement faibles et qu'il semble difficile, au sein d'une telle installation, d'approcher des valeurs proches de zéro.

Il apparaît donc une efficacité notable des 3 étapes citées sur la diminution de la turbidité.

Une dernière filtration sur cartouches de porosité 1  $\mu$  est effectuée en plus avant d'alimenter les bacs d'expérience. Cette dernière n'a pas fait l'objet d'une étude mais on peut penser qu'elle améliore encore la limpidité de l'eau dans la mesure où les cartouches sont renouvelées fréquemment (colmatage).

#### - Nombre de particules

Comme le turbidimètre, le Coulter Counter ne distingue pas les différents types de matières en suspension. Par contre, il apporte une précision supplémentaire non négligeable : l'effectif en particules par classes de taille entre 0,6  $\mu\text{m}$  et 25  $\mu\text{m}$  pour la sonde utilisée (50  $\mu\text{m}$ ). Ceci permet de vérifier l'efficacité des filtrations successives.

#### \* Bacs extérieurs

Aucun comptage n'a révélé une présence significative (supérieure à 100) de particules au delà du canal 10 voire 7 et du canal 7 dans l'eau pompée en mer (bac 1).

Nous travaillerons donc avec une eau constituée de matières en suspension de taille maximale à  $5\ \mu\text{m}$  voire  $3\ \mu\text{m}$ .

La décantation de 24 heures semble éliminer les particules comprises entre les canaux 4 et 10, soit des diamètres moyens de  $1,5$  à  $5\ \mu\text{m}$ . Les particules de tailles inférieures ne sont quasiment pas retenus par la filtration de  $40\ \mu\text{m}$  (bac 3).

#### \* Salles intérieures

Les 8 comptages effectués donnent sensiblement le même histogramme quelque soit la salle et pour les différents jours observés.

L'eau ne contient que des particules de taille inférieure à  $1,5\ \mu\text{m}$ , ce qui est bien inférieur au seuil de filtration des filtres à sable internes ( $10\ \mu\text{m}$ ).

Seule sa serre se démarque par un effectif plus élevé en particules entre  $1,2\ \mu\text{m}$  et  $2,4\ \mu\text{m}$  par rapport aux autres salles. Ceci va dans le sens des caractéristiques d'une eau stagnante où des dépôts plus importants sont favorisés dans les canalisations, ainsi que la prolifération d'organismes microscopiques. Il y aurait donc un encrassement des canalisations et du filtre de cette salle. Lors de la mise en circulation, la pression est susceptible de remettre en suspension ce stock de particules.

Dans la plupart des cas, les effectifs sont inférieurs à ceux présents dans le bac 3 mais certains comptages ont montré la possibilité d'une augmentation (serre + comptage du 10/8 en Q, Ex, Py).

De plus, on note la présence générale d'un pic caractéristique pour toutes les mesures au niveau des canaux 2 à 4 ( $0,8$  à  $1\ \mu\text{m}$ ). Des comptages sur le canal 1 ( $0,6\ \mu\text{m}$ ) donnent des effectifs doubles de ceux du canal 2.

Ces constatations seraient en faveur de l'hypothèse d'un développement bactérien au sein des filtres ou bien à l'état présent dans l'eau de mer. Mais cette éventualité n'ayant pu être vérifiée lors de cette étude, elle reste à vérifier par des tests bactériologiques. Il s'avère indispensable

d'estimer la microflore totale et d'identifier, sur des milieux sélectifs, la présence possible de virions ou des germes toxiques.

Dans le cas où ces tests bactériologiques s'avèreraient négatifs, il est également possible que ces particules correspondent alors à des colloïdes, des argiles ou des particules limoneuses présentes dans l'estuaire.

## ANALYSES BIOCHIMIQUES

### **Chlorophylle a et Phéopigments a**

En milieu estuarien, la faible profondeur d'eau associée à un estran important remanient fortement les sédiments. Ainsi, la teneur en pigments chlorophylliens nous donne une estimation du phytoplancton et du phytobenthos vivants. Les phéopigments, quant à eux, renseignent sur la fraction dégénérée des organismes photosynthétiques en suspension.

Etant donné le fort brassage des masses d'eaux estuariennes, il apparaît évident que tout prélèvement ponctuel n'est qu'un "flash" parmi les fluctuations journalières.

Dès lors, il est difficile de pousser les interprétations à partir du peu de données disponibles.

Seuls quelques points semblent se répéter, bien qu'à considérer avec prudence.

Le bac II a une concentration fortement supérieure au bac I en chlorophylle a et souvent supérieur à la moyenne des autres salles (prolifération favorisée du phytoplancton ou bien simple phénomène de concentration dans le bac).

Il n'apparaît pas de différence significative entre les 2 premiers échantillonnages (16 et 20 juillet, avant lavage des filtres) et les 2 derniers (30 juillet et 5 août, après lavage) excepté peut être la concentration en phéopigments a qui sont, dans le second cas, bien représentés et parfois supérieurs à la chlorophylle a. Il en résulte donc

une modification du taux de chlorophylle active (
$$\frac{\text{chlo a}}{\text{chlo a} + \text{phéo a}} \times 100$$
)

Avant lavage, ce taux serait relativement élevé (90 %) alors qu'après lavage, il ne serait plus que de 50 % voire 40 %.

Les différentes données consultées (Héral et al., 1984 + données informatiques) indiquent des concentrations en pigments chlorophylliens entre 10 et 14  $\mu\text{g/l}$  voire 20  $\mu\text{g/l}$ . Des analyses en une station proche du point de prélèvement (Dufour, 1982) situent ces taux autour de 6 à 8  $\mu\text{g/l}$  d'eau de mer.

Les concentrations observées au sein de l'écloserie sont donc bien plus faibles (environ 2  $\mu\text{g/l}$ ), surtout au niveau des salles.

PROTIDES, LIPIDES, GLUCIDES

Codage utilisé : A = 15/7  
B = 22/7.....point 9 = Serre  
C = 24/7  
D = 7/8.....point 9 = Forage

Sur graphiques : 1 = Bac I            4 = Q            7 = EL  
2 = Bac II            5 = Ex            8 = M  
3 = Bac III           6 = PY            9 = S ou F

L'estimation des quantités de protides, lipides et glucides cumulées permet d'apprécier le potentiel trophique disponible pour les organismes filtreurs, et notamment les mollusques qui font l'objet d'études au sein de l'écloserie. Il est important de connaître la constitution de la nourriture de base imposée par le milieu.

Il apparait un premier résultat significatif entre les dosages du jour A et ceux des jours B, C et D. La seule différence expérimentale réside dans le rinçage systématique des filtres de 10  $\mu\text{m}$  pour ces 3 dernières dates.

Or les concentrations en protides, lipides et glucides sont très supérieures en l'absence de lavage des filtres à sable. On obtient des concentrations proches de 600  $\mu\text{g/l}$  de protides et glucides en moyenne associées à des teneurs en lipides de l'ordre de 100  $\mu\text{g/l}$ .

Après lavage des filtres, il semble que l'on diminue considérablement la présence de ces constituants. Des concentrations non significatives (traces) sont alors fréquentes. Ceci pour les lipides, ce qui semble cohérent, en proportion avec des résultats antécédents obtenus dans l'estuaire de la Seudre (Dufour, 1982). On considère que les glucides et les lipides augmentent en été tandis que les lipides restent inférieurs à 10 % de la matière organique soit 300  $\mu\text{g/l}$ .

Il semblerait donc que l'installation de l'écloserie retransmette ces différentes concentrations en conservant les proportions connues en mer.

Le rapport P/G semble voisin de 1, il est significatif de l'état physiologique du phytoplancton. Il y aurait donc ici autant de cellules vivantes que de dégénérescentes.

Si on considère l'eau du bac I comme eau de base (estuarienne), il existe quelques évolutions des différentes concentrations et notamment une augmentation sensible dans l'eau du bac II (décanté).

Comme pour les chlorophylles, le milieu peut être propice à la multiplication et la croissance d'organismes unicellulaires. Mais il peut s'agir aussi, avec un taux de croissance identique à celui existant en mer, d'un phénomène de concentration, le bac étant une enceinte fermée.

Dans la plupart des cas, l'eau quittant le bac II voit ses concentrations diminuer.

### Sels nutritifs

Le tableau de valeurs en sels nutritifs ne résulte que d'un échantillonnage sur toute l'écloserie. Quelques autres prélèvements ont été congelés en vue d'une analyse ultérieure. Une conclusion hâtive serait donc prématurée, à moins que l'on constate ultérieurement une constance dans les résultats.

Les nitrites sont très faiblement représentés mais la salle de quarantaine approche tout de même la valeur maximale signalée (0,5  $\mu\text{atg/l}$ ) par Héral et al. (1984) à cette saison.

Ces mêmes auteurs indiquent également des valeurs moyennes de 1  $\mu\text{atg/l}$  de nitrates, or l'eau de l'écloserie semble bien plus chargée.

Les teneurs en ammoniac se situent dans le bas de la gamme de variation journalière observable en mer.

Les phosphates sont un peu au-dessus des concentrations saisonnières et il en est de même pour les silicates.

## EAU DE FORAGE

### ANALYSES HYDROLOGIQUES

#### Température

On observe des variations de température assez importantes. Or les paramètres hydrologiques de cette eau de forage sont censés être relativement constants (16°C), d'où l'intérêt de tenter un élevage d'espèces phytoplanctoniques peu tolérantes pour ce paramètre. Apparemment, que ce soit au niveau de la nappe souterraine elle-même ou bien au niveau des canalisations, il semble préférable d'attendre une stabilisation de ce paramètre.

La température moyenne est de 18,8°C, ce qui est supérieur au 16°C supposés de cette eau mais inférieur aux données annonçant 20°C en novembre (DDA La Rochelle, 1983).

#### Salinité

La salinité moyenne est de 25,5 ‰ mais elle aussi varie entre des extrêmes de 21,3 ‰ et 28 ‰. Les analyses précédentes indiquaient 24 ‰ (DDA La Rochelle, 1983).

#### pH

Le pH, peu constant, se situe autour de 7,38.

#### Oxygène dissous

Il semble d'après les relevés effectués, qu'il y ait un épuisement de la poche d'eau en oxygène dissous car sa teneur a, en moyenne, diminué au cours du pompage testé.

Il paraît difficile de travailler avec des concentrations descendant jusqu'à 30 %.

## ANALYSES PARTICULAIRES

La turbidité relevée est très variable et peut dépendre du temps de séjour dans les bacs (au contact de l'oxygène de l'air). L'eau neuve est limpide. Par contre, laissée à l'air libre, il apparaît une turbidité très forte dans les 15 minutes. Cela semble dû à l'oxydation d'un métal présent dans l'eau et directement favorisée par l'oxygène de l'air. L'eau devient alors fortement orangée, et donc plus turbide (jusqu'à 95 NTU).

### **Nombre de particules**

On ne dénombre pas de particules supérieures à  $5 \mu$ . Le recensement principal se trouve autour d'une taille moyenne de  $1 \mu$ , bien qu'il y ait des différences suivant les comptages. Il apparaît même, le 10 août, un pic autour du canal 6 ( $2 \mu$ ). Ce jour correspond également à une forte turbidité, peut être liée à ce stock de particules métalliques (oxydes).

## ANALYSES BIOCHIMIQUES

### **Protéines, lipides, glucides**

Un seul dosage a été effectué sur l'eau de forage (point 9 jour D, tableau 6). Les protides et les lipides sont inexistants alors que les glucides sont tout de même présents ( $50 \mu\text{g/l}$ ) ce qui va dans le sens d'une forte charge de matière organique d'origine végétale (DDA La Rochelle, 1983).

### **Pigments chlorophylliens**

Cette eau est dépourvue de pigments chlorophylliens (actifs ou dégradés). On ne les dose qu'à l'état de trace ( $0,03 \mu\text{g/l}$ ) et il y a égalité des concentrations en chlorophylle et phéopigments.

### **Sels nutritifs - Métaux**

On observe une forte concentration en ammoniac et en silicates tandis que les nitrites ne sont pas dosables et que les nitrates, phosphates et l'urée sont en proportions semblables à celles de l'eau de mer.

Aucun composé toxique n'a été mis en évidence lors de l'analyse faite par la Direction Départementale de l'Agriculture (DDA La Rochelle, 1983) excepté la présence de 205  $\mu\text{g/l}$  d'aluminium, de 67  $\mu\text{g/l}$  de zinc et de 0,64  $\mu\text{g/l}$  de manganèse.

D'après les notes bibliographiques (Deslous-Paoli, 1982), certains auteurs donnent une DL 50 après 48 heures de 15  $\mu\text{g/l}$  de  $\text{Mn Cl}_2$  pour les huîtres ainsi que pour les algues.

De même, le zinc peut être toxique, surtout s'il s'associe à d'autres métaux ou bien au chlore, au sulfate.

Ces observations associées à la présence de quelques bactéries montrent l'importance d'un suivi permanent des qualités de cette eau de forage dont les caractéristiques semblent quelque peu variables.

## TRAITEMENT DES DONNEES

### Fichiers

Les différentes données utilisées ont été stockées sur matériel informatique (GOUPIL 4 compatible IBM PC).

Les données brutes sont des fichiers traités en langage KNOWLEDGE MAN et conservées sur disquettes informatiques.

Le fichier DUFYDRO contient les valeurs de température, pH, salinité,  $O_2$  mg/l,  $O_2$  % sat., turbidité NTU, coefficient de marée. L'ensemble est classé par date et par échantillon.

Le fichier DUFYCOUL contient les comptages coulter sur 16 canaux classés par date et par échantillon plus le blanc, à raison de 3 comptages par échantillon.

Un programme effectué par Mr Jean PROU permet de calculer la moyenne des trois comptages et soustrait la moyenne du blanc à celle de chaque échantillon. Les nouvelles données sont stockées dans un fichier COULCHRI.

### Mode d'accès

Ces fichiers sont accessibles, à partir des disquettes, dans le répertoire /CHRIS.

### Graphiques

Les graphiques ont été effectués sous logiciel STATGRAPHICS après transfert à partir de K/MAN.

DUFYDRO (hydro) .  
DUFYPRO (protides)  
DUFYLIP (lipides)  
DUFYGLU (glucides)

DUFYCHLO (chlro)

DUFYTRAI

Mr Serge BOUGRIER est en possession des disquettes contenant tous ces programmes.

## CONCLUSION

Cette première étude hydrologique a permis de définir la qualité de l'eau utilisée sur deux mois dans l'écloserie du LPGIM à Ronce les Bains.

La nécessité d'un entretien régulier des systèmes de filtration a été mise en évidence, ceci afin de conserver un taux d'oxygène dissous identique à celui du milieu estuarien.

Les paramètres principaux (température, salinité, pH, turbidité) sont satisfaisants et constants. Il appartiendra à chacun de surveiller tel ou tel facteur en fonction de ses exigences expérimentales.

Bien que la période testée ait été variable sur le plan des conditions météorologiques, il faut s'attendre à des fluctuations lors des saisons hivernales ou bien lors de poussées phytoplanctoniques plus importantes. Toutefois, différents points demeurent incertains. De part les problèmes bactériologiques rencontrés durant le mois d'août 1987, il est nécessaire de procéder à des comptages bactériens tant en microflore totale que sur milieux sélectifs.

De plus, l'influence de la filtration sur cartouches 1  $\mu\text{m}$  n'a pu être testée et il serait intéressant d'estimer leur vieillissement.

L'eau de forage doit également être l'objet d'une attention particulière compte tenu des fluctuations importantes enregistrées. Les circuits de l'écloserie étant désinfectés par des produits toxiques pour le milieu naturel (brome, chlore), leurs rejets dans l'estuaire méritent également un contrôle.

BIBLIOGRAPHIE

- DDA La Rochelle, nov. 1983. Bulletin d'analyse d'eau relatif au forage avenue des Erables, Ronce les Bains. Examen n° 8144-E-83.
- Deslous-Paoli J.M., 1982. Toxicité des éléments métalliques dissous pour les larves d'organismes marins : données bibliographiques. Rev. Trav. Inst. Pêches Marit. 45 (1) : 73-83.
- Dufour M., 1982. Estimation de la quantité de nourriture particulaire dans le bassin de Marennes-Oléron. Rapport de stage IUT.
- Héral M. et al., 1984. Hydrobiologie du bassin de Marennes-Oléron. Résultats du Réseau National d'Observation : 1977 à 1981. Tiré à part des Annales de la Société des Sciences Naturelles de la Charente-Maritime, Vol. VII, Fasc. 2.
- Laborde et al., 1986. Quelques aspects méthodologiques spécifiques des études biologiques sur les particules de la micro-couche de surface. Vie et Milieu 36 (3) : 165-176.