

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS 6

Spécialité : Algologie

présentée

par

Marie-Laure VINCENDEAU

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS 6

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA FERTILITE DES EAUX DES MILIEUX CONCHYLICOLES :
INFLUENCE DE L'EXCRETION DES HUITRES ET DES PALOURDES
SUR LA PRODUCTION DES DIATOMEES DOMINANTES

soutenu le 23 juin 1987, devant le jury composé de :

M. G. GIRAUD

Président

M. D. BONIN

M. T. GINSBURGER-VOGEL

M. J.M. ROBERT

M. M. HERAL

} Examineurs

Invité

RESUME

L'impact de l'excrétion de Mollusques Bivalves cultivés sur la croissance de Diatomées dans les zones conchylicoles est étudié expérimentalement.

Les Huîtres et les Palourdes enrichissent les eaux où elles séjournent en ammoniacque, urée, acides aminés et autres substances azotées ainsi qu'en phosphore minéral et organique dissous. En conséquence, la fertilité potentielle des eaux pour trois Diatomées des milieux conchylicoles est améliorée. De plus, les algues bénéficient parfois d'apports complémentaires de vitamines et de métaux de la part des Mollusques.

Les Diatomées prélèvent les nitrates simultanément à l'ammoniacque. Elles peuvent de plus utiliser l'azote organique dissous sous les formes excrétées par les Bivalves. Parmi ces formes, la taurine peut être considérée comme un des facteurs favorisant leur croissance.

MOTS CLES

- Mollusques Bivalves
- Excrétion
- Diatomées
- Azote
- Phosphore
- Taurine
- Essais biologiques
- Indice de fertilité

AVANT-PROPOS

Je suis heureuse que ce mémoire me donne l'occasion de remercier tous ceux qui m'ont aidée à le réaliser :

Monsieur J.-M. ROBERT, Maître de Conférence à l'Université de Nantes, m'a accueillie au laboratoire de Biologie Marine. Il est à l'origine de cette thèse dont il a toujours suivi l'élaboration de très près, me prodiguant de nombreux conseils et me permettant de bénéficier de tous les moyens matériels dont il disposait. De plus, il m'a permis d'assurer financièrement cette étude grâce à l'obtention de plusieurs contrats de recherches. Qu'il trouve ici l'expression de ma très sincère reconnaissance et de mes vifs remerciements.

Monsieur G. GIRAUD, Professeur à l'Ecole Normale Supérieure, me fait l'honneur de présider le jury. Je lui sais gré de s'être intéressé à mon travail, malgré ses nombreuses occupations et la distance qui nous séparait.

Monsieur D. BONIN, Maître de Conférence à l'Université d'Aix-Marseille m'a aimablement éclairée de ses conseils. Je suis heureuse qu'il ait accepté de juger mon travail et l'en remercie vivement.

Monsieur T. GINSBURGER-VOGEL, Professeur à l'Université de Nantes, a bien voulu juger ce mémoire et siéger dans le jury, je lui en sais infiniment gré.

Monsieur M. HERAL, Directeur du laboratoire IFREMER de La Tremblade, m'a accueillie et conseillée pour l'étude de l'excrétion des Mollusques. Il m'a également employée sur un contrat IFREMER durant une année. Je me réjouis qu'il ait accepté de participer au jury et lui adresse mes sincères remerciements.

Je tiens également à exprimer toute ma sympathie à l'équipe IFREMER de La Tremblade et je remercie en particulier :

J.M. DESLOU-PAOLI, chercheur, pour son accueil et son aide lors des différentes expériences.

J. GARNIER et D. RAZET, techniciens, pour leur aimable participation à plusieurs dosages chimiques.

C. BACHER et P. GOULLETQUER, étudiants, pour les services qu'ils m'ont amicalement rendus.

Je remercie V. MARTIN-JEZEQUEL, de la station biologique de Roscoff, et D. DELMAS, du CREMA L'Houmeau, qui ont réalisé les dosages des teneurs en acides aminés libres dissous par Chromatographie Liquide à Haute Pression.

J'adresse mes remerciements les plus cordiaux à :

I. TRUQUET, technicienne à l'IFREMER de Nantes, qui m'a initiée au fonctionnement de l'auto-analyseur Technicon.

M. HAMON, technicien au laboratoire de Biologie Marine de l'Université de Nantes, qui m'a aidée lors de la préparation des expériences et qui est l'auteur des photographies figurant dans ce mémoire.

L. STAWECKI, secrétaire au laboratoire de Biologie Marine de l'Université de Nantes, qui a assuré la frappe de ce manuscrit.

Qu'il me soit également permis d'exprimer toute mon amitié à B. RAVAIL, qui m'a accompagnée lors des fastidieux comptages cellulaires des tests biologiques.

Ainsi qu'aux autres étudiants du laboratoire, F. LARDEUX, G. MASSON, J.P. ROBIN, B. ROBINEAU et P.G. SAURIAU avec qui j'ai passé des moments agréables enrichis de fructueuses discussions.

Enfin, je remercie chaleureusement tous ceux de mon entourage, proche et plus lointain, pour leur si précieux soutien.

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA FERTILITE DES EAUX DES MILIEUX
CONCHYLICOLES : INFLUENCE DE L'EXCRETION DES HUITRES ET DES PALOURDES
SUR LA PRODUCTION DES DIATOMEES DOMINANTES

INTRODUCTION..... 10

CHAPITRE 1

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'EXCRETION DES 2 MOLLUSQUES
BIVALVES CRASSOSTREA GIGAS THUNBERG ET RUDITAPES
PHILIPPINARUM (ADAMS ET REEVE), AINSI QUE SON IMPACT
SUR LES MODIFICATIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU DE MER
D'INCUBATION

1 - INTRODUCTION..... 16

2 - MATERIEL ET METHODES..... 16

3 - MODIFICATIONS DES CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE
L'EAU D'INCUBATION DES DEUX MOLLUSQUES..... 19

 3.1 - Conditions expérimentales : température et salinité 19

 3.2 - Variations des teneurs en substances inorganiques et
 organiques dissoutes, dans le bac témoin et dans les
 bacs contenant les Mollusques : exemple de l'expé-
 rience d'avril 1984..... 20

 3.3 - Comparaison de la composition en éléments et composés
 des différentes eaux d'incubation avec les eaux té-
 moins, après cinq heures de stabulation des Mollusques 24

4 - EXCRETION DE SUBSTANCES AZOTEES ET PHOSPHOREES PAR
LES HUITRES ET LES PALOURDES..... 28

 4.1 - Taux d'excrétion d'azote estimés entre décembre 1983
 et octobre 1984..... 29

 4.2 - Identification des acides aminés libres dissous dans
 l'eau d'incubation des Mollusques et évolution de
 leur concentration après cinq heures de stabulation :
 exemple de l'expérience d'octobre 1984..... 34

 4.3 - Taux d'excrétion de phosphore estimés entre décembre
 1983 et octobre 1984..... 40

5 - DISCUSSION.....	42
5.1 - Analyse critique du protocole expérimental : comparaison avec les travaux antérieurs.....	42
5.2 - Excrétion d'éléments et composés azotés par les Mollusques.....	43
5.3 - Excrétion d'éléments et composés phosphorés par les Mollusques.....	49
5.4 - Comparaison des enrichissements en azote et en phosphore et évolution des rapports N/P et N/Si après stabulation des Mollusques.....	49
6 - CONCLUSION.....	52

CHAPITRE 2

INFLUENCE DES MOLLUSQUES SUR LES POTENTIALITES
NUTRITIVES DE LEURS EAUX DE STABULATION, POUR
TROIS DIATOMÉES DOMINANTES DES MILIEUX CONCHYLICOLES

1 - INTRODUCTION.....	56
2 - MATERIEL ET METHODES.....	57
3 - FERTILITE DES EAUX TEMOINS ET DES EAUX DE STABU- LATION DES MOLLUSQUES POUR <u>HASLEA OSTREARIA</u> , <u>SKE- LETONEMA COSTATUM</u> ET <u>PHAEDACTYLUM TRICORNUTUM</u>	60
3.1 - Résultats.....	60
3.2 - Discussion.....	69
4 - IMPACT DE L'EXCRETION DES MOLLUSQUES SUR L'ORDRE DE LIMITATION DES ELEMENTS BIOGENES CONTROLANT LA PRODUCTION DE BIOMASSE.....	77
4.1 - Enrichissements différentiels des eaux de l'expé- rience de décembre 1983.....	77
4.2 - Enrichissements différentiels des eaux de l'expé- rience d'avril 1984.....	81
4.3 - Discussion.....	87
5 - CONCLUSION.....	89

CHAPITRE 3

ABSORPTION PAR DEUX DIATOMEES DES DIFFERENTES FORMES
D'AZOTE APORTEES PAR LES HUITRES OU INITIALEMENT PRESENTES
DANS L'EAU

1 - INTRODUCTION.....	92
2 - MATERIEL ET METHODES.....	93
2.1 - Stabulation des Huîtres.....	93
2.2 - Fertilité des eaux de stabulation.....	94
2.3 - Cultures algales.....	94
3 - APPORTS D'ELEMENTS ET COMPOSES PAR LES HUITRES : FERTILITE DES EAUX DE STABULATION.....	95
3.1 - Apports d'éléments et composés.....	95
3.2 - Fertilité potentielle des eaux témoins et des eaux de stabulation des Huîtres.....	103
4 - CINETIQUES D'ABSORPTION PAR DEUX DIATOMEES DES SUBSTANCES AZOTEES PROVENANT DES HUITRES.....	105
4.1 - Expérience de mars 1985 avec <u>Phaeodactylum tricor- num</u>	105
4.2 - Expérience de mai 1985 avec <u>Skeletonema costatum</u>	111
5 - DISCUSSION.....	112
5.1 - Impact de l'excrétion azotée sur la fertilité poten- tielle de l'eau de mer.....	112
5.2 - Utilisation des formes minérales et organiques de l'azote.....	113
6 - CONCLUSION.....	118

CHAPITRE 4

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'UTILISATION DE LA TAURINE PAR
SKELETONEMA COSTATUM EN CONDITION NON AXENIQUE ET APRES
TRAITEMENT AUX ANTIBIOTIQUES

1 - INTRODUCTION.....	120
2 - MATERIEL ET METHODES.....	121
2.1 - Traitement de l'eau de mer.....	121
2.2 - Préparation des solutions enrichissantes.....	122
2.3 - Traitement des algues.....	122
2.4 - Ensemencement.....	123
2.5 - Méthodes d'analyses.....	123
3 - BIOMASSES PRODUITES PAR <u>SKELETONEMA COSTATUM</u> DANS LES DEUX CONDITIONS EXPERIMENTALES.....	124
3.1 - Nombre de cellules produites par la souche non axéni- que.....	124
3.2 - Nombre de cellules produites par la souche traitée aux antibiotiques.....	126
4 - VARIATIONS DES TENEURS EN AZOTE MINERAL DANS LES CULTURES.....	127
4.1 - Variations journalières de la teneur en N-NH ₄ ⁺	127
4.2 - Azote minéral total consommé par les algues.....	131
5 - VARIATIONS DES CONCENTRATIONS EN TAURINE AU COURS DE LA CROISSANCE DES ALGUES TRAITEES AUX ANTIBIO- TIQUES.....	133
6 - DISCUSSION.....	134
6.1 - Contrôle de l'activité bactérienne.....	134
6.2 - Biomasses produites.....	135
6.3 - Influence de la taurine sur la croissance algale.....	136
7 - CONCLUSION.....	138
CONCLUSION GENERALE.....	140
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	144
ANNEXES.....	157

INTRODUCTION

En France, la conchyliculture, en particulier l'ostréiculture, la mytiliculture et, plus récemment, la vénériculture, se pratique en plusieurs points le long des côtes de la Manche, de l'océan Atlantique et de la Méditerranée. Les zones conchylicoles se distinguent par une grande richesse des eaux en matières en suspension ainsi qu'en substances minérales et organiques dissoutes du fait principalement de leurs lieux d'implantation, le plus souvent situés dans des baies et des estuaires, mais aussi du fait de la présence dominante des peuplements de Mollusques cultivés. En effet, il est montré que l'abondance des Bivalves entraîne des modifications physico-chimiques du milieu. C'est d'abord l'apport de fèces et pseudo-fèces qui amplifie le phénomène de sédimentation (SORNIN, 1981) et enrichit le sol en substances dissoutes (KAMATANI et AMANO, 1984) ; cet enrichissement du sédiment se répercute sur la colonne d'eau sus-jacente par des échanges à l'interface eau-sédiment comme l'ont montré FEUILLET (1971), BOUCHER (1985) et GOULEAU (1986). C'est aussi la libération par les Bivalves de composés dissous, en particulier azotés et phosphorés, qui viennent s'ajouter à ceux apportés par les phénomènes liés à la biodéposition.

Dans le cadre d'études plus physiologiques des Mollusques Bivalves marins, la libération des substances dissoutes, plus particulièrement par la fonction d'excrétion a été étudiée par de nombreux auteurs pour les composés azotés. Parmi les travaux les plus cités, il faut mentionner ceux de HAMMEN et al. (1966); HAMMEN (1968) ; BAYNE et al. (1976) ; BAYNE et SCULLARD (1977); MANN et GLOMB (1978) ; MANN (1979) ; ROBERT et al. (1982 b) ; WORRALL et al. (1983) ; BOUCHER (1985) ; BOROMTHANARAT (1986). En revanche, l'apport de substances phosphorées est mal connu chez les Bivalves, ayant été plus étudié chez d'autres groupes animaux appartenant au zooplancton (RIGLER et al. 1963 ; POMEROY et al. 1963 ; HARGRAVE et GEEN 1968 ; LEBORGNE 1973 ; BAMSTEDT

1985 ; OLSEN et OESTGAARD 1985 ; OLSEN et al. 1986). On peut toutefois citer l'étude de KUENZLER en 1961 sur la Moule Modiolus demissus.

Dans le milieu naturel, les composés libérés par les Bivalves peuvent suivre différentes voies de dégradation d'ordre chimique ou biologique. Ainsi certains composés organiques macromoléculaires vont être directement hydrolysés dans le milieu par des exoenzymes (BILLEN, 1984). De même, il est montré que les substances dissoutes peuvent être réabsorbées par les Bivalves (SRNA et BAGGALEY 1979 ; SIEBERS et WINKLER 1984) ou par d'autres animaux marins (FEVRIER 1976). Il est certain que les bactéries peuvent rapidement utiliser une grande partie des produits d'excrétion en particulier les acides aminés (CRAWFORD et al. 1974 ; WILLIAMS et al. 1976 ; HOLLIBAUG 1979 ; AMANO et al. 1982 ; BILLEN 1984) ainsi que l'ammoniaque (BROWN 1980 ; SZWERINSKI 1981 ; WHEELER et KURCHMAN 1986) et le phosphore organique dissous (AMMERMAN et AZAM 1985). Enfin, les microphytes sont capables d'utiliser les substances non seulement minérales mais aussi organiques dissoutes du milieu (BONIN et MAESTRINI 1981 ; ADMIRAAL et al. 1984).

Dans ce dernier cas, on peut penser que les composés excrétés par les Mollusques puissent être aussi puisés par les algues. Cependant si de nombreux auteurs se sont intéressés à la consommation par le phytoplancton de l'azote régénéré par le zooplancton (HARRIS 1959 ; DUGDALE et GOERING 1967 ; EPPLEY et al. 1973 ; JAWED 1973 ; HARRISSON 1978 ; HOLLIGAN et al. 1984), peu d'études sur l'utilisation des produits d'excrétion de Mollusques par les algues ont été réalisées. Toutefois, HAINES en 1975 et LANGTON et al. en 1977 ont bien mis en relation l'excrétion de Palourdes avec la croissance accrue de Hypnea musciformis algue macrophyte appartenant à la classe des Rhodophycées. De même, au cours d'études écophysiologicals sur les Diatomées dominantes de la Baie de Bourgneuf, région française à vocation conchylicole située au sud de l'estuaire de la Loire, ROBERT et al. en 1979 et MAESTRINI et ROBERT en 1981 ont mis en évidence, par des mesures indirectes, l'utilisation par les microalgues de l'azote organique dissous particulièrement abondant dans ces milieux

et attribué à la présence des Huîtres. C'est d'ailleurs dans l'esprit de vérifier ces estimations indirectes qu'une étude de l'excrétion azotée de l'Huître creuse Crassostrea gigas Thunberg a été réalisée et que les quantités de produits excrétés ont été comparées à celles habituellement analysées dans le milieu naturel (ROBERT et al. 1982 b). Ainsi, ROBERT (1983) conclut son étude du phénomène de verdissement lié à la prolifération de la Diatomée Haslea ostrearia. Simonsen (= Navicula ostrearia Bory) en insistant sur le rôle joué par la présence des Huîtres dans la succession des espèces microalgales d'une claire ostréicole, bassin d'affinage des Mollusques. De plus, en 1985, MARION confirme ces premières observations en étudiant la fertilité potentielle d'eaux de mer prélevées dans la baie de Bourgneuf le long d'une radiale allant de l'océan aux marais maritimes: l'auteur observe que les eaux les plus fertiles correspondent à celles surnageant les parcs ostréicoles.

De ces premiers travaux réalisés in situ et in vitro, il apparaît donc bien que les produits d'excrétion des Bivalves placés à de fortes densités dans les eaux des milieux conchyliques constituent une source de nutriments pour les microphytes qui s'y développent.

C'est dans ce contexte que le travail présenté a pour objectif de montrer expérimentalement comment la présence de Mollusques peut améliorer la fertilité potentielle de leurs eaux d'élevage pour des Diatomées dominantes de ces eaux.

Dans un premier temps, nous nous sommes obligatoirement intéressée à l'excrétion des Mollusques en choisissant deux espèces largement utilisées en conchyliculture : l'Huître creuse Crassostrea gigas Thunberg et la Palourde Ruditapes philippinarum (Adams et Reeve). Crassostrea gigas fut introduite en France dans les années 1970 après l'épizootie qui décima le stock de Crassostrea angulata ; c'est actuellement l'espèce dominante de la production ostréicole française. Ruditapes philippinarum est une Palourde dont l'élevage est en pleine expansion et qui fait depuis une dizaine d'années l'objet de nombreuses recherches

dont on trouvera l'historique dans la dernière étude consacrée à cette espèce (RAVAIL 1986).

Les conditions de stabulation des deux Mollusques ont été reconstituées in vitro et des mesures physico-chimiques sur les eaux d'incubation ont permis de déterminer la qualité et la quantité des substances excrétées.

L'impact de l'excrétion des Bivalves sur la fertilité potentielle de leurs eaux de stabulation ainsi que sur l'ordre des facteurs limitant la croissance des microphytes a ensuite été étudié grâce à la méthode des tests biologiques décrite par MAESTRINI et al. (1984). Les eaux expérimentales de stabulation des Mollusques ont étéensemencées avec trois Diatomées caractéristiques des populations naturelles de la baie de Bourgneuf dont l'inventaire fut dressé par RINCE en 1978 : Haslea ostrearia Simonsen responsable du verdissement des Huîtres, Skeletonema costatum (Greville) Cleve et Phaeodactylum tricornutum Bohlin, les deux dernières étant souvent utilisées comme algues-fourrages en aquaculture.

Une fois défini l'impact de l'excrétion des Mollusques sur la fertilité potentielle des eaux de stabulation, la nature des substances excrétées par les Bivalves pouvant être utilisées par les algues a été recherchée. Dans ce but, des Diatomées-tests ont étéensemencées en conditions contrôlées dans un grand volume d'eau de mer ayant contenu des Huîtres. L'ordre d'utilisation par les algues des substances minérales et organiques apportées par les Mollusques ou initialement présentes dans l'eau a ainsi pu être suivi parallèlement à la croissance de la population algale.

Tout au long de cette étude, la taurine, composé proche des acides aminés, a été rencontrée parmi les substances excrétées par les Mollusques et utilisées par les microphytes. C'est pourquoi une dernière série d'expériences, prenant en compte ce composé, a été réalisée afin d'estimer son niveau d'utilisation par les algues.

CHAPITRE 1

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'EXCRETION DES 2 MOLLUSQUES BIVALVES CRASSOSTREA GIGAS THUNBERG ET RUDITAPES PHILIPPINARUM (ADAMS ET REEVE), AINSI QUE SON IMPACT SUR LES MODIFICATIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU DE MER D'INCUBATION

1 - INTRODUCTION

2 - MATERIEL ET METHODES

3 - MODIFICATIONS DES CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU D'INCUBATION DES DEUX MOLLUSQUES

3.1 - Conditions expérimentales : température et salinité

3.2 - Variations des teneurs en substances inorganiques et organiques dissoutes, dans le bac témoin et dans les bacs contenant les Mollusques : exemple de l'expérience d'avril 1984

3.3 - Comparaison de la composition en éléments et composés des différentes eaux d'incubation avec les eaux témoins, après cinq heures de stabulation des Mollusques.

4 - EXCRETION DE SUBSTANCES AZOTEES ET PHOSPHOREES PAR LES HUITRES ET LES PALOURDES

4.1 - Taux d'excrétion d'azote estimés entre décembre 1983 et octobre 1984

4.1.1 - Taux d'excrétion des Huitres

4.1.2 - Taux d'excrétion des Palourdes

4.2 - Identification des acides aminés libres dissous dans l'eau d'incubation des mollusques et évolution de leur concentration après cinq heures de stabulation: exemple de l'expérience d'octobre 1984.

4.3 - Taux d'excrétion de phosphore estimés entre décembre 1983 et octobre 1984

4.3.1 - Taux d'excrétion des Huitres

4.3.2 - Taux d'excrétion des Palourdes

5 - DISCUSSION

5.1 - Analyse critique du protocole expérimental : comparaison avec les travaux antérieurs

5.2 - Excrétion d'éléments et composés azotés par les Mollusques

- 5.2.1 - Taux d'excrétion : prise en compte de toutes les formes d'azote
- 5.2.2 - Variations des taux d'excrétion relatifs des différentes substances azotées, au cours des expériences réalisées sur l'année d'étude
- 5.2.3 - Influence des facteurs externes et internes sur les taux d'excrétion

5.3 - Excrétion d'éléments et composés phosphorés par les Mollusques

5.4 - Comparaison des enrichissements en azote et en phosphore et évolution des rapports N/P et N/Si après stabulation des Mollusques

6 - CONCLUSION

CHAPITRE 1

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'EXCRETION DES 2 MOLLUSQUES BIVALVES CRASSOSTREA GIGAS (THUNBERG) ET RUDITAPES PHILIPPINARUM (ADAMS ET REEVE), AINSI QUE SON IMPACT SUR LES MODIFICATIONS PHYSICO- CHIMIQUES DE L'EAU DE MER D'INCUBATION

1 - INTRODUCTION

Les produits d'excrétion des Mollusques placés à de fortes densités dans les eaux littorales et marais maritimes constituent une source potentielle de nutriments pour les algues comme le laissent supposer les premières observations de ROBERT et al. (1982 b). Dans un premier temps, il s'agit donc de montrer comment les Mollusques modifient la composition physico-chimique de l'eau dans laquelle ils séjournent, de rechercher la nature des substances qu'ils apportent ainsi que leurs quantités. Dans ce but, les conditions de stabulation des 2 Mollusques Bivalves, Crassostrea gigas Thunberg et Ruditapes philippinarum (Adams et Reeve) sont reconstituées in vitro. Des analyses physico-chimiques de l'eau d'incubation de ces 2 espèces sont réalisées en cours d'expérience, afin de mettre en évidence les modifications apportées par les Mollusques.

2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude expérimentale est réalisée tous les deux mois de décembre 1983 à octobre 1984 afin de prendre en compte les variations saisonnières de l'état physiologique des Mollusques pendant l'année. L'eau de mer servant de milieu de stabulation des Bivalves est prélevée dans l'estuaire de la Seudre, devant le laboratoire

IFREMER La Tremblade (Charente Maritime) où ont lieu les expériences. Le protocole expérimental mis au point dans ce même laboratoire (BOUKABOUS, 1982) est résumé sur la figure 1.

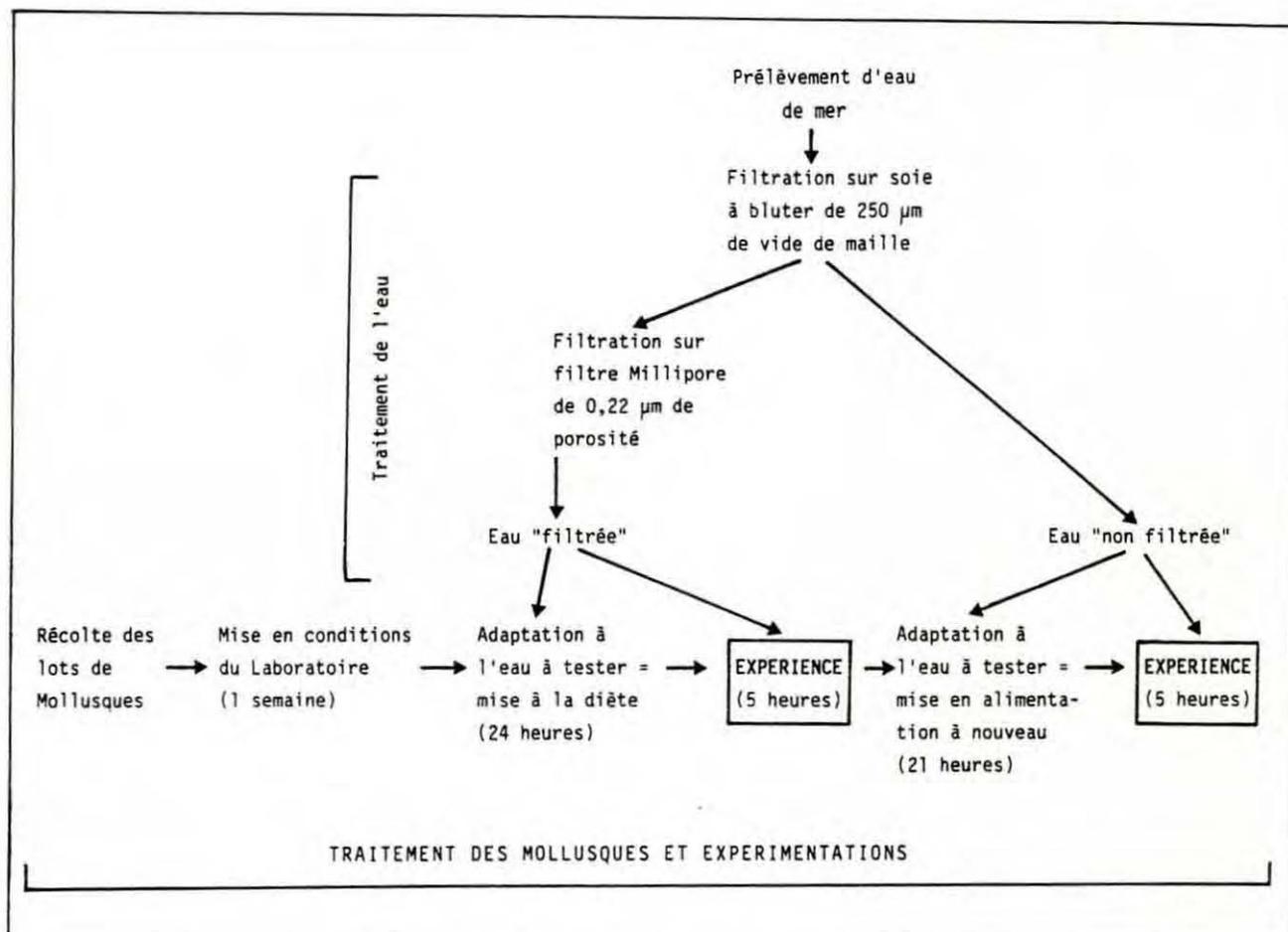


Fig. 1 - Schéma résumant le protocole expérimental retenu pour l'étude de la composition de l'eau de stabulation des deux Mollusques *C. gigas* et *R. philippinarum*.

La stabulation des Mollusques dans l'eau de mer filtrée sur membrane Millipore de 0,22 µm de porosité (eau "filtrée"), permet d'estimer l'excrétion des Mollusques en état de métabolisme de base.

L'immersion des animaux en eau de mer non filtrée sur membrane Millipore eau "non filtrée" présente l'avantage de les placer dans des conditions se rapprochant le plus possible de celles du milieu naturel ; toutefois, les produits d'excrétion des

Mollusques peuvent, dans ce cas, être modifiés dans leur forme chimique et leur constitution, par la présence d'un matériel particulaire abondant, adsorbant ou absorbant et relarguant des produits. De plus l'activité bactérienne intervient dans certains processus de reminéralisation.

Dans chaque série d'expérience, 3 bacs contenant chacun 20 litres d'eau de mer sont utilisés : un bac témoin sans mollusque, un bac contenant des Huîtres et un bac renfermant des Palourdes. Le nombre de Mollusques utilisé varie d'une expérience à l'autre en fonction du nombre d'individus disponibles au laboratoire aux moments des expériences (tabl. 1).

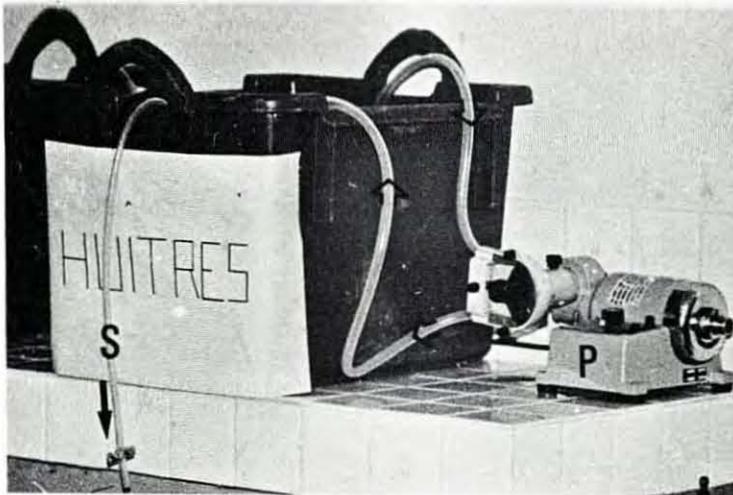
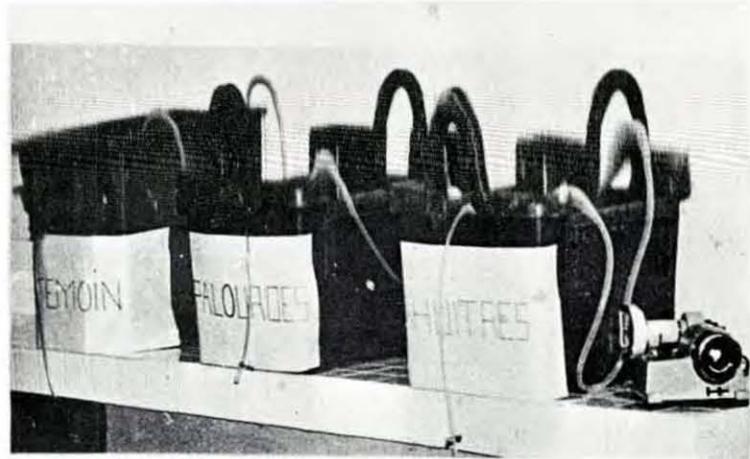
Dates	Huîtres			Palourdes		
	nombre	poids frais g	poids sec g	nombre	poids frais g	poids sec g
décembre	35	17,687	2,276	34	51,987	8,903
février	5	31,588	4,744	5	20,495	3,226
avril	5	32,703	6,212	27	27,640	5,199
juin	5	41,647	8,418	14	48,349	10,963
août	5	22,806	4,117	15	26,960	6,700
octobre	10	57,828	9,630	30	38,515	7,339

Tableau 1 - Nombre d'individus et poids en chair fraîche et sèche de chaque lot de Mollusques utilisé au cours des expériences.

La surface de l'eau de chaque bac est recouverte d'un film paraffiné pour éviter tout échange gazeux avec l'atmosphère. L'eau est homogénéisée par circulation créée par une pompe péristaltique. Le fond des bacs est surélevé par une grille de plastique afin que les fèces ou pseudofèces provenant des Mollusques posés sur la grille, tombent sur le fond du bac. Ils ne sont alors plus soumis au mouvement d'agitation de l'eau qui pourrait favoriser leur dissolution (planche I).

Les expériences sont entreprises pendant 5 heures, durée maximale au delà de laquelle la concentration en oxygène devient insuffisante pour maintenir les Mollusques dans de bonnes conditions d'incubation (HERAL, communication personnelle).

Vue d'ensemble
des trois bacs
expérimentaux



Bac contenant
les Huitres

P : pompe péristaltique
dont le fonctionne-
ment permet une agi-
tation permanente
de l'eau

S : siphon de prélève-
ment

Film paraffiné
recouvrant la
surface de l'eau



Grille plastique
supportant
les Huitres

Pour chaque série d'expérience, un prélèvement d'eau est réalisé dans le bac témoin en début de mise en stabulation des individus (temps t_0), puis toutes les heures dans chacun des bacs, à partir de 2 heures de stabulation (temps $t_0 + 2 + 3 + 4 + 5$ heures). L'eau prélevée est filtrée sur filtre Whatman GFC de 0,45 μm de porosité environ. Une estimation de l'oxygène dissous selon la méthode de WINKLER et de la teneur en ammoniacque selon KOROLEFF 1970 est réalisée immédiatement après filtration. Les échantillons d'eau restants sont congelés à $- 20^\circ\text{C}$, en vue d'analyses ultérieures. Ces analyses concernent l'évaluation des teneurs en nitrates, nitrites, phosphates et silicates selon STRICKLAND et PARSONS (1972), des concentrations en azote et phosphore organiques dissous totaux d'après la méthode de ARMSTRONG et TIBBITTS (1968), celles en urée selon AMINOT et KEROUEL (1982). Les teneurs en acides aminés totaux sont mesurées selon NORTH (1975). Lors de la dernière expérience, en octobre 1984, une détermination qualitative des acides aminés libres dissous totaux présents dans l'eau, a aussi été effectuée par chromatographie liquide à haute pression (LINDROTH et MOPPER 1979). En fin d'expérience, l'eau restant dans les bacs est prélevée, filtrée sur filtre Whatman GFC de 0,45 μm de porosité et stockée à $- 20^\circ\text{C}$ jusqu'à ce qu'elle soit utilisée pour des tests biologiques. Les poids de chair fraîche et sèche des Mollusques sont enfin déterminés.

3 - MODIFICATIONS DES CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU D'INCUBATION DES DEUX MOLLUSQUES

3.1 - CONDITIONS EXPERIMENTALES : TEMPERATURE ET SALINITE

La température des eaux augmente progressivement de décembre 1983 à août 1984 de 7.2°C à 23°C , puis redescend à 15°C en octobre 1984 (tabl. 2). Leur salinité varie de 28,5 ‰ à 34 ‰, présentant un maximum durant l'été aux mois de juin et d'août.

Les variations de ces deux paramètres suivent l'évolution saisonnière naturelle. Dans tous les cas, les conditions de stabulation sont compatibles avec une activité métabolique normale des Mollusques.

Dates	eau "filtrée"		eau "non filtrée"	
	température	salinité	température	salinité
	°C	‰	°C	‰
décembre	7,2	31,0	7,3	31,0
février	11,2	29,5	8,4	30,0
avril	14,5	28,5	13,9	30,0
juin	22,0	34,0	22,0	33,5
août	23,0	34,0	22,5	33,0
octobre	15,4	32,0	15,0	32,0

Tableau 2 - Températures et salinités des eaux utilisées dans les différentes expériences.

3.2 - VARIATIONS DES TENEURS EN SUBSTANCES INORGANIQUES ET ORGANIQUES DISSOUTES, DANS LE BAC TEMOIN ET DANS LES BACS CONTENANT LES MOLLUSQUES : EXEMPLE DE L'EXPERIENCE D'AVRIL 1984

Les résultats obtenus en eau "filtrée" au cours de l'expérience d'avril 1984 donnent un état représentatif du type d'évolution horaire des teneurs en différentes substances inorganiques et organiques dissoutes qui peut être observé au cours des différentes expérimentations réalisées sur toute l'année. Cet exemple a donc été choisi : les évolutions des teneurs en éléments minéraux et organiques dissous dans le bac témoin et dans le bac contenant les Palourdes sont schématisés sur la figure 2.

L'ammoniaque :

Dans l'eau du bac témoin, la teneur en ammoniaque augmente de 0,98 à 1,88 $\mu\text{M.l}^{-1}$ pendant les 3 premières heures de l'expérience puis oscille autour de cette valeur lors des 2 dernières heures. Dans l'eau de stabulation des Palourdes, la concentration du milieu en NH_4^+ augmente de façon linéaire de 0,98 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à 3,90 $\mu\text{M.l}^{-1}$.

Les nitrates

La concentration des nitrates dans l'eau du bac témoin demeure proche d'une valeur moyenne de 15,5 $\mu\text{M.l}^{-1}$ pendant les 4 premières heures, puis chute à 11 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à la 5ème heure. Dans l'eau contenant les Palourdes, l'évolution des teneurs en N-NO_3^- ressemble à celle observée dans le bac témoin avec

une valeur constante, voisine de $14,6 \mu\text{M.l}^{-1}$ en début d'expérience puis une chute à $10,1 \mu\text{M.l}^{-1}$ après 3 heures. Toutefois, cette baisse des teneurs s'amorce une heure avant celle enregistrée dans l'eau du témoin. A la 5ème heure, la concentration en N-NO_3^- , de $11,4 \mu\text{M.l}^{-1}$, est équivalente à celle du témoin.

Les nitrites :

Les teneurs en nitrites dans l'eau du bac témoin et dans l'eau d'incubation des Palourdes suivent une évolution similaire : elles présentent une baisse régulière de $0,30$ à $0,23 \mu\text{M.l}^{-1}$.

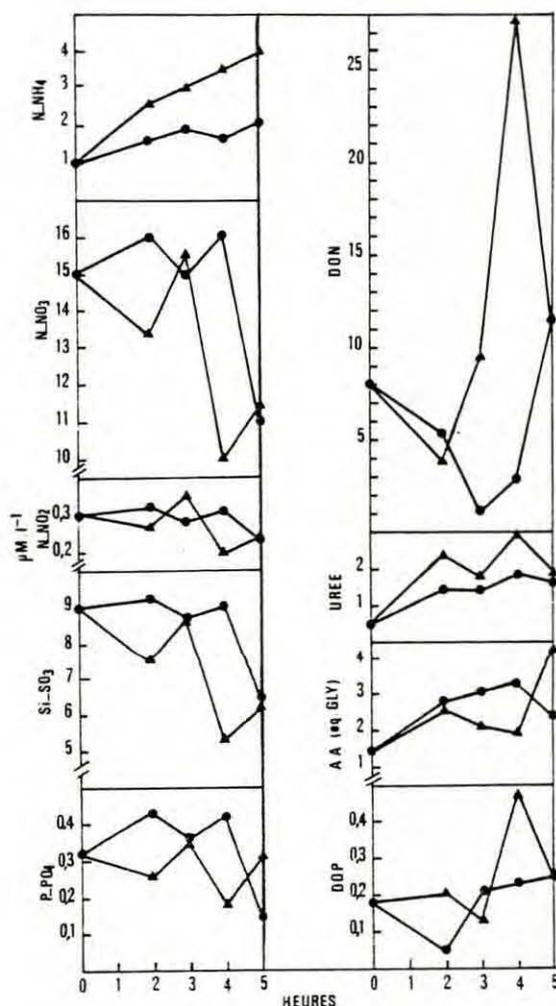


Fig. 2 - Evolutions respectives des teneurs en éléments minéraux et organiques dissous dans le bac témoin (●) et dans le bac contenant les Palourdes (▲), au cours des 5 heures d'expérience réalisée sur eau de mer "filtrée", en avril 1984. N-NH_4 : ammoniacque ; N-NO_3 : nitrates ; N-NO_2 : nitrites ; Si-SiO_4 : silicates ; P-PO_4 : phosphates ; DON : azote organique dissous total ; AA : acides aminés ; DOP : phosphore organique dissous total.

Les silicates :

Les teneurs en silicates demeurent voisines de $9 \mu\text{M.l}^{-1}$ pendant les 4 premières heures, puis diminuent à la concentration de $6,4 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 5ème heure d'expérience dans l'eau du bac témoin. Dans l'eau contenant les Palourdes, pendant les 3 premières heures de l'expérience, les concentrations en silicates sont voisines de $8,4 \mu\text{M.l}^{-1}$. A la 4ème heure, on observe une chute à $5,3 \mu\text{M.l}^{-1}$ et à la 5ème heure, on retrouve une concentration équivalente à celle de l'eau du témoin. On observe le même type de variation des concentrations que pour les nitrates.

Les phosphates :

Dans l'eau du bac témoin, la teneur en phosphates oscille autour de $0,4 \mu\text{M.l}^{-1}$ pendant les 4 premières heures de l'expérience, puis chute à $0,14 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 5ème heure. L'eau de stabulation des Palourdes suit le même type d'évolution que celle notée dans le bac témoin. Sa concentration en phosphates est légèrement supérieure à celle de l'eau témoin en fin d'expérience.

L'azote organique dissous total :

Dans l'eau du bac témoin, les teneurs en azote organique dissous total diminuent de $8,26$ à $1,01 \mu\text{M.l}^{-1}$ jusqu'à la 3ème heure, puis augmentent à nouveau pour atteindre $11,39 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 5ème heure. Dans l'eau d'incubation des Palourdes, les concentrations en azote organique diminuent de $8,26$ à $3,81 \mu\text{M.l}^{-1}$ au cours des 2 premières heures de l'expérience, puis elles augmentent jusqu'à $22,62 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 4ème heure. En fin d'expérience, la concentration en azote organique dissous redevient équivalente à celle du bac témoin ($11,59 \mu\text{M.l}^{-1}$).

L'urée :

Dans le bac témoin, la concentration en urée augmente régulièrement de $0,5$ à $1,64 \mu\text{M.l}^{-1}$. Dans le bac contenant les Palourdes, elle demeure tout au long de l'expérience légèrement supérieure à celle du témoin.

Les acides aminés :

Dans le bac témoin, les teneurs en acides aminés totaux augmentent de $1,45$ à $3,3 \mu\text{M.l}^{-1}$ équivalent glycine jusqu'à 4 heures d'incubation et redescendent à $2,4 \mu\text{M.l}^{-1}$ équivalent

glycine après 5 heures. Dans le bac contenant les Palourdes, les teneurs en acides aminés restent légèrement inférieures à celles du témoin, sauf à la 5^{ème} heure où la concentration est de $4,2 \mu\text{M.l}^{-1}$.

Le phosphore organique dissous total :

Dans l'eau du bac témoin, les concentrations du phosphore organique varient de $0,18$ à $0,25 \mu\text{M.l}^{-1}$ avec un minimum proche de zéro au temps $t_0 + 2$ heures. Dans l'eau du bac contenant les Palourdes, les concentrations demeurent voisines de $0,20 \mu\text{M.l}^{-1}$ sauf au temps $t_0 + 4$ h où la concentration atteint $0,48 \mu\text{M.l}^{-1}$.

Il apparaît tout d'abord que l'eau du bac témoin subit une évolution des concentrations de ses éléments au cours des 5 heures d'expérience. En absence de Mollusques, il y a en effet augmentation de la concentration en azote ammoniacal, diminution plus ou moins importante de celles en azote nitrique et nitreux ainsi qu'en Silicates et Phosphates. De même, les teneurs en composés organiques dissous, urée, acides aminés, azote et phosphore organique dissous totaux, augmentent au cours de l'expérience.

Afin d'évaluer les modifications physico-chimiques créées par la présence des Palourdes -ou des Huitres-, les concentrations en éléments ou composés estimées dans l'eau de stabulation sont comparées point par point avec celles trouvées dans l'eau du bac témoin. Il ressort dans ce cas de figure, que les Palourdes apportent de l'ammoniaque de façon continue et, qu'à certains moments de l'expérience, elles excrètent de l'urée, des acides aminés et des phosphates ainsi que de l'azote et du phosphore organiques dissous. Ainsi, les teneurs estimées dans l'eau contenant les Palourdes sont supérieures à celles enregistrées dans l'eau du bac témoin à $T_0 + 4$ h pour l'urée, l'azote et le phosphore organique dissous totaux et à $t_0 + 5$ h pour les acides aminés et les phosphates. Compte-tenu de la variabilité des teneurs observées dans l'eau témoin entre chaque prélèvement, il reste toutefois à préciser si ces variations sont bien dues à des excrétions des Mollusques où à des phénomènes variés que les conditions d'expérience n'ont pas permis de maîtriser : des phénomènes d'adsorption ou de désorption d'ions sur les substances colloïdales que la filtration de l'eau n'aurait pas éliminées ; des

phénomènes d'activité bactérienne ou simplement des artéfacts dus à la filtration ou à la congélation des échantillons avant les analyses. Quant aux nitrates, nitrites et silicates, la présence des Palourdes ne semble pas influencer l'évolution de leurs concentrations respectives dont on notera d'ailleurs la similitude.

3.3 - COMPARAISON DE LA COMPOSITION EN ELEMENTS ET COMPOSES DES DIFFERENTES EAUX D'INCUBATION AVEC LES EAUX TEMOINS, APRES 5 HEURES DE STABULATION DES MOLLUSQUES.

La même analyse que celle réalisée pour l'expérience d'avril 84 en eau "filtrée" a été appliquée aux autres périodes d'étude. Cependant, plutôt que de répéter, pour chacune des expérimentations, la description de l'évolution des concentrations en différents éléments ou composés au cours du temps, nous avons préféré traiter l'ensemble des résultats obtenus après cinq heures de stabulation par une analyse factorielle des correspondances. Cette méthode d'analyse présente en effet l'avantage de visualiser de façon synthétique l'impact des Mollusques sur la nature chimique de l'eau, au cours de l'année d'étude.

La méthode d'analyse employée (BENZECRI 1973) permet une description de nature statistique des relations existant entre un grand nombre de données. Le tableau (IXJ) des données est

Dates	eau "filtrée"			eau "non filtrée"		
	témoin	Huîtres	Palourdes	témoin	Huîtres	Palourdes
décembre	DT	DH	DP	DTB	DHB	DPB
février	FT	FH	FP	FTB	FHB	FPB
avril	AT	AH	AP	ATB	AHB	APB
juin	JT	JH	JP	JTB	JHB	JPB
août	UT	UH	UP	UTB	UHB	UPB
octobre	OT	OH	OP	OTB	OHB	OPB

Tableau 3 - Analyse factorielle des correspondances : identificateurs des individus correspondant aux différentes eaux.

constitué par I, ensemble des individus comprenant les différents types d'eau pour chaque expérience (tabl. 3) et J, ensemble des variables correspondant aux différentes substances analysées (tabl. 4). A chaque couple (i, j) est associée la concentration

enregistrée à la 5ème heure d'expérience. L'analyse permet la représentation graphique, dans plusieurs plans successifs, du nuage de points formé par l'ensemble des couples (i, j). Le premier plan est défini par l'axe factoriel F_1 (différent de l'axe trivial) et l'axe factoriel F_2 . F_1 est la droite qui déforme le moins le nuage initial. C'est elle qui extrait le maximum d'inertie du nuage. F_2 est la droite qui extrait le maximum d'inertie après F_1 , F_2 est orthogonale à F_1 . Les autres plans sont définis par les axes factoriels qui extraient successivement le maximum de l'inertie résiduelle.

substances	identificateurs
N-NH ₄	NH ₄
N-NO ₃ + N-NO ₂	NO ₃
Azote organique dissous total	NO
Urée	U
Acides aminés totaux	AA
P-PO ₄	PO ₄
Phosphore organique dissous total	PO
Si-SiO ₃	Si

Tableau 4 - Analyse factorielle des correspondances : identificateurs des variables correspondant aux différentes substances analysées.

Notre étude porte uniquement sur le premier plan factoriel qui contribue pour $50,88 + 34,22 = 85,20$ % à l'inertie totale (fig. 3). Le premier axe oppose NH₄⁺ à NO₃⁻ dont les contributions à l'inertie expliquée par l'axe, sont respectivement 43,2 et 30 %. Le deuxième axe sépare l'azote organique dissous total (N.O) et NH₄⁺ qui contribuent respectivement pour 47,1 et 42,2 % à l'inertie expliquée par l'axe. Les deux axes sont également définis par JPB (eau "non filtrée" de juin ayant contenu des Palourdes) puisque cette eau contribue aux inerties expliquées par les axes à 31,2 % pour l'axe 1 et 42,1 % pour l'axe 2. La place qu'elle occupe montre qu'elle est très liée à NH₄⁺. Sa concentration en ammoniacque est en effet très élevée (21,77 $\mu\text{M.l}^{-1}$).

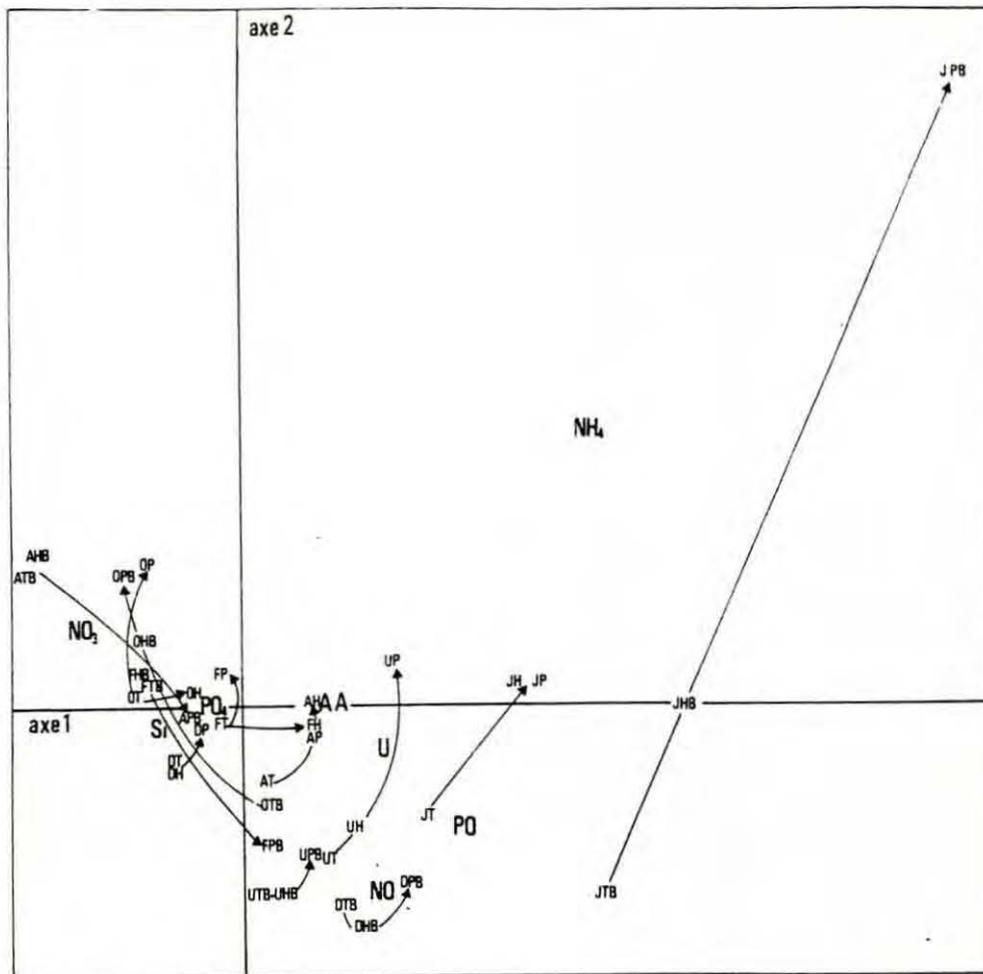


Fig. 3 - Analyse factorielle des correspondances : représentation simultanée des lignes et des colonnes. Axe 1 horizontal ; axe 2 vertical.

Les eaux "filtrées" de décembre (DT, DH, DP) sont proches de Si et de PO₄ mais il ne s'agit que d'un artefact dû à la projection de ces variables dans le plan défini par les axes F₁ et F₂. En effet, Si et PO₄ ne contribuent respectivement que pour 8 et 0,1 % à l'inertie expliquée par F₁ et 0,4 et 0% à l'inertie expliquée par F₂. L'eau ayant contenu les Palourdes (DP) est légèrement décalée par rapport aux deux autres (DT et DH), se rapprochant ainsi de NH₄⁺. Les eaux "non filtrées" de décembre (DTB, DHB, DPB) sont regroupées autour de l'azote organique dissous total. C'est en effet la substance qui domine dans ces eaux.

Pour l'expérience de février, en eau "filtrée", l'eau des Huîtres (FH) est déplacée par rapport à l'eau témoin (FT) vers NH_4^+ , l'azote organique dissous, l'urée et les acides aminés; l'eau des Palourdes (FP) se rapproche quant à elle de NH_4^+ . En eau "non filtrée", l'eau des Palourdes (FPB) est nettement décalée vers l'azote organique dissous et l'eau des Huîtres (FHP) reste proche de l'eau témoin (FTB). En effet, la concentration en azote organique dissous après cinq heures de stabulation est de $11,29 \mu\text{M.l}^{-1}$ dans l'eau témoin et l'eau des Huîtres contre $20,93 \mu\text{M.l}^{-1}$, soit presque deux fois plus, dans l'eau des Palourdes.

En avril, les eaux "filtrées" ayant contenu les Mollusques (AH et AP) sont plus riches en NH_4^+ que l'eau témoin (AT). En eaux "non filtrées", les Palourdes ont surtout apporté de l'azote organique dissous.

En juin, on note un très net déplacement des individus vers NH_4^+ pour les eaux ayant contenu les Mollusques, que ce soit en eaux "filtrées" ou en eaux "non filtrées". Il est particulièrement remarquable en ce qui concerne l'eau de stabulation "non filtrée" des Palourdes (JPB). Le phénomène est ici amplifié par le fait que seule la concentration en NH_4^+ diffère de celle du témoin, alors que dans les cas précédents, les concentrations des différentes substances varient simultanément avec celle en ammoniacque.

En août, en eaux "filtrées", les Palourdes (UP) apportent essentiellement de l'ammoniacque alors que les Huîtres (UH) apportent simultanément du NH_4^+ et de l'azote organique dissous. En eaux "non filtrées", les Huîtres (UHB) enrichissent l'eau essentiellement en azote organique tandis que les Palourdes (UPB) l'enrichissent à la fois en NH_4^+ et en azote organique.

En octobre, les Huîtres (OH) et les Palourdes (OP) apportent de l'ammoniacque dans les "eaux filtrées". Les Huîtres apportent de l'azote et du phosphore organiques dissous. En eaux "non filtrées", les Mollusques (OHB, OPB) enrichissent également l'eau en ammoniacque mais un autre phénomène intervient dans ce cas. En effet, la concentration en nitrates est constante dans les eaux de stabulation, mais supérieure à celle du témoin

tout au long de l'expérience. L'orientation du déplacement des eaux ayant contenu les Mollusques vers les nitrates s'explique par la différence des concentrations avec l'eau témoin mais ne signifie pas pour autant que les eaux de stabulation aient été enrichies en nitrates.

Il ressort de cette étude que les Mollusques enrichissent l'eau où ils sont incubés en ammoniacque, en urée, en acides aminés et en azote organique dissous total ainsi qu'en phosphore minéral et organique dissous de façon différentielle et plus ou moins intensément selon la période d'étude. Cependant ce premier constat pourrait être entaché d'erreurs : en effet, le volume d'eau diminue suite aux différentes prises réalisées toutes les heures pour les analyses des éléments et composés, alors que l'excrétion des Mollusques se poursuit vraisemblablement de manière continue. Ainsi, on pourrait attribuer l'augmentation de la teneur en ces éléments ou composés à leur concentration progressive dans le milieu non plus due au phénomène d'excrétion mais plutôt au mode opératoire par diminution progressive du volume d'eau d'incubation. C'est pourquoi, la quantité de produits d'excrétion est estimée ici non plus par rapport au volume d'eau ($\mu\text{M.l}^{-1}$) mais obligatoirement par rapport au poids sec de Mollusques ($\mu\text{M.g}^{-1}$).

C'est dans cet esprit que les quantités en éléments ou composés sont évaluées pour l'ensemble du volume d'eau de chaque bac à l'instant t. La différence observée entre les quantités estimées dans le bac témoin et le bac contenant les Mollusques donne, à cet instant t, une évaluation de la quantité en composés, excrétée par les Bivalves. Les résultats sont alors rapportés au poids sec de chair sèche de Mollusques. Cette grandeur permet d'estimer les taux d'excrétion horaires de chaque élément et ainsi présente l'avantage de pouvoir comparer entre eux les phénomènes d'excrétion propres à chacun des lots de Mollusques utilisés au cours des différentes expériences.

4 - EXCRÉTION DES SUBSTANCES AZOTÉES ET PHOSPHORÉES PAR LES HUITRES ET LES PALOURDES

Tous les éléments et composés dont la concentration a augmenté par rapport à celle estimée simultanément dans l'eau témoin après 5 heures de stabulation, sont pris en compte dans l'analyse

des résultats ; leurs taux d'excrétion horaire moyens sont calculés pour les différents lots de Mollusques correspondant aux 6 séries d'expériences répétées tout au long de l'année 1983-84.

4.1 - TAUX D'EXCRETION D'AZOTE ESTIMES ENTRE DECEMBRE 1983 ET OCTOBRE 1984

4.1.1 - Taux d'excrétion des Huîtres

L'azote total excrété par gramme de chair sèche d'Huîtres et par heure (tabl. 5), varie peu d'une saison à l'autre en eau "filtrée". Ainsi, le taux d'excrétion horaire en azote total peut être évalué en moyenne à $2,47 \pm 1,02 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$. En eau "non filtrée", les valeurs sont plus variables : le taux d'excrétion le plus faible, en février 84, est de $1,25 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ et le plus fort, en décembre 83, de $6,46 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

eau "filtrée"						
	décembre	février	avril	juin	août	octobre
	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$
N-NH ₄	0,34	0,96	1,73	2,11	0,93	0,94
Urée	-	0,14	-	0,03	-	0,21
+ acides aminés	-	0,79	0,06	0,59	2,00	1,06
+ non identifiées	2,59	-	-	0,07	-	0,30
= Azote organique dissous total	2,59	0,93	0,06	0,69	1,41	1,57
Azote total	2,93	1,89	1,79	2,80	2,93	2,51
eau "non filtrée"						
N-NH ₄	0,78	0,19	0,90	1,80	0,39	0,64
Urée	0,50	1,06	0,31	0,05	0,14	0,11
+ acides aminés	-	-	0,19	0,11	0,18	0,81
+ non identifiées	5,18	-	-	0,15	2,29	-
= Azote organique dissous total	5,68	1,06	0,50	0,31	2,61	0,92
Azote total	6,46	1,25	1,40	2,11	3,00	1,56

Tableau 5 - Excrétion azotée par les Huîtres, sous les formes ammoniacale, urée, acides aminés, substances organiques non identifiées, azote organique dissous total, par gramme de chair sèche de Mollusque et par heure, au cours des expériences d'incubation réalisées de décembre 1983 à octobre 1984.

Cette source nouvelle d'azote dans le milieu de stabulation des Huîtres contient la forme ammoniacale, dont les taux d'excrétion augmentent de décembre 83 à juin 84 de $0,34$ à $2,11 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en eau "filtrée" et, de février 84 à juin 84 de $0,19$ à $1,80 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en eau "non filtrée". On observe ensuite une chute de l'excrétion ammoniacale en août et en octobre 1984 dans les deux types d'eaux.

Excepté en avril et en juin, c'est l'azote organique dissous qui constitue la plus grande part de l'azote excrété (fig. 4). L'urée et les acides aminés ne sont pas représentés dans toutes les eaux mais peuvent parfois constituer une part importante de l'azote total excrété : ainsi, l'urée forme $84,8 \%$ des rejets en eau "non filtrée" en février et les acides aminés $68,2 \%$ en eau "filtrée" en août. L'estimation de l'azote organique dissous total permet de prendre en compte des substances organiques azotées autres que l'urée et les acides aminés que les analyses employées n'ont pas déterminées. Ces substances sont excrétées en grande quantité en décembre dans les deux types d'eaux ainsi qu'en août en eau "non filtrée", puisqu'elles représentent plus de 76% du total excrété.

4.1.2 - Taux d'excrétion des Palourdes

Les taux d'excrétion horaires, en azote total par les Palourdes sont proches d'une valeur moyenne de $2,33 \pm 1,32 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ tout au long de l'année d'étude dans l'eau "filtrée". Dans l'eau "non filtrée", ils sont nettement plus élevés en février et en avril 84 puisqu'ils atteignent respectivement $16,15$ et $10,92 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (tabl. 6).

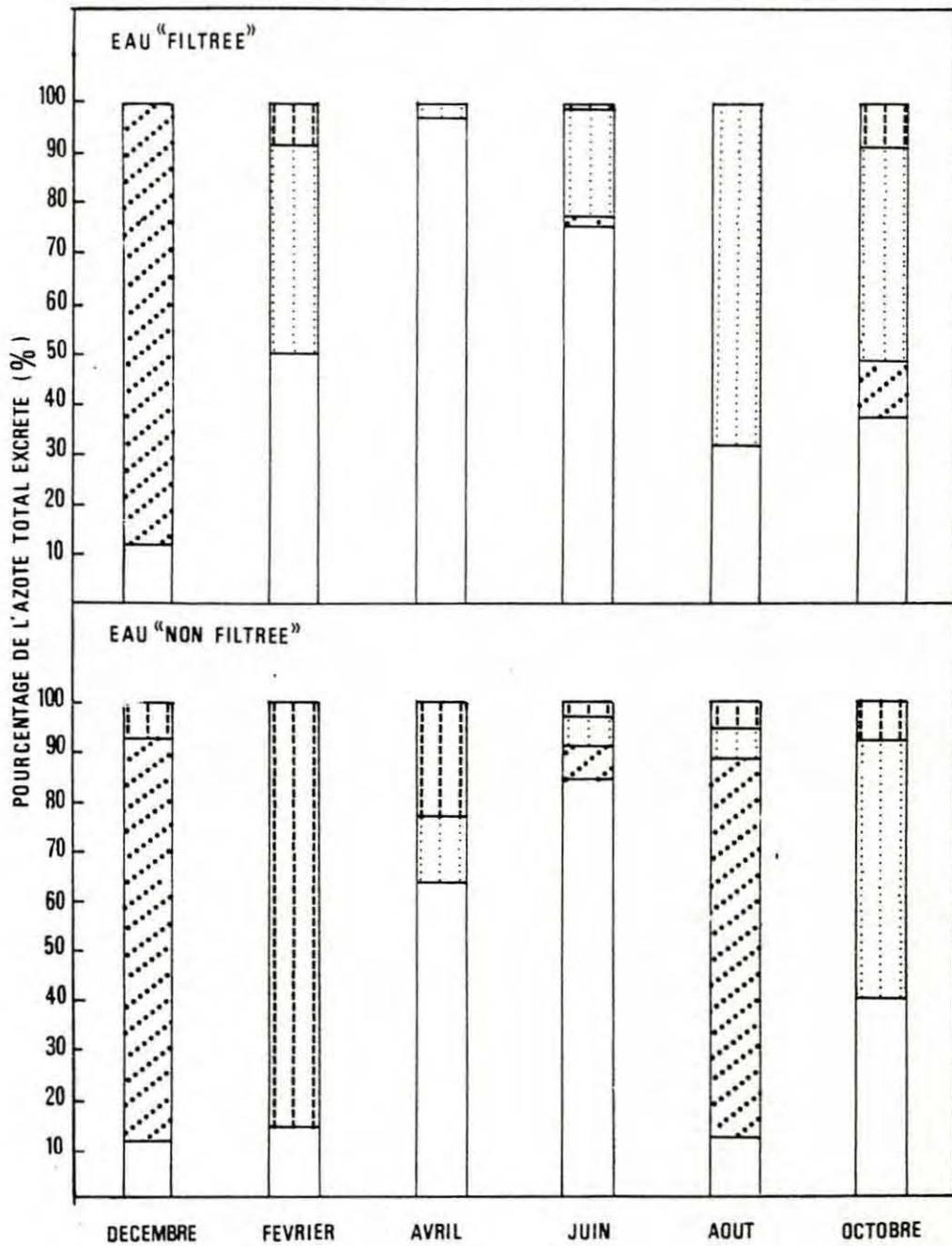


Fig. 4 - Pourcentage des différentes formes azotées, minérales et organiques, par rapport à l'azote total excrété par les Huitres lors des expériences d'incubation réalisées de décembre 1983 à octobre 1984.

□ N.NH₄ ▨ Urée ▩ acides aminés ▤ Substances non identifiées

eau "filtrée"						
	décembre	février	avril	juin	août	octobre
	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{g}^{-1}$
N-NH ₄	0,71	1,11	1,32	1,99	2,41	1,19
Urée	-	0,03	0,20	0,37	0,07	0,19
+ acides aminés	0,17	1,38	1,33	-	-	0,52
+ non identifiées	0,30	0,03	0,36	-	-	0,28
= Azote organique dissous total	0,47	1,44	1,89	0,37	0,07	0,99
Azote total	1,18	2,55	3,21	2,36	2,48	2,18

eau "non filtrée"						
	décembre	février	avril	juin	août	octobre
	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{g}^{-1}$
N-NH ₄	0,77	0,19	0,57	6,36	0,58	0,93
Urée	0,03	-	0,45	-	0,07	0,29
+ acides aminés	-	-	0,09	-	0,47	2,27
+ non identifiées	0,79	15,96	9,81	-	0,34	-
= Azote organique dissous total	0,82	15,96	10,35	-	0,88	2,56
Azote total	1,59	16,15	10,92	6,36	1,46	3,49

Tableau 6 - Excrétion azotée par les Palourdes, sous les formes ammoniacale, urée, acides aminés, substances organiques non identifiées, azote organique dissous total, par gramme de chair sèche de Mollusque et par heure, au cours des expériences d'incubation réalisées de décembre 1983 à octobre 1984.

L'azote ammoniacal est nettement dominant en juin dans les deux types d'eau et en août en eau "filtrée", puisqu'il correspond alors à plus de 84 % de l'azote excrété (fig.5). Pendant les autres périodes, l'azote excrété est surtout constitué par l'azote organique dissous, en particulier en février et en avril en eau "non filtrée" où cette forme correspond à plus de 90 % des rejets. L'urée est peu représentée et ne dépasse pas 15 % du total de l'azote excrété. La part des acides aminés est variable d'une expérience à l'autre. Quant à l'ensemble des substances non identifiées, il peut être soit inexistant, soit excrété en grande quantité comme en février et en avril en eau "non filtrée" (tabl. 6) et constituer alors la quasi totalité de l'excrétion azotée (fig.5).

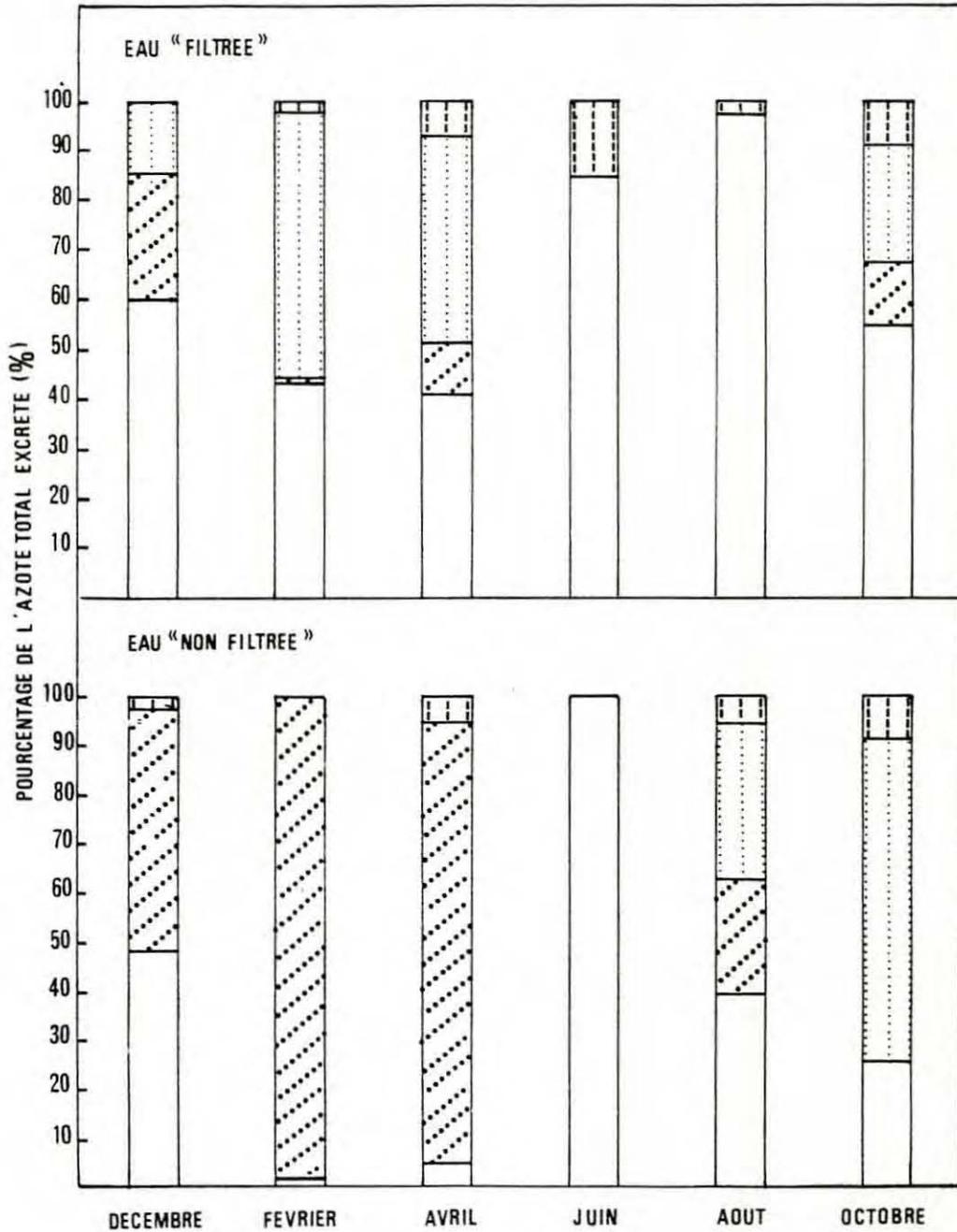


Fig. 5 - Pourcentage des différentes formes azotées, minérales et organiques, par rapport à l'azote total excrété par les Palourdes lors des expériences d'incubation réalisées de décembre 1983 à octobre 1984.

□ N.NH₄ ▨ Urée ▩ acides aminés ▤ substances non identifiées

4.2 - IDENTIFICATION DES ACIDES AMINES LIBRES DISSOUS DANS L'EAU D'INCUBATION DES MOLLUSQUES ET EVOLUTION DE LEUR CONCENTRATION APRES CINQ HEURES DE STABILISATION : EXEMPLE DE L'EXPERIENCE D'OCTOBRE 1984

La méthode utilisée pour l'estimation des teneurs en acides aminés totaux au moyen de la fluorescamine dose globalement les acides aminés libres et les acides aminés combinés (NORTH 1975). C'est pourquoi nous avons cherché à identifier les différents acides aminés libres présents dans l'eau "filtrée" selon la méthode d'analyse en chromatographie liquide à haute pression (HPLC), en collaboration avec D. DELMAS (CREMA-L'HOUMEAU). L'exemple pris ici correspond à l'expérience réalisée en octobre 1984.

Les variations des concentrations en acides aminés libres dissous, considérés dans leur ensemble, ont été suivies au cours des 5 heures d'expérience dans le bac témoin et dans les bacs contenant les Mollusques (fig. 6). Dans le bac témoin, la teneur en ces composés demeure proche de $2,5 \mu\text{M.l}^{-1}$ pendant les 2 premières heures, augmente pour atteindre $6,1 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 3ème heure, rediminue à $3,2 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 4ème heure, puis augmente à nouveau à $8,3 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 5ème heure. Dans le bac contenant les Huitres, les variations observées sont beaucoup moins importantes : la concentration en acides aminés libres dissous diminue de $3,3$ à $2,5 \mu\text{M.l}^{-1}$ dès la première heure, puis elle demeure proche de cette dernière valeur jusqu'à la 4ème heure ; enfin elle augmente à $3,6 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 5ème heure. Dans le bac contenant les Palourdes, leur teneur reste proche de $3,5 \mu\text{M.l}^{-1}$ pendant les 2 premières heures, augmente à $5,5 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 3ème heure, et diminue ensuite pour atteindre $2,5 \mu\text{M.l}^{-1}$ à la 5ème heure. En début d'incubation, les concentrations en acides aminés libres dissous totaux sont semblables dans les 3 types d'eau, tandis qu'en fin d'expérience, l'eau témoin apparaît plus riche en ces composés organiques azotés que les 3 autres. Ceci tendrait donc à montrer en première approche que les Mollusques utilisent ces formes libres dissoutes pour leur métabolisme.

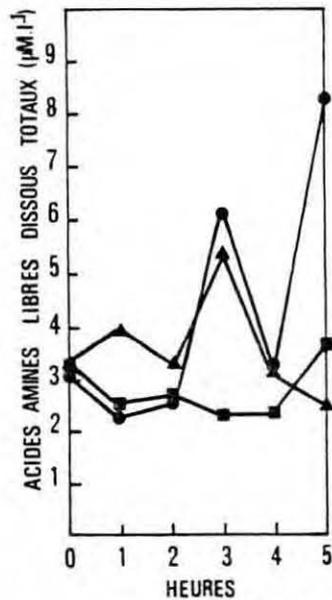


Fig. 6 - Variations des concentrations en acides aminés libres dissous totaux dans le bac témoin (●), dans le bac contenant les Huîtres (■) et dans le bac contenant les Palourdes (▲), au cours des 5 heures de l'expérience réalisée en eau "filtrée" en octobre 1984.

Parmi les 17 acides aminés identifiés dans l'eau du bac témoin en début d'expérience (tabl. 7), la sérine et la thréonine sont les mieux représentés puisqu'ils forment à eux seuls plus de 41 % de l'ensemble avec des concentrations respectives proches de $0,630 \mu\text{M.l}^{-1}$. L'alanine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'ornithine et la tyrosine présentent des concentrations supérieures à $0,100 \mu\text{M.l}^{-1}$, leur ensemble composant 44 % de la totalité des acides aminés. Les 14 % restant sont représentés par des acides aminés dont les concentrations sont inférieures à $0,90 \mu\text{M.l}^{-1}$. Ce sont la glycine, l'histidine, la leucine, l'isoleucine, la lysine, l'asparagine, l'arginine et la taurine. La méthionine et le tryptophane sont également présents mais leurs concentrations sont trop faibles pour être identifiées.

Les proportions relatives des différents acides aminés dans les eaux des bacs contenant les Huîtres ou les Palourdes en début d'expérience sont identiques à celles observées dans

acides aminés		concentrations	proportion de la concentration totale
		$\mu\text{M.l}^{-1}$	%
Alanine	(ALA)	0,318	10,4
Arginine	(ARG)	0,033	1,0
Asparagine	(ASN)	0,042	1,3
Acide aspartique	(ASP)	0,280	9,1
Acide glutamique	(GLU)	0,406	13,2
Glycine	(GLY)	0,087	2,8
Histidine	(HIS)	0,089	2,8
Isoleucine	(ILEU)	0,050	1,6
Leucine	(LEU)	0,078	2,5
Lysine	(LYS)	0,040	1,3
Methionine	(MET)	n.e.	ε
Ornithine	(ORN)	0,247	8,1
Serine	(SER)	0,662	21,6
Taurine	(TAU)	0,018	0,6
Thréonine	(THR)	0,600	19,5
Tryptophane	(TRP)	n.e.	ε
Tyrosine	(TYR)	0,113	3,6
acides aminés		3,063	100

Tableau 7 - Concentrations et proportions relatives de la concentration totale des acides aminés libres dissous présents dans l'eau du bac témoin au début de l'expérience réalisée en octobre 1984. n.e : valeur non estimable ; ε : pourcentage proche de 0.

l'eau du bac témoin (fig. 7) sauf pour l'acide glutamique, l'ornithine, la serine et la thréonine (fig. 7 : E, L, M, O). En effet, l'acide glutamique représente 13 % de l'ensemble des acides aminés dans l'eau témoin alors qu'il ne correspond plus qu'à environ 5 % de la totalité dans l'eau après immersion de Mollusques. La diminution de la représentativité de l'acide glutamique dans les eaux d'incubation des Mollusques par rapport à l'eau témoin est compensée par une augmentation de celles de l'ornithine (pour les Palourdes seulement), de la serine et de la thréonine (pour les deux Mollusques).

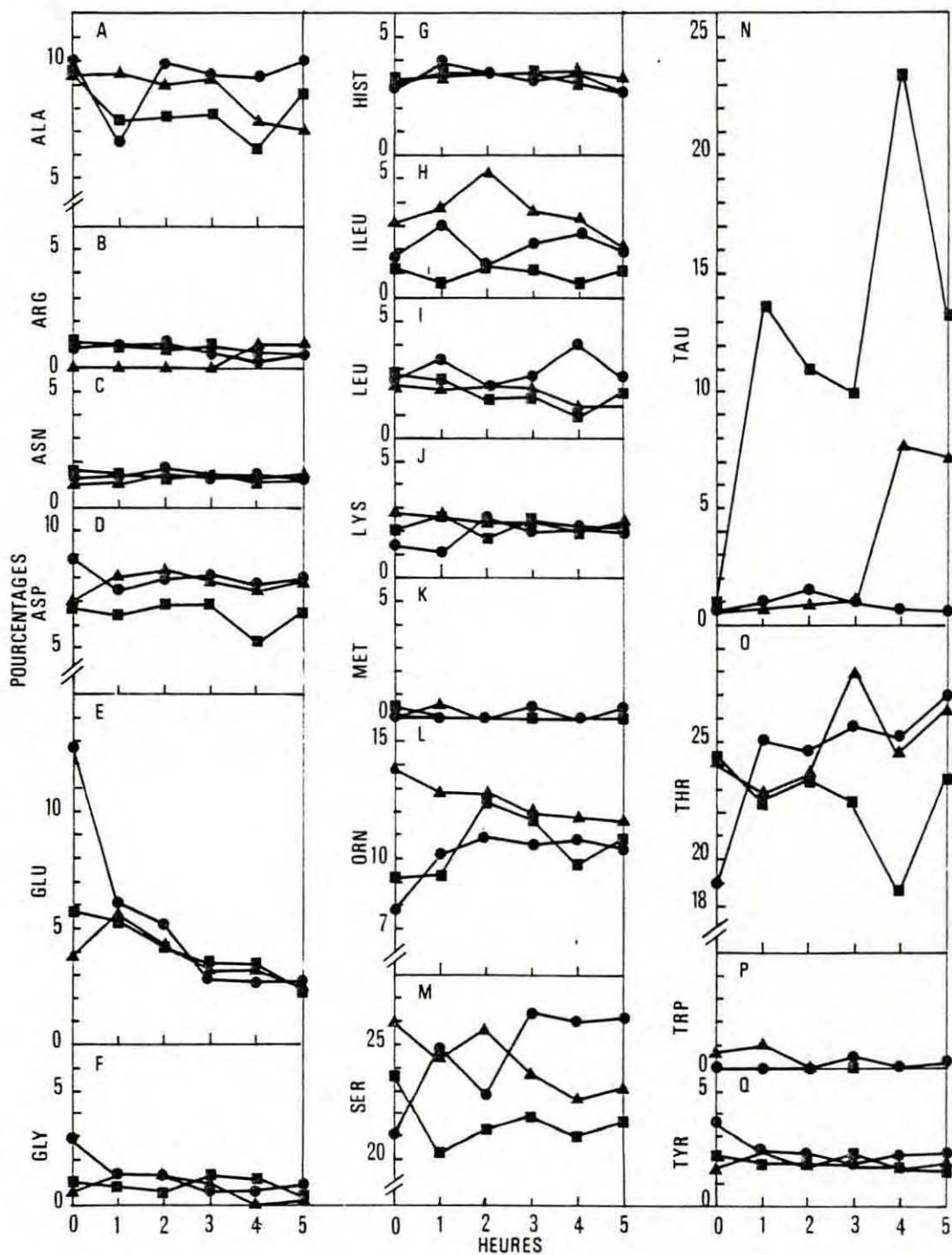


Fig. 7 - Variations des proportions relatives à la concentration totale des acides aminés libres dissous dans l'eau du bac témoin (●), l'eau du bac contenant les Huîtres (■) et l'eau du bac contenant les Palourdes (▲), au cours des 5 heures de l'expérience réalisée en eau "filtrée" en octobre 1984.

Au cours des 5 heures d'incubation, les proportions des différents acides aminés suivent pratiquement la même évolution dans les trois types d'eau et les pourcentages de chacun d'eux dans ces eaux, sont pour la plupart, semblables en fin d'expérience (fig. 7). Toutefois, la taurine fait exception (fig. 7 : N). En effet, la proportion de ce composé demeure sensiblement constante dans l'eau témoin, se situant entre 0,6 et 1,5 %. En revanche, dans l'eau de stabulation des Huîtres, le pourcentage de taurine par rapport à l'ensemble des acides aminés analysés augmente à la première heure jusqu'à 13,7 %, chute ensuite légèrement pour atteindre 10 % à la 3ème heure ; il augmente à nouveau à 24 % à la 4ème heure et chute enfin à 14 % à la 5ème heure. Dans l'eau de stabulation des Palourdes, les proportions en taurine évoluent comme dans l'eau témoin jusqu'à la 3ème heure, puis elles s'en démarquent nettement pour atteindre 7,7 % à la 4ème heure et 7,2 % à la 5ème heure. L'enrichissement des eaux d'incubation des Mollusques en taurine peut être interprété comme la conséquence d'une excrétion de ce composé par les Bivalves ou au contraire celle de l'absorption des autres acides aminés par les Huîtres et les Palourdes. L'étude des variations des concentrations de taurine au cours de l'expérience (fig. 8) montre que celles-ci évoluent peu dans le bac témoin durant les 5 heures, augmentant légèrement de 0,018 à 0,056 $\mu\text{M.l}^{-1}$. Par contre, dans le bac contenant les Huîtres, la concentration en ce composé augmente dès la première heure de 0,036 à 0,348 $\mu\text{M.l}^{-1}$; elle diminue ensuite à 0,232 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à la 3ème heure et augmente à nouveau jusqu'à 0,554 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à la 4ème heure. Elle reste dans cette gamme de concentration (0,492 $\mu\text{M.l}^{-1}$) à la 5ème heure. Dans l'eau d'incubation des Palourdes, les teneurs en taurine varient de 0,020 à 0,55 $\mu\text{M.l}^{-1}$ durant les 3 premières heures, comme dans l'eau témoin, puis elles augmentent nettement pour atteindre 0,253 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à la 4ème heure et 0,180 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à la 5ème heure.

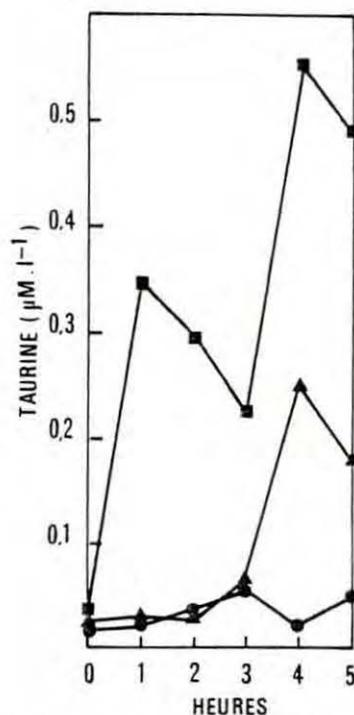


Fig. 8 - Variations des concentrations de taurine dans l'eau du bac témoin (●), l'eau du bac contenant les Huîtres (■) et l'eau du bac contenant les Palourdes (▲), au cours des 5 heures de l'expérience réalisée en eau "filtrée" en octobre 1984.

Dans les conditions d'expérience retenues, on note donc une excrétion de taurine de la part des Mollusques commençant dès la première heure pour les Huîtres et après 3 heures pour les Palourdes. Il en ressort que les taux d'excrétion horaires moyens évalués sur les 5 heures d'expérience sont respectivement, pour les Huîtres et les Palourdes, de $0,160 \mu\text{M.g}^{-1}$ et $0,060 \mu\text{M.g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Si le taux d'excrétion de taurine par les Palourdes est calculé à partir du moment où l'excrétion commence, il devient alors égal à $0,157 \mu\text{M.g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

4.3 - TAUX D'EXCRETION DE PHOSPHORE ESTIMES ENTRE DECEMBRE 1983 ET OCTOBRE 1984.

4.3.1 - Taux d'excrétion des Huîtres

En eau "filtrée", les valeurs des taux d'excrétion horaires se situent entre $0,07 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (décembre 83) et $0,25 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (février 84) (tabl. 8). Le phosphore excrété apparaît soit sous forme minérale, soit sous forme organique sauf en octobre où les deux formes sont représentées, mais avec une nette dominance du phosphore minéral. En eau "non filtrée", les Huîtres n'ont pas excrété de phosphore en décembre et en avril. En dehors de ces deux périodes, le taux d'excrétion le plus bas est enregistré en juin avec $0,08 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$; les taux les plus forts, $0,27$ et $0,24 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$, sont observés, respectivement en août et en octobre. L'élément est excrété essentiellement sous la forme minérale, excepté en juin où le phosphore organique domine. La moyenne des taux d'excrétion de phosphore total est de $0,16 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ dans l'eau "filtrée" et $0,12 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ dans l'eau "non filtrée". L'excrétion de la forme minérale domine sur celle de la forme organique, particulièrement dans l'eau "non filtrée".

eau "filtrée"						
	décembre	février	avril	juin	août	octobre
	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$
P-PO ₄	0,07	0	0,19	0	0,14	0,12
Phosphore organique dissous	0	0,25	0	0,16	0	0,03
Phosphore total	0,07	0,25	0,19	0,16	0,14	0,15
eau "non filtrée"						
P-PO ₄	0	0,15	0	0,02	0,27	0,24
Phosphore organique dissous	0	0	0	0,06	0	0
Phosphore total	0	0,15	0	0,08	0,27	0,24

Tableau 8 - Excrétion phosphorée par les Huîtres, par gramme de chair sèche de Mollusque et par heure, au cours des expériences d'incubation réalisées de décembre 1983 à octobre 1984.

4.3.2 - Taux d'excrétion des Palourdes

En eau "filtrée" les taux d'excrétion de phosphore total oscillent autour d'une valeur proche de $0,075 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ excepté en février et en octobre où des valeurs plus élevées sont observées : $0,31$ et $0,18 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ respectivement (tabl. 9). En eau "non filtrée", les valeurs les plus fortes sont également observées en février ($0,25 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$) et en octobre ($0,29 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$). En août, le phosphore est excrété au taux horaire de $0,19 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Pour les autres expériences, ils sont inférieurs à $0,06 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$. L'excrétion phosphorée des Palourdes est semblable dans les deux types d'eau. En effet, les moyennes respectives des taux d'excrétion en phosphore total dans l'eau "filtrée" et l'eau "non filtrée" sont de $0,13$ et $0,14 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ avec $0,10 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour la forme minérale et $0,03$ ou $0,04 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour la forme organique. L'observation faite avec les huîtres se renouvelle avec les Palourdes : l'excrétion de phosphore minéral domine sur l'excrétion de phosphore organique dissous.

eau "filtrée"						
	décembre	février	avril	juin	août	octobre
	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$
P-PO ₄	0,06	0,20	0,08	0,03	0,06	0,18
Phosphore organique dissous	0	0,11	0	0,07	0	0
Phosphore total	0,06	0,31	0,08	0,10	0,06	0,18
eau "non filtrée"						
P-PO ₄	0,03	0,11	0	0,01	0,19	0,29
Phosphore organique dissous	0	0,14	0,04	0,05	0	0
Phosphore total	0,03	0,25	0,04	0,06	0,19	0,29

Tableau 9 - Excrétion phosphorée par les Palourdes, par gramme de chair sèche de Mollusques et par heure, au cours des expériences d'incubation réalisées de décembre 1983 à octobre 1984.

5 - DISCUSSION

5.1 - ANALYSE CRITIQUE DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL : COMPARAISON AVEC LES TRAVAUX ANTERIEURS

Le protocole expérimental utilisé, qui consiste à laisser séjourner des Mollusques dans un bac d'eau de mer non renouvelée afin de suivre les variations de la nature chimique du milieu en fonction du temps a été largement employé dans les expériences de mesure d'excrétion de divers Mollusques. Seules quelques variantes sont apparues : ainsi, le volume d'eau recouvrant les animaux peut être de 10 à 400 ml (HAMMEN 1968) jusqu'à 30 l (ROBERT et al. 1982 b). De même, la durée d'expérience peut s'étendre de 2 à 5 heures (BAYNE et SCULLARD 1977 ; ROBERT et al. 1982 b) ou jusqu'à 24 heures (HAMMEN et al. 1966 ; HAMMEN 1968 ; SRNA et BAGGALEY 1976). Cette méthode, bien que la plus employée à notre connaissance, présente des inconvénients sous plusieurs aspects. Elle peut en effet permettre une contamination bactérienne par le confinement qu'elle impose comme l'ont souligné BAYNE et al. en 1976. HAMMEN en 1968 avait de plus montré que le confinement peut faire varier les proportions des substances excrétées ; en effet, les fèces et pseudo-fèces rejetées par les Mollusques dans le milieu, peuvent apporter du matériel dissous (KAMATANI et AMANO 1984). D'autres phénomènes comme ceux d'adsorption et désorption sur les particules en suspension peuvent également intervenir très rapidement dans les eaux "non filtrées" (DELMAS 1981). Cependant, la durée relativement courte de nos expériences, la propreté des bacs, le nettoyage des coquilles des Mollusques et l'élimination relative des fèces sous les grilles supportant les animaux (planche I) nous permettent de penser que l'influence de ces différents facteurs reste minime. Par contre, la nécessité de filtrer et congeler les échantillons avant les dosages pourrait expliquer certaines fluctuations des concentrations observées comme le montre l'expérience réalisée par DAVID en 1980 sur les phosphates. Il faut également garder à l'esprit que ce qui est désigné par excrétion dans ce type d'étude correspond en fait à un bilan entre excrétion réelle et absorption concomitante de substances dissoutes. En effet, les Mollusques peuvent réabsorber certaines substances

dissoutes telles que les acides aminés comme l'ont rappelé ROMAN en 1983, SIEBERS et WINKLER en 1984 et comme nous avons pu l'observer au cours de l'expérience réalisée en octobre 1984.

5.2 - EXCRETION D'ELEMENTS ET COMPOSES AZOTES PAR LES MOLLUSQUES

5.2.1 - Taux d'excrétion : prise en compte de toutes les formes d'azote

L'excrétion de substances azotées par les deux Bivalves est certaine. Les taux d'excrétion horaires de l'ensemble de ces substances sont inférieurs à ceux enregistrés pour l'ammoniaque par BOROMTHANARAT (1986) avec Mytilus edulis ($4,1$ à $49,5 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$) ainsi que pour l'azote organique dissous par ROBERT et al. (1982 b) avec Crassostrea gigas (17 à $30 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$). En effet, seules deux valeurs enregistrées avec les Palourdes en eau "non filtrée" en février et avril 84, respectivement de $16,15$ et $10,92 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$, se rapprochent des observations antérieures. Hormis ces deux valeurs exceptionnellement fortes, les taux d'excrétion en azote total, relativement constants entre les saisons et équivalents pour les Huîtres et les Palourdes, oscillent entre $1,18$ et $6,46 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (moyenne $2,61$). Ces mêmes taux, exprimés par rapport au poids frais des Mollusques sont tout à fait en accord avec les valeurs obtenues par HAMMEN et al. (1966) et HAMMEN (1968) pour Crassostrea virginica et six autres Bivalves.

5.2.2 - Variations des taux d'excrétion relatifs des différentes substances azotées au cours des expériences réalisées sur l'année d'étude

Comme l'ont montré HAMMEN et al. en 1966, la nature des excréments est mixte. BAYNE et SCULLARD en 1977 ont observé, quant à eux, que les proportions des différentes substances azotées excrétées étaient variables selon les saisons. Si nous n'observons pas de grandes différences entre les taux d'excrétion d'azote total entre les saisons, nous constatons par contre, que l'importance relative de chaque substance excrétée diffère selon la période d'étude. Ainsi, contrairement aux conclusions

des auteurs dont les travaux ont été recensés par BAYNE et al. en 1976, et celles, plus récentes, de BOUCHER en 1985, l'azote ammoniacal ne constitue pas toujours la principale forme chimique de l'élément excrété. En effet, chez les Huîtres, il peut représenter 80 % des rejets en juin et seulement 20 % en août. Cette chute brutale de l'excrétion en ammoniacale entre juin et août peut être due à la libération des gamètes entre ces deux périodes, comme l'ont mis en évidence GABBOT et BAYNE en 1973 sur la Moule, les conditions de température et de salinité des expériences réalisées ici étant proches de celles définies par DESLOUS-PAOLI en 1980 pour l'émission des gamètes de Crassostrea gigas.

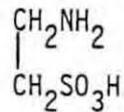
L'excrétion d'ammoniacale n'est dominante qu'en fin de printemps pour les Huîtres (avril-juin) et en été pour les Palourdes (juin-août) lorsque la température devient supérieure à 14°C comme l'ont d'ailleurs observé MANN et GLOMB en 1978 et MANN en 1979 sur la Palourde. Pour les autres périodes, c'est généralement l'azote organique dissous qui, parmi les substances azotées excrétées, domine sur les formes minérales.

L'excrétion de l'urée apparaît variable. Elle ne dépasse que très rarement 20 % de l'azote excrété, ce qui confirme les résultats exposés par BAYNE et al. (1976) et par BOUCHER (1985), sauf en février en eau "non filtrée" avec les Huîtres, où l'azote organique apparaît uniquement sous forme d'urée et représente 85 % des rejets.

L'excrétion des acides aminés s'avère également être très variable : elle est soit inexistante comme en décembre avec les Huîtres ou en juin avec les Palourdes, soit très importante et représente alors plus de 68 % des rejets azotés comme en août en eau "filtrée" avec les Huîtres. Nous confirmons là encore les résultats énoncés par BAYNE et al. 1976.

La méthode de dosage utilisée ne nous permet pas de distinguer, parmi les acides aminés excrétés, les formes libres des formes combinées excepté en octobre en eau "filtrée" où les acides aminés libres dissous ont été évalués par HPLC. Les mesures réalisées par cette nouvelle méthode permettent de montrer que les acides aminés excrétés dans le cas particulier de cette

expérience, apparaissent sous forme combinée puisqu'aucune augmentation d'acides aminés libres totaux dans les eaux de stabulation des Mollusques est observée par rapport à l'eau témoin. Elles permettent aussi de mettre en évidence l'excrétion préférentielle de taurine par les Mollusques. Cette substance est très répandue dans le monde animal. La taurine ou acide 2 aminoéthanesulfonique est très proche des acides aminés :



Elle est formée à partir d'une oxydation suivie d'une décarboxylation de la cystéine (WEIL, 1979). Chez les vertébrés supérieurs, elle peut être conjuguée avec l'acide cholique pour former les acides biliaires. Elle est également bien représentée chez les vertébrés inférieurs (VISLIE, 1980) et chez les invertébrés (ALLEN et GARRETT, 1971) d'eaux marines ou saumâtres.

Sa fonction principale, ou du moins la plus étudiée, chez ces organismes est de réguler la pression osmotique intracellulaire face aux variations de salinité comme le montrent les études réalisées sur le flet (VISLIE 1980, VISLIE 1983) ou sur différents invertébrés (PIERCE et GREENBERG 1972, BISHOP 1976, KOEHN et al. 1980, PIPE et MOORE 1985). Cette fonction semble d'autant plus essentielle que, bien que les espèces d'eau douce soient capables de synthétiser la taurine, elles ne peuvent toutefois pas en maintenir les concentrations élevées observées chez les espèces marines (ALLEN et AWAPARA, 1960).

La taurine peut également jouer un rôle dans les transphosphorylations au niveau de l'activité musculaire ainsi que dans la transmission de l'influx au niveau du système nerveux mais ces deux fonctions sont mal connues (ALLEN et GARRETT 1971).

Dans le cas précis des expériences présentées, la taurine est excrétée par les Huîtres et les Palourdes en quantités certes faibles, comparées à celles enregistrées par les auteurs précédents dans le cas d'une diminution de salinité, mais néanmoins remarquables alors que les conditions d'expérimentation retenues peuvent être considérées a priori comme se rapprochant de celle du milieu naturel. Il est donc permis de supposer que de tels

phénomènes d'excrétion de taurine de la part des Mollusques se produisent dans la nature.

5.2.3 - Influence des facteurs externes et internes sur les taux d'excrétion

L'augmentation progressive du taux d'excrétion d'ammoniaque jusqu'en période estivale, ainsi que la coïncidence de sa valeur en octobre 1984 avec celle de décembre 1983 après la baisse liée à l'expulsion des gamètes nous permettent d'extrapoler les résultats obtenus ponctuellement tous les deux mois, à l'ensemble de l'année d'étude (fig. 9). Quel que soit le Mollusque considéré, les variations observées pour chacune des substances azotées analysées sont beaucoup plus accentuées dans les eaux "non filtrées" que dans les eaux "filtrées".

Parmi les facteurs pouvant influencer l'excrétion des Mollusques, HAMMEN en 1968 a montré l'importance de l'espèce et de la taille des individus, BAYNE et SCULLARD en 1977 ont de plus évoqué le rôle joué par les saisons auxquelles est liée la gamétogénèse. D'autres auteurs ont travaillé sur les effets des variations de température (MAN 1979) ou de salinité (BAYNE et al. 1981, PIPE et MOORE 1985). Ces différents facteurs ne peuvent pas intervenir ici pour expliquer les variations observées entre eaux "filtrées" et eaux "non filtrées", puisque les lots de Mollusques utilisés sont les mêmes (fig. 1) et les températures et salinités équivalentes (tabl. 2) dans les deux types de conditions expérimentales. Par contre, l'observation de BOUCHER (1985) concernant la diminution de l'excrétion en ammoniaque pendant le jeûne permet de suggérer que les taux élevés et variables observés en eaux "non filtrées" sont à relier à la présence de nourriture. Toutefois, il ne faut pas négliger les phénomènes d'adsorption et de désorption liés à la présence de particules et qui peuvent masquer l'excrétion par la libération dans le milieu, de composés préalablement adsorbés. De plus, l'activité des bactéries ne peut pas être ignorée même si elle n'a pas été estimée dans ce travail. MAYZAUD (1973) a en effet montré avec du zooplancton mis en conditions similaires qu'au

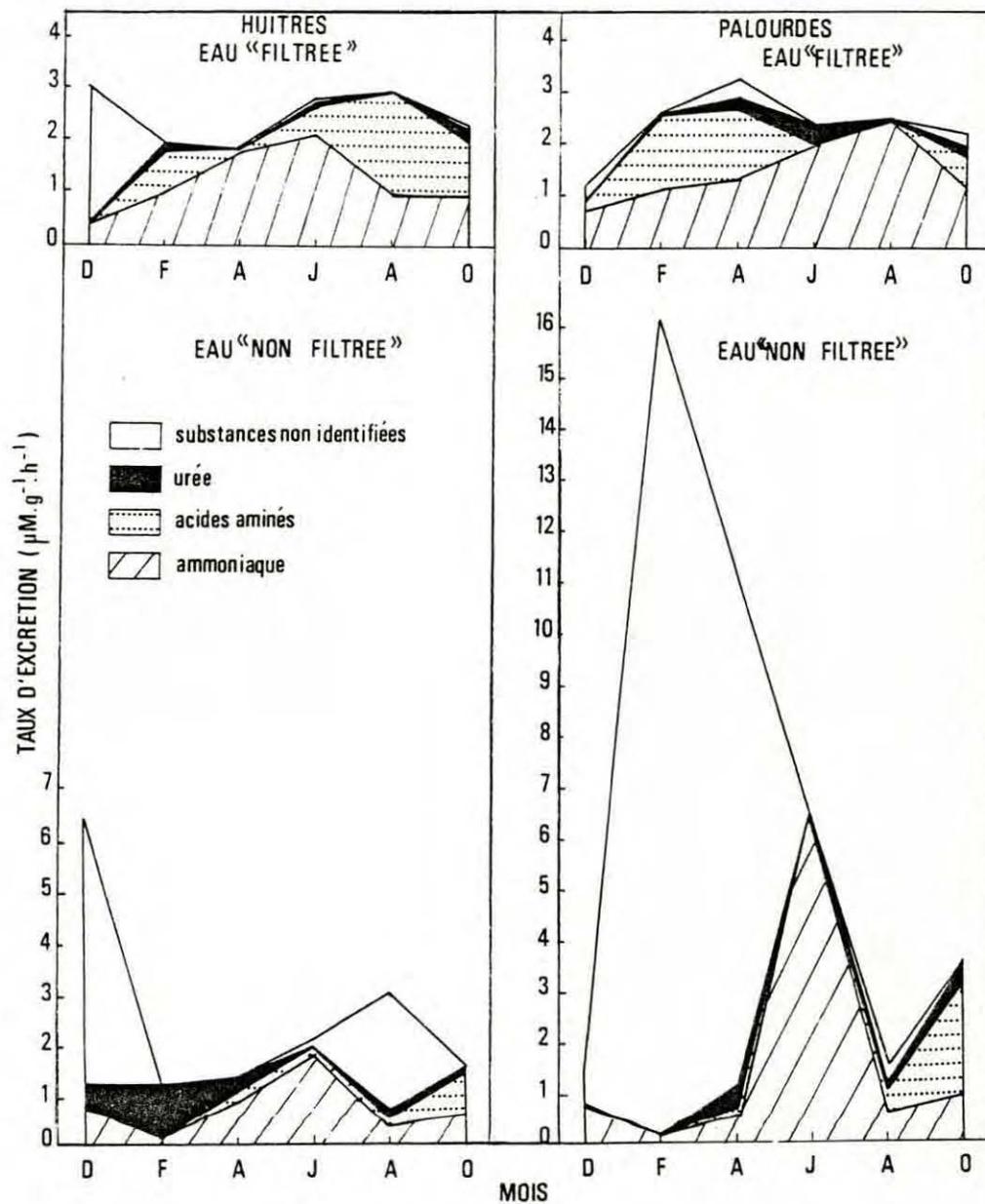


Fig. 9 - Variations sur une année des taux d'excrétion de l'ensemble des différentes substances azotées par les Huitres et les Palourdes incubées en eaux "filtrée" et "non filtrée".

cours des six heures d'expérimentation, la minéralisation bactérienne peut entraîner une sous-estimation de l'excrétion de l'azote organique et une sur-estimation de celle de l'ammoniaque. Ce phénomène observé dans une eau de mer alors qu'elle était filtrée sur membrane de porosité $0,22 \mu\text{m}$ ne peut qu'être largement amplifié dans une eau non traitée. C'est pourquoi nous considérons que les résultats les plus révélateurs de l'excrétion des Mollusques, quoique très certainement sous estimés sont obtenus en incubant ces derniers dans de l'eau de mer "filtrée". Ainsi, en considérant l'excrétion de chacune des substances à l'échelle de l'année, nous pouvons affirmer que l'ammoniaque est surtout excrété en juin par les Huîtres et en août par les Palourdes (fig. 10). Les acides aminés apparaissent essentiellement en août pour les Huîtres et en février et avril pour les Palourdes. L'urée intervient peu dans l'excrétion azotée. Quant aux substances organiques non identifiées, elles sont surtout apportées en décembre par les Huîtres et en avril par les Palourdes.

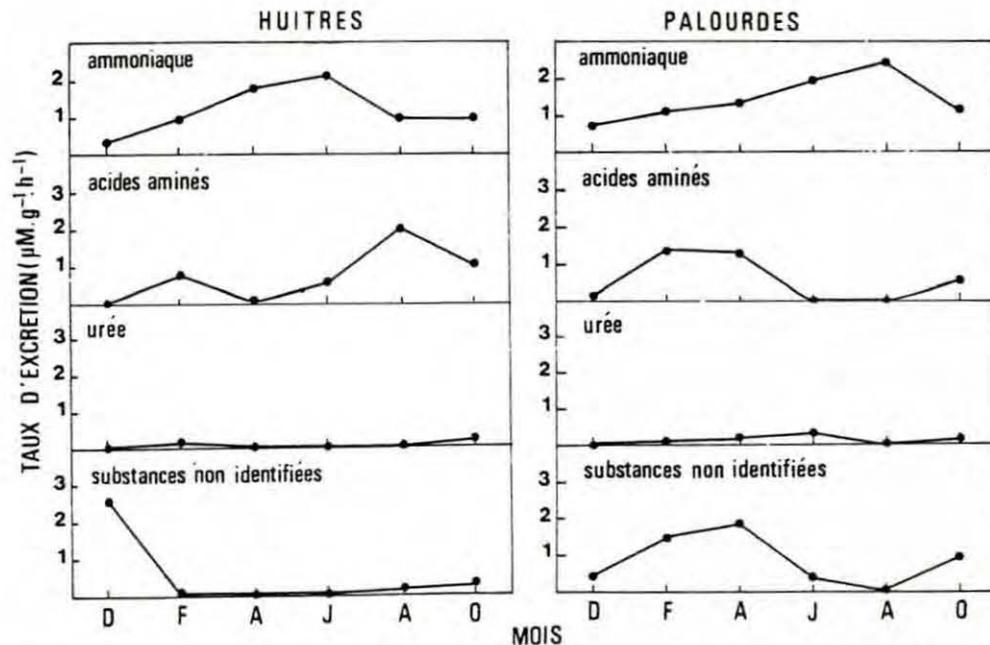


Fig. 10 - Variations sur une année des taux d'excrétion de chaque substance azotée par les Huîtres et les Palourdes incubées en eau "filtrée".

5.3 - EXCRETION D'ELEMENTS ET COMPOSES PHOSPHORES PAR LES MOLLUSQUES

Les Huîtres et les Palourdes excrètent non seulement de l'azote mais aussi du phosphore dissous sous forme minérale et organique. Les taux d'excrétion de cet élément sont similaires pour les deux Mollusques étudiés mais inférieurs à ceux observés par KUENZLER en 1961 sur la Moule Modiolus demissus. Les taux journaliers enregistrés par cet auteur rapportés à l'unité de temps présentent un ordre de grandeur variant entre 0,58 et 4,75 $\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour la forme minérale et, dans des conditions de température et de salinité comparables à celles retenues dans notre travail, restant inférieurs à 0,48 $\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour la forme organique. Les Huîtres et les Palourdes présentent aussi une excrétion phosphorée dominée par la forme minérale de l'élément dont les proportions par rapport à la quantité totale en phosphore excrété sont en moyenne de 74 %.

5.4 - COMPARAISON DES ENRICHISSEMENTS EN AZOTE ET EN PHOSPHORE ET EVOLUTION DES RAPPORTS N/P ET N/Si APRES STABILISATION DES MOLLUSQUES

Bien qu'apparemment plus faible, l'excrétion phosphorée est équivalente à l'excrétion azotée si elles sont toutes deux comparées aux teneurs initiales en phosphore et azote de l'eau. Ainsi, l'équivalent d'un gramme de chair sèche d'Huître ou de Palourde placé pendant une heure dans un litre d'eau de mer peut, en moyenne, enrichir cette eau de 18 % de sa teneur initiale en phosphore total dissous. Pour l'azote, l'enrichissement est de 28 % de la teneur initiale si seules les substances apportées par les Mollusques, ammoniacque et azote organique dissous, sont retenues dans les calculs ; cette proportion n'atteint plus que 14 % si les nitrates et les nitrites sont ajoutés à la teneur en azote initialement prise en compte dans le milieu.

Ainsi, l'apport supplémentaire et différentiel de composés dissous par les Mollusques retentit sur le rapport des concentrations des éléments. On peut observer, en effet, si on ne se limite qu'aux eaux "filtrées", que le rapport azote minéral total/phosphore minéral ($\Sigma N/P$) augmente très nettement dans les phases d'excrétion active des Mollusques (tabl. 10) : celui-ci passe au printemps de 9,3 dans l'eau témoin à 27,9 et 21,7 dans les eaux de stabulation des Huîtres et des Palourdes alors qu'il est très peu modifié d'octobre à février. Des différences sont également observées entre les eaux d'incubation des Huîtres et celles des Palourdes. Ainsi par exemple, dans le cas des eaux d'avril (tabl. 10), la plus forte valeur du rapport ($\Sigma N/P$) enregistrée en présence des Palourdes (43,2) est liée principalement à un taux d'excrétion de phosphore nettement plus faible que celui noté en présence des Huîtres (tabl. 8 et 9).

	ΣN minéral			ΣN minéral + organique		
	P			P minéral + organique		
	Témoin	Huîtres	Palourdes	Témoin	Huîtres	Palourdes
décembre	21,77	25,22	24,03	16,98	26,10	20,30
février	22,40	22,32	19,28	29,98	22,25	21,00
avril	32,26	35,61	43,22	37,43	45,46	52,21
juin	9,25	27,89	21,74	25,14	28,07	30,48
août	14,08	12,94	20,63	19,53	19,89	21,75
octobre	25,53	22,17	19,44	31,13	27,97	20,87

Tableau 10 - Rapports ΣN minéral/P et ΣN minéral + organique/P minéral + organique, dans les eaux "filtrées" du bac témoin et des bacs contenant les Huîtres et les Palourdes, après 5 heures d'expérience, au cours des 6 périodes d'étude ; ΣN minéral = $N - NH_4 + NO_3 + NO_2$.

Les modifications du rapport ($\Sigma N/P$) observées se manifestent donc par un changement de l'état d'équilibre entre les éléments tantôt au bénéfice de l'azote (exemple de juin), tantôt au bénéfice du phosphore (exemple d'août pour les eaux d'incubation des Huîtres). Ces modifications s'accroissent si on prend en compte dans les calculs la phase organique dissoute des deux éléments, sauf en juin du fait de la faible proportion dans les produits d'excrétion, de l'azote organique dissous par rapport à l'ammoniaque (fig. 9) et aussi de l'apport nouveau de phosphore organique (tabl. 8 et 9). Toutefois, le sens de variation du rapport N minéral + organique/P minéral + organique reste le même que celui enregistré pour le rapport $\Sigma N/P$.

On peut donc déjà émettre l'idée que ces différences observées vont retentir sur la production des algues unicellulaires de milieux conchylicoles à caractère confiné par limitation plus ou moins accentuée de l'azote par rapport au phosphore et inversement. ROBERT (1983) a d'ailleurs relié les valeurs du rapport N/P dans les eaux des claires ostréicoles à la biomasse potentiellement produite dans les bassins.

	ΣN minéral			ΣN minéral + organique		
	Si			Si		
	Témoin	Huîtres	Palourdes	Témoin	Huîtres	Palourdes
décembre	0,67	0,88	0,98	1,17	1,52	1,56
février	0,94	1,17	1,02	1,50	2,05	1,41
avril	2,10	2,91	2,52	3,83	4,75	4,41
juin	1,18	2,44	2,64	3,32	4,79	5,20
août	0,63	0,75	1,06	1,89	2,09	1,80
octobre	1,17	1,33	1,90	1,60	1,95	2,46

Tableau 11 - Rapports ΣN minéral/Si et ΣN minéral + organique/Si, dans les eaux "filtrées" du bac témoin et des bacs contenant les Huîtres et les Palourdes, après 5 heures d'expérience, au cours des 6 périodes d'étude ; ΣN minéral = N - NH₄ + NO₃ + NO₂.

De même, l'apport d'azote et de phosphore par les Mollusques rend inévitablement le Silicium limitant par rapport à ces deux éléments puisque celui-ci n'apparaît pas intervenir dans le métabolisme des organismes étudiés. Ainsi, le rapport ΣN minéral/Si augmente plus ou moins intensément après stabulation des Mollusques en fonction de l'excrétion d'azote (tabl. 11). En effet, en juin, il passe de 1,18 dans l'eau témoin à 2,44 dans l'eau ayant contenu les Huîtres ; par contre, en août, il est à peine plus élevé dans l'eau de stabulation des Huîtres (0,75) que dans l'eau témoin (0,63). Ces différences se trouvent bien sûr amplifiées si l'on tient compte de l'excrétion de l'azote organique dissous (tabl. 11).

6 - CONCLUSION

Crassostrea gigas et Ruditapes philippinarum enrichissent les eaux conchylicoles en azote et en phosphore sous les deux formes minérale et organique dissoutes. L'excrétion azotée par les Mollusques apparaît relativement constante sur toute l'année d'étude mais les proportions des différentes formes libérées dans le milieu varient selon les saisons : en particulier, l'ammoniaque est abondamment excrété au printemps pour les Huîtres et en été pour les Palourdes. Aux autres périodes, les composés excrétés sont principalement représentés par l'azote organique dissous sous les différentes formes : urée, acides aminés et substances non identifiées, dont les proportions relatives varient également. Parmi les acides aminés, certains, comme la taurine, sont excrétés de façon privilégiée. L'excrétion phosphorée est le plus souvent dominée par la forme minérale. Les excrétions azotée et phosphorée des Bivalves sont complexes et régies par de nombreux facteurs externes et internes propres aux Mollusques, agissant simultanément. Pour l'étude expérimentale, les résultats obtenus en eau de mer filtrée sur membrane de 0,22 μm de porosité sont plus révélateurs des phénomènes d'excrétion bien qu'ils soient certainement sous estimés.

Dans le milieu naturel semi-confiné tel que celui des claires où la densité en Mollusques est parfois élevée, l'enrichissement

de l'eau en azote et en phosphore par les animaux prend toute son importance. L'apport de substances nutritives de la part des producteurs secondaires n'est, en effet, certainement pas sans conséquence sur la biologie des microphytes présents dans l'eau. Il est permis de penser que cet apport puisse être à l'origine d'une production végétale régénérée par opposition à la production nouvelle qui ne s'effectue qu'à partir des apports d'eau de mer. D'autre part, l'enrichissement différentiel en composés dissous par les Mollusques, retentit sur le rapport des concentrations des éléments et, par voie de conséquence, sur le degré de limitation de la production des algues microphytes par ces éléments.

Il apparaît donc important d'estimer la biomasse pouvant être potentiellement produite sur les eaux témoins par rapport à celle produite sur les mêmes eaux mais après stabulation des Mollusques. De même, l'ordre des facteurs limitants peut y être mis en évidence afin d'évaluer l'impact des modifications des rapports entre les éléments. La méthode des essais biologiques utilisée jusqu'à présent dans l'estimation de la fertilité des eaux marines, peut être adaptée à ce type de problématique à caractère expérimental.

CHAPITRE 2

INFLUENCE DES MOLLUSQUES SUR LES POTENTIALITES NUTRITIVES DE LEURS EAUX DE STABULATION, POUR TROIS DIATOMEES DOMINANTES DES MILIEUX CONCHYLICOLES

1 - INTRODUCTION

2 - MATERIEL ET METHODES

3 - FERTILITE DES EAUX TEMOINS ET DES EAUX DE STABULATION DES MOLLUSQUES POUR HASLEA OSTREARIA, SKELETONEMA COSTATUM et PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM

3.1 - Résultats

3.1.1 - Biomasses produites

3.1.2 - Caractéristiques de croissance in vitro des trois algues-tests

3.2 - Discussion

3.2.1 - Fertilité des eaux avant et après incubation des Mollusques

3.2.2 - Rendement d'utilisation des produits d'excrétion des Mollusques par les trois algues-tests

4 - IMPACT DE L'EXCRETION DES MOLLUSQUES SUR L'ORDRE DE LIMITATION DES ELEMENTS BIOGENES CONTROLANT LA PRODUCTION DE BIOMASSE

4.1 - Enrichissements différentiels des eaux de l'expérience décembre 1983

4.1.1 - Teneurs initiales en sels nutritifs

4.1.2 - Croissance de Haslea ostrearia en présence des différents enrichissements

4.1.3 - Croissance de Skeletonema costatum en présence des différents enrichissements

4.2 - Enrichissements différentiels des eaux de l'expérience d'avril 1984

4.2.1 - Teneurs initiales en sels nutritifs

4.2.2 - Croissance de Haslea ostrearia en présence des différents enrichissements

4.2.3 - Croissance de Skeletonema costatum en présence des différents enrichissements

4.2.4 - Croissance de Phaeodactylum tricorutum en présence des différents enrichissements

4.3 - Discussion

- 4.3.1 - Composition des enrichissements
- 4.3.2 - Influence de la nature des eaux testées
- 4.3.3 - Influence de l'espèce algale utilisée
- 4.3.4 - Influence de la présence préalable des Mollusques dans l'eau testée

5 - CONCLUSION

CHAPITRE 2

INFLUENCE DES MOLLUSQUES SUR LES POTENTIALITES
NUTRITIVES DE LEURS EAUX DE STABULATION, POUR
TROIS DIATOMEES DOMINANTES DES MILIEUX CONCHYLICOLES

1 - INTRODUCTION

Afin de vérifier si les produits d'excrétion des Mollusques constituent une source de nutriments potentielle pour les microphytes présents dans les zones d'élevage, les eaux de fin d'expérience récoltées dans chaque bac de stabulation ont été soumises à des tests biologiques : 1 - **des tests de fertilité** sur l'ensemble des eaux expérimentales d'une part, et 2 - **des tests d'enrichissements différentiels** sur les eaux des expériences de décembre 1983 et d'avril 1984 d'autre part. L'intérêt et les limites de ces tests biologiques sont largement décrits dans l'ouvrage de synthèse de MAESTRINI et al., 1984. Nous n'en rappelons que les principes généraux.

Les **tests de fertilité** permettent d'estimer "la fertilité potentielle" de l'eau testée, c'est-à-dire la biomasse maximale produite in vitro dans un échantillon de cette eau par un peuplement algal naturel ou une espèce donnée, dans des conditions optimales de température et de lumière lorsque compétiteurs, prédateurs et substances toxiques sont absents. La **croissance des algues** est alors **uniquement limitée** par la nature et la concentration des sels nutritifs présents dans l'eau.

Les **tests d'enrichissements différentiels**, constituent un complément d'information par rapport aux tests de fertilité en ce sens qu'ils permettent de définir la nature et l'ordre des éléments limitant la production algale dans l'eau testée.

Les principaux facteurs nutritionnels qui contrôlent la production primaire sont les macro-éléments Azote, Phosphore et Silicium et les micro-éléments métaux-traces, vitamines et chélateurs. Le principe des enrichissements différentiels est d'ajouter à l'eau de mer soit l'un de ces éléments (X) soit le mélange de tous ces éléments moins un (T-X). Si l'élément X considéré est limitant : 1 - dans le premier cas de figure, son addition se traduit par une augmentation de la biomasse par rapport à un témoin non enrichi ; 2 - dans le deuxième cas de figure, son omission entraîne une diminution de la biomasse par rapport au témoin ayant reçu l'enrichissement complet (T).

Les tests biologiques ont été, jusqu'à présent, largement utilisés pour différencier plusieurs masses d'eau réparties dans l'espace ou dans le temps (SMAYDA 1971, BERLAND et al. 1973, ROBERT et al. 1979, DUFOUR et al. 1981, MARTIN-JEZEQUEL 1981, CHARPY-ROUBAUD 1982, ROBERT et al. 1982 a, GRANALI 1984, MARION 1985). La mise en oeuvre des tests biologiques présente pour nous l'intérêt de pouvoir comparer la fertilité potentielle, ainsi que l'ordre des facteurs limitant la production primaire, dans les eaux témoins et dans les eaux ayant contenu les Mollusques, pour des algues représentatives des milieux conchylicoles et ainsi, de mettre en évidence l'impact des Mollusques sur les potentialités nutritives des eaux de ces milieux. L'originalité de l'étude présentée réside dans le fait que la méthode traditionnellement employée pour distinguer des eaux d'origine différente est adaptée à l'étude d'eaux de même origine mais ayant subi des traitements différents.

2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les trois Diatomées Haslea ostrearia, Skeletonema costatum et Phaeodactylum tricornutum ont été choisies comme algues-tests pour leur grande utilisation en aquaculture ainsi que pour leur caractère dominant dans les peuplements naturels des claires ostréicoles, en automne pour H. ostrearia, en hiver et au printemps pour S. costatum et en été pour P. tricornutum. H. ostrearia et S. costatum ont été isolés des claires de la baie de Bourgneuf, P. tricornutum provient d'une souche de la Station marine d'Endoume

(Marseille). Ces algues sont maintenues en cultures unispécifiques au laboratoire. Avant les expériences, les algues-tests provenant de cultures en phase exponentielle de croissance sont appauvries de leurs réserves en nutriments par lavages et mise en culture dans une eau de mer stérile pauvre en sels nutritifs, pendant 2 jours pour H. ostrearia et 4 jours pour S. costatum et P. tricornutum, afin que leur croissance soit due uniquement à la présence des seuls nutriments qui caractérisent l'eau testée et non pas aux réserves intracellulaires éventuelles.

La fertilité des eaux utilisées pour les expériences sur l'excrétion des Mollusques est testée selon les mêmes méthodes que celles employées pour les eaux naturelles des claires ostréicoles (ROBERT et al. 1979). Les eaux sont décongelées et réparties dans des tubes de culture à raison de 35 ml par tube. Les algues sont inoculées dans les eaux à tester à raison de 10^6 cellules. l^{-1} pour H. ostrearia et 5.10^6 cellules. l^{-1} pour S. costatum et P. tricornutum. Les cultures expérimentales sont maintenues à une température de $12^{\circ}C$ sous un éclairage de $30.10^{36} \mu E.m^{-2} .s^{-1}$ à des alternances jour/nuit de 12 h/12 h. Les densités numériques en cellules sont évaluées par comptage journalier sur cellule hématimétrique de type NAGEOTTE pour H. ostrearia et de type NEUBAUER pour les 2 autres espèces. Lorsque la croissance est terminée, les cultures sont arrêtées. La densité numérique cellulaire obtenue permet d'estimer la biomasse maximale pouvant être produite dans l'eau testée. Les numérations étant réalisées sur environ 500 cellules, les résultats sont donnés avec un coefficient de sécurité de 95 %, (LUND et al., 1958.)

Des tests d'enrichissements différentiels ont été associés aux tests de fertilité pour les expériences de décembre 1983 et d'avril 1984. La méthode de culture des algues-tests est la même que celle exposée précédemment. Toutefois, avant l'ensemencement des eaux par les algues, 0,7 ml d'un mélange enrichissant de composition définie sont ajoutés aux 35 ml d'eau selon seize combinaisons (Tabl. 12) : pour une même eau, seize cultures par espèce algale sont ainsi réalisées. Les concentrations des solutions enrichissantes sont suffisamment élevées pour que l'addition des enrichissements puisse se traduire par une réponse significativement différente de celle du témoin non enrichi sans pour cela qu'elles atteignent des doses létales pour les algues,

Nature des éléments et composés	Concentration finale dans la culture expérimentale	Forme chimique utilisée	Composition des enrichissements	Nomenclature utilisée
N	8 $\mu\text{gat.l}^{-1}$	NaNO_3	Aucun enrichissement	R
P	0,53	$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	N	N
Si	9,6	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	P	P
Co	0,8 ngat.l^{-1}	$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Si	Si
Cu	1,6	CuSO_4	Vitamines	Vit
Fe	32,0	FeCl_3	Métaux	M
Mn	16,0	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	EDTA	EDTA
Mo	16,0	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	NP	NP
Zn	32,0	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	N, P, Si, Vit, M, EDTA	T
B	880,0	H_3Bo_3	P, Si, Vit, M, EDTA	T - N
EDTA	0,19 $\mu\text{M.l}^{-1}$	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	N, Si, Vit, M, EDTA	T - P
Thiamine	23,68 nM.l^{-1}		N, P, Vit, M, EDTA	T - Si
Biotine	65,6 $\mu\text{M.l}^{-1}$		N, P, Si, M, EDTA	T - Vit
Cyanocobalamine	21,4 $\mu\text{M.l}^{-1}$		N, P, Si, Vit, EDTA	T - M
			N, P, Si, Vit, M	T - EDTA
			Si, Vit, M, EDTA	T - NP

Tableau 12 - Nature et concentration des éléments et composés utilisés pour la confection des solutions enrichissantes destinées aux tests permettant la recherche de l'élément limitant la production micro-algale ; la composition des enrichissements et leurs symboles sont précisés.

3 - FERTILITÉ DES EAUX TÉMOINS ET DES EAUX DE STABULATION DES MOLLUSQUES POUR HASLEA OSTREARIA, SKELETONEMA COSTATUM ET PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM

3.1 - RESULTATS

3.1.1 - Biomasses produites

Haslea ostrearia

En eau "filtrée" comme en eau "non filtrée", les biomasses maximales produites par Haslea ostrearia, exprimées en densités numériques en cellules, sont très variables d'une expérience à l'autre (fig. 11). Ainsi, les valeurs enregistrées en février et en juin n'excèdent pas 10^6 cell.l⁻¹ alors qu'en décembre, en août et en octobre elles peuvent atteindre plus de 10^7 cell.l⁻¹.

A la lecture des seuls résultats propres aux eaux témoins, on note avec netteté une évolution saisonnière de la fertilité potentielle algale. En effet, les biomasses produites par H. ostrearia dans ces eaux sont maximales d'août à décembre et minimales de la fin de l'hiver au début de l'été.

Pour une même expérience, les réponses obtenues peuvent être différentes selon que l'eau testée aura ou n'aura pas contenu de Mollusques. Ainsi, en décembre, dans l'eau "filtrée", la biomasse pouvant être potentiellement produite est plus élevée dans les eaux de stabulation des Mollusques que dans l'eau témoin : de l'ordre de 20 % en présence des Huîtres et de 50 % en présence des Palourdes. Dans l'eau "non filtrée" on observe le même phénomène : la biomasse maximale produite en présence des Palourdes atteint un niveau 1,5 fois supérieur à celui mis en évidence dans l'eau témoin ; toutefois, celle produite en présence des Huîtres reste équivalente à celle de l'eau de référence. En février, aucune différence significative est observée entre les trois types d'eau. En revanche, en avril, les eaux de stabulation des Mollusques apparaissent très nettement plus fertiles que l'eau témoin, puisque la croissance algale estimée dans l'eau d'incubation des Huîtres atteint près de 4 à 7 fois celle estimée dans le témoin que ce soit dans l'eau "filtrée" ou dans l'eau "non filtrée". De même, l'eau d'incubation

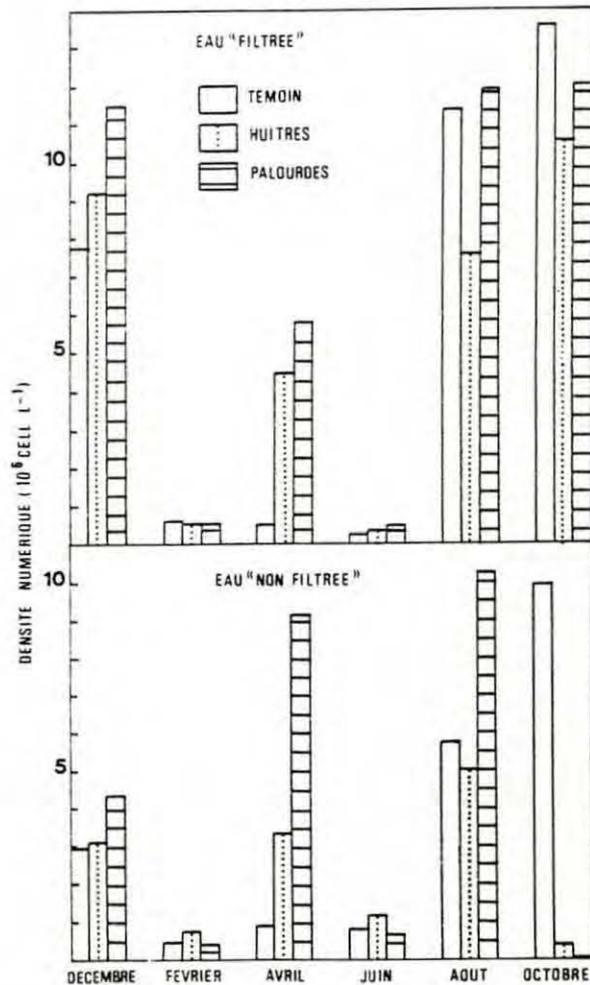


Fig. 11 - Biomasse maximale produite par l'algue-test *Haslea ostrearia* dans l'eau témoin puis après stabulation des Huitres et des Palourdes dans les eaux "filtrées" et "non filtrées" des expériences de décembre 1983 à octobre 1984 ; la biomasse est exprimée par la densité numérique en cellules.

des Palourdes se distingue par une biomasse produite dix fois plus élevée que celle qui caractérise les eaux témoins "filtrées" ou "non filtrées". En juin, les tests réalisés conduisent à des réponses faibles et très peu différentes les unes des autres. En août, la fertilité des eaux de stabulation des Huitres reste inférieure à celle de l'eau témoin ; celle des eaux de stabulation des Palourdes apparaît soit équivalente (eau "filtrée") soit supérieure (eau "non filtrée") à celle du témoin. Enfin, en octobre, pour des raisons inexplicables, *Haslea ostrearia* ne se développe pas dans les eaux de stabulation des Mollusques "non filtrées". Dans les eaux "filtrées", la croissance des algues reste plus faible dans les eaux d'incubation des Mollusques.

Skeletonema costatum

Les tests de fertilité réalisés avec Skeletonema costatum (fig. 12) ont également donné des résultats variables d'une expérience à l'autre sans qu'une évolution saisonnière particulière puisse être remarquée. Par contre, on peut noter, de façon générale

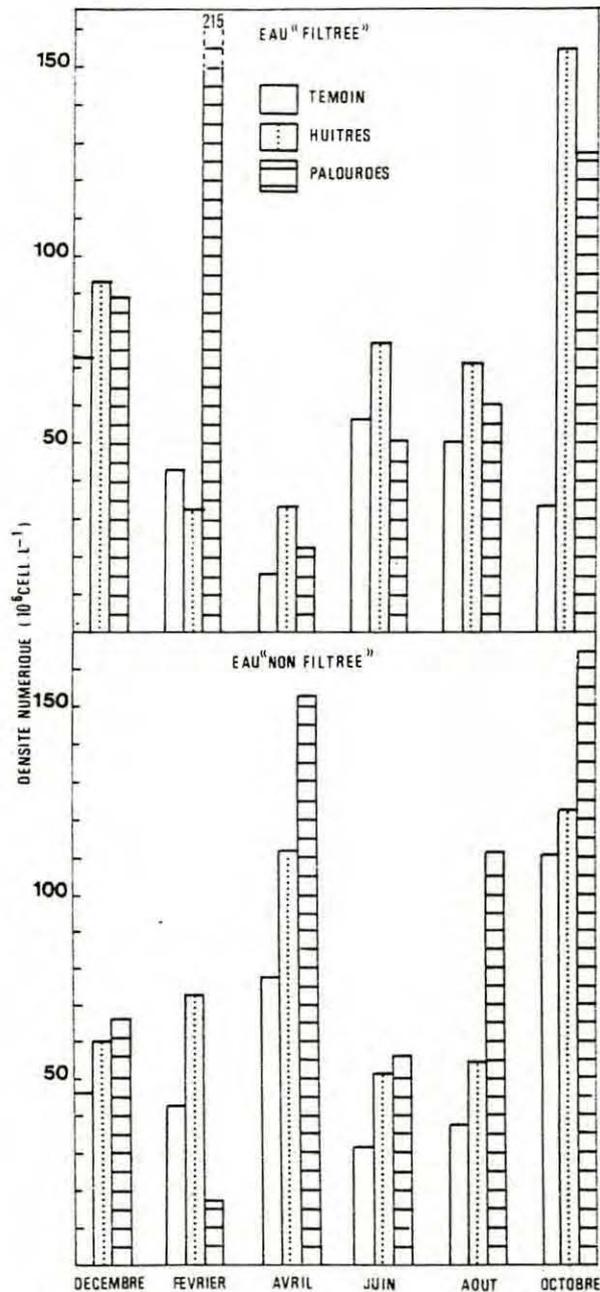


Fig. 12 - Biomasse maximale produite par l'algue-test Skeletonema costatum dans l'eau témoin puis après stabulation des Huitres et des Palourdes dans les eaux "filtrées" et "non filtrées" des expériences de décembre 1983 à octobre 1984 ; la biomasse est exprimée par la densité numérique en cellules.

que les eaux d'incubation des Mollusques sont presque toujours apparues plus fertiles que les eaux témoins : l'augmentation de la biomasse produite dans ces eaux par rapport au témoin est d'au moins 10 % dans l'eau "non filtrée" d'octobre ayant contenu des Huîtres et peut atteindre 500 % dans l'eau "filtrée" de février ayant contenu des Palourdes. Trois exceptions peuvent toutefois être observées : en février, en eau "filtrée" et en eau "non filtrée" ainsi qu'en juin, en eau "filtrée".

Phaeodactylum tricornutum

Les biomasses maximales produites par Phaeodactylum tricornutum dans les eaux expérimentales témoins évoluent au cours de l'année présentant un minimum en juin (fig. 13). Il est de plus à noter qu'en octobre, les eaux d'incubation des Mollusques sont exceptionnellement moins fertiles que les eaux témoins. En février en présence des Huîtres et en août en présence des Palourdes, la fertilité des eaux d'incubation reste identique à celle des eaux témoins. Dans les autres cas, les biomasses produites dans les eaux de stabulation des Bivalves atteignent des niveaux supérieurs à ceux notés dans les eaux de référence .

Malgré la grande variabilité qui caractérise les résultats présentés ici pour une année d'étude, il apparaît néanmoins qu'en présence des Huîtres ou des Palourdes, la fertilité potentielle des eaux est améliorée dans 62 % de l'ensemble des tests réalisés avec : 36,4 % pour H. ostrearia, 87,5 % pour S. costatum et 60 % pour P. tricornutum.

3.1.2 - Caractéristiques de croissance in vitro des trois algues-tests

Pour chaque algue-test, la durée de croissance maximale et le nombre total de divisions peuvent être évalués dans chaque type d'eau.

Haslea ostrearia

En eau "filtrée", les durées de croissance in vitro varient de 3 à 13 jours selon les expériences (Tabl. 14). Elles sont généralement plus longues dans les eaux de stabulation des Mollus-

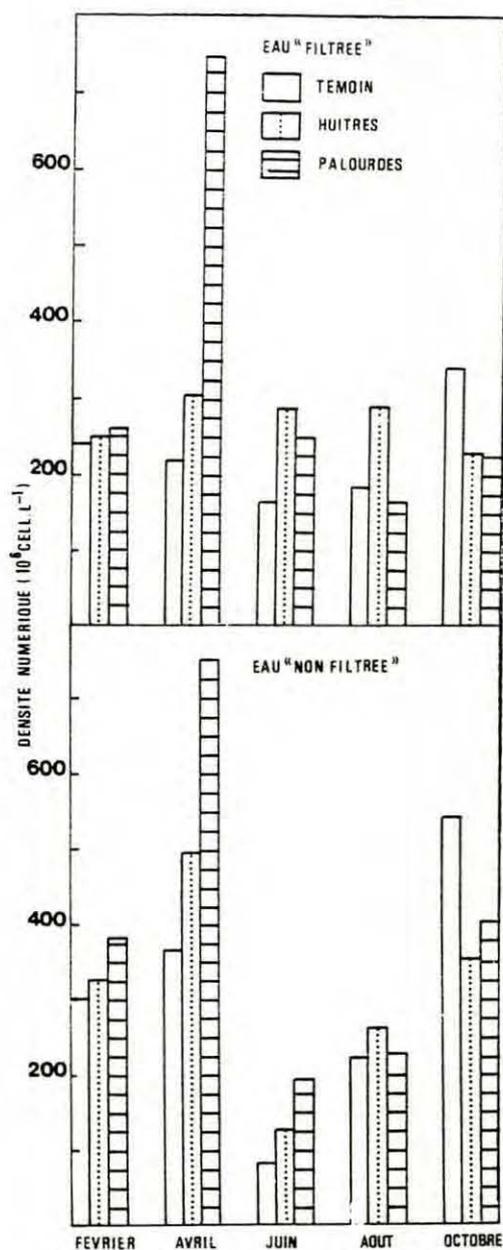


Fig. 13 - Biomasse maximale produite par l'algue-test *Phaeodactylum tricornutum* dans l'eau témoin puis après stabulation des Huitres et des Palourdes dans les eaux "filtrées" et "non filtrées" des expériences de décembre 1983 à octobre 1984 ; la biomasse est exprimée par la densité numérique en cellules.

ques que dans les eaux témoin excepté en février où elles sont égales, en août, uniquement par les eaux ayant contenu les Huitres, et en octobre, où elles sont inférieures.

Les nombres de divisions dans les cultures se situent dans des valeurs comprises entre 0,37 et 3,86 pour les eaux témoins, entre 0,48 et 3,54 pour les eaux ayant contenu les Huitres et entre 0,60 et 3,71 pour les eaux ayant contenu les Palourdes.

Ce paramètre reflète bien sûr ce qui a été observé lors de l'analyse des biomasses maximales produites par H. ostrearia : en décembre et en avril, les algues se sont multipliées davantage dans les eaux de stabulation des Huîtres et des Palourdes. Dans le cas des autres périodes d'étude, la multiplication des cellules dans les eaux d'incubation des Bivalves est soit équivalente, soit inférieure à celle observée dans les eaux témoins.

En eau "non filtrée", les durées de croissance varient entre 3 et 11 jours (Tabl. 13). Toutefois, contrairement à ce qui est observé en eau "filtrée", dans les eaux mises préalablement en contact avec les Mollusques, ces durées sont égales ou inférieures à celles observées dans les eaux témoins, excepté en avril.

Les nombres de divisions varient entre 0,52 et 3,45, entre 0,79 et 2,58 et entre 0,48 et 3,49 respectivement dans les aux témoins et celles de stabulation des Huîtres et des Palourdes. Ils sont supérieurs à ceux observés dans les eaux témoin en avril pour les Huîtres et les Palourdes et en décembre et août pour les Palourdes seulement.

Dates	<u>Haslea ostrearia</u>					
	DUREE DE CROISSANCE MAXIMALE (jours)			NOMBRE DE DIVISIONS		
	Témoin	Huîtres	Palourdes	Témoin	Huîtres	Palourdes
	EAU "FILTREE"					
décembre	4	9	6	3,12	3,35	3,64
février	3	3	3	0,75	0,67	0,67
avril	4	5	6	0,66	2,47	2,78
juin	3	5	5	0,37	0,48	0,60
août	12	11	13	3,63	3,11	3,69
octobre	12	11	11	3,86	3,54	3,71
	EAU "NON FILTREE"					
décembre	4	3	4	1,97	2,02	2,40
février	5	4	4	0,52	0,79	0,48
avril	5	6	8	0,89	2,11	3,34
juin	4	4	3	0,85	1,11	0,71
août	11	9	11	2,74	2,58	3,49
octobre	10	-	-	3,45	-	-

Tableau 13 - Caractéristiques de croissance *in vitro* de Haslea ostrearia dans les eaux "filtrées" et "non filtrées" issues des expériences de mesure d'excrétion des Huîtres et des Palourdes.

Skeletonema costatum

Les durées de croissance maximales observées en eau "filtrée" varient de 3 à 9 jours selon les cas et sont, excepté en décembre et en février, plus courtes dans les eaux d'incubation des Mollusques (Tabl. 14) bien que les biomasses produites soient plus importantes dans ces eaux.

Les valeurs des nombres de division sont globalement plus importantes pour Skeletonema costatum que pour Haslea ostrearia. En effet, elles se situent entre 2,03 et 3,95 dans les eaux témoins, entre 2,91 et 4,99 dans celles où les Huîtres ont été incubées et entre 2,50 et 5,45 dans celles où les Palourdes ont été incubées. On note une augmentation du nombre de divisions dans l'eau de stabulation des Mollusques excepté en février avec les Huîtres et en juin avec les Palourdes.

En eau "non filtrée", les durées de croissance maximale présentent des écarts de 3 à 8 jours. Elles sont identiques pour les trois types d'eau en juin, août et octobre. Pour les autres périodes d'étude, celles des eaux témoins sont selon

Dates	<u>Skeletonema costatum</u>					
	DUREE DE CROISSANCE MAXIMALE (jours)			NOMBRE DE DIVISIONS		
	Témoin	Huîtres	Palourdes	Témoin	Huîtres	Palourdes
EAU "FILTREE"						
décembre	3	6	4	3,95	4,28	4,23
février	8	8	8	3,25	2,91	5,45
avril	6	6	5	2,03	2,93	2,50
juin	9	8	6	3,61	4,03	3,47
août	4	3	3	3,45	3,92	3,70
octobre	4	3	3	2,93	4,99	4,73
EAU "NON FILTREE"						
décembre	5	4	4	3,36	3,70	3,83
février	7	6	8	3,25	3,95	2,15
avril	6	5	6	4,03	4,55	4,98
juin	8	8	8	2,87	3,50	3,61
août	3	3	3	3,07	3,56	4,53
octobre	3	3	3	4,52	4,66	5,07

Tableau 14 - Caractéristiques de croissance *in vitro* de Skeletonema costatum dans les eaux "filtrées" et "non filtrées" issues des expériences de mesure d'excrétion des Huîtres et des Palourdes.

les cas supérieures, ou inférieures et égales à celles des eaux de stabulation (Tabl. 14).

Les valeurs des nombres de divisions varient de 2,87 à 4,52 dans les eaux de référence et respectivement de 3,50 à 4,66 et de 2,15 à 5,07 dans les eaux de stabulation des Huîtres et des Palourdes. Les cellules de S. costatum se sont toujours davantage multipliées dans les eaux de stabulation, excepté en février en présence de Palourdes.

Phaeodactylum tricornutum

En eau "filtrée", les durées de croissance maximale de P. tricornutum, de 7 à 13 jours, sont plus longues que pour les deux autres espèces et sont généralement plus faibles dans les eaux témoins (tabl. 15).

Les nombres de divisions présentent des valeurs groupées: de 5,08 à 6,11 dans les eaux témoins, de 5,56 à 5,94 dans les eaux d'incubation des Huîtres et de 5,08 à 7,22 dans celles

Dates	<u>Phaeodactylum tricornutum</u>					
	DUREE DE CROISSANCE MAXIMALE (jours)			NOMBRE DE DIVISIONS		
	Témoin	Huîtres	Palourdes	Témoin	Huîtres	Palourdes
EAU "FILTREE"						
février	9	9	11	5,62	5,66	5,74
avril	6	9	13	5,48	5,94	7,22
juin	11	8	8	5,08	5,85	5,67
août	7	12	13	5,25	5,89	5,08
octobre	9	10	10	6,11	5,56	5,52
EAU "NON FILTREE"						
février	8	8	10	5,94	6,04	6,27
avril	9	11	9	6,21	6,64	7,24
juin	7	7	7	4,70	5,29	6,22
août	9	10	10	5,50	5,73	5,52
octobre	11	11	11	6,76	6,15	6,34

Tableau 15 - Caractéristiques de croissance *in vitro* de Phaeodactylum tricornutum dans les eaux "filtrées" et "non filtrées" issues des expériences de mesure d'excrétion des Huîtres et des Palourdes.

des Palourdes et sont également plus importants que pour les deux autres espèces. En dehors des tests de fertilité réalisés avec les eaux des Palourdes en août et celles des deux Bivalves en octobre, les cellules algales se sont moins divisées dans les eaux témoins.

En eau "non filtrée", les croissances maximales sont obtenues après 7 à 11 jours selon les tests. Les durées requises dans les eaux de stabulation des Mollusques sont équivalentes à celles des témoins en juin et en octobre. Dans les autres cas, elles sont soit supérieures ou égales, soit strictement supérieures.

Les cellules se sont divisées de 4,70 à 6,76 fois dans les eaux témoins, de 5,29 à 6,64 fois dans les eaux d'incubation des Huîtres et de 5,52 à 7,24 fois dans celles des Palourdes. Les eaux de référence permettent toujours un moins grand nombre de divisions cellulaires, excepté en octobre.

L'étude des caractéristiques de croissance in vitro des trois algues-tests tend à montrer une grande variabilité des réponses des espèces algales vis-à-vis des trois types d'eau si on compare l'ensemble des expérimentations. Ainsi, il apparaît difficile d'établir globalement un sens d'évolution des deux paramètres retenus en fonction de la nature "filtrée" ou "non filtrée" de l'eau d'incubation et aussi de la nature du Mollusque incubé. Toutefois, on observera que les résultats relatifs à Skeletonema costatum sont plus révélateurs des phénomènes d'enrichissement en éléments nutritifs dans les eaux d'incubation des Mollusques : la durée de croissance de l'algue est le plus souvent égale ou inférieure à celle notée dans l'eau de référence; les nombres de divisions qui caractérisent les eaux d'incubation des Mollusques sont généralement plus élevés que ceux observés dans les témoins. En conséquence, les taux journaliers de division de l'espèce-test calculés dans l'eau d'incubation des Mollusques sont globalement supérieurs à ceux qui caractérisent les eaux de référence (tabl. 16).

Dates	TAUX JOURNALIER DE DIVISION					
	EAU "FILTREE"			EAU "NON FILTREE"		
	Témoïn	Huîtres	Palourdes	Témoïn	Huîtres	Palourdes
décembre	1,31	0,71*	1,05*	0,66	0,91	0,95
février	0,40	0,36*	0,67	0,46	0,65	0,26*
avril	0,33	0,45	0,49	0,66	0,90	0,82
juin	0,39	0,50	0,57	0,35	0,43	0,45
août	0,85	1,30	1,22	1,01	1,18	1,50
octobre	0,72	1,65	1,56	1,49	1,54	1,68

Tableau 16 - Taux journalier de division de *Skeletonema costatum* cultivé *in vitro* dans les eaux "filtrées" et "non filtrées" provenant des expériences de mesure d'excrétion des Huîtres et des Palourdes ; * Taux inférieur au taux de division observé dans l'eau de référence.

3.2 - DISCUSSION

3.2.1 - Fertilité des eaux avant et après incubation des Mollusques

Les biomasses maximales produites *in vitro* par chacune des trois algues-tests sur les eaux témoins varient d'une période d'étude à une autre. Les différentes réponses obtenues pourraient être reliées aux teneurs initiales en sels nutritifs de ces eaux, mais aucune relation a pu être mise en évidence de manière significative entre richesse nutritive initiale et biomasse produite. De même, il apparaît difficile d'extraire des résultats obtenus une évolution saisonnière particulière de la fertilité potentielle de ces eaux témoins tout au moins pour *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornutum*. Par contre pour *Haslea ostrearia*, on note une croissance maximale de la fin de l'été au début de l'hiver. Une telle amélioration de la fertilité potentielle en période automnale a déjà été mise en évidence par ROBERT (1983) et MARION (1985) dans diverses eaux ostréicoles, avec cette même souche algale (fig. 14).

La variabilité observée entre les résultats obtenus pour chacune des expériences réalisées au cours de l'année d'étude peut être un handicap dans les comparaisons de moyennes du fait

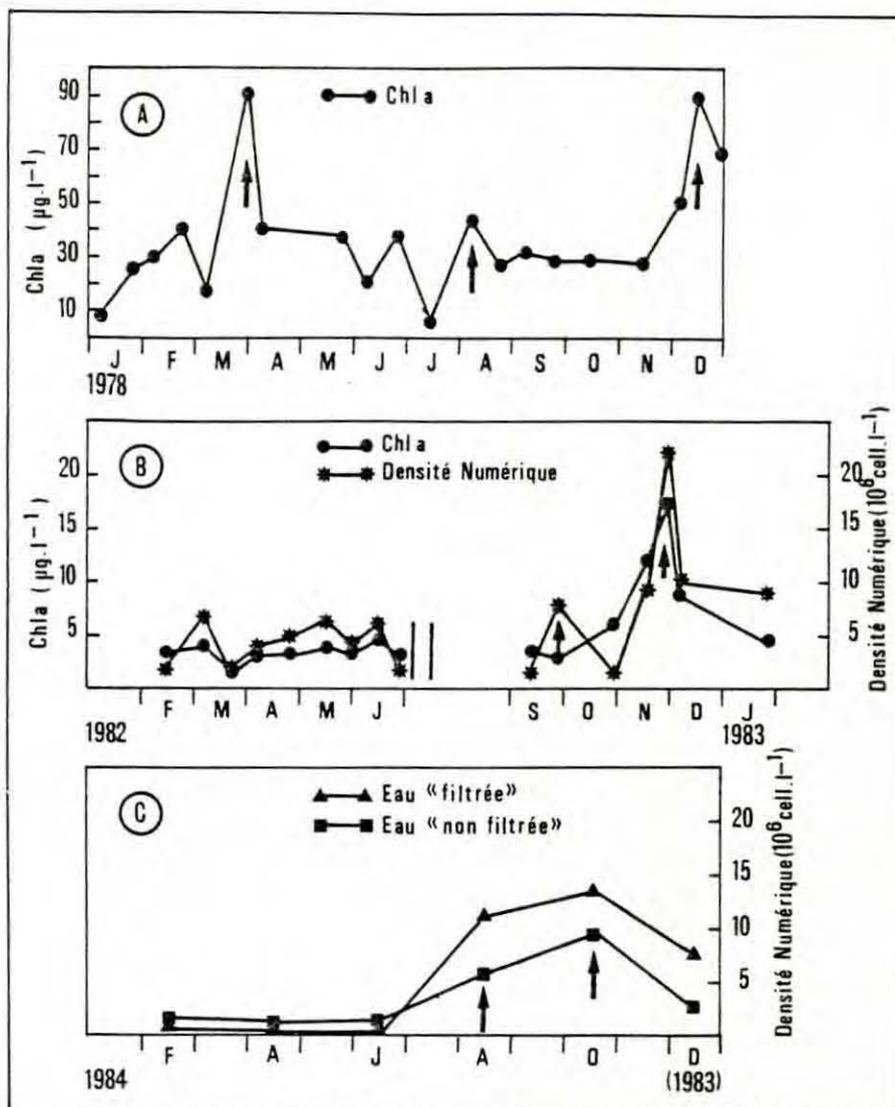


Fig. 14 - Variations annuelles de la biomasse en *Haslea ostrearia*, exprimée soit par la teneur en chlorophylle a (chl a), soit par la densité numérique en cellules, et obtenue in vitro après incubation de l'algue dans les eaux d'alimentation des claires d'un polder ostréicole (A; d'après ROBERT, 1983), dans les eaux baignant les parcs ostréicoles de la baie de Bourgneuf (B ; d'après MARION, 1985) et dans les eaux témoins "filtrées" et "non filtrées" des expériences d'excrétion des Huîtres et des Palourdes (C).

de la grande dispersion des valeurs . Néanmoins, lorsque pour chaque expérience, les résultats obtenus dans les eaux témoins et les eaux d'incubation des Mollusques sont comparés, il est possible de montrer qu'une eau de mer dans laquelle des Huîtres et des Palourdes ont séjourné produit généralement une biomasse algale potentielle plus importante qu'une eau témoin

n'ayant pas été mise en contact avec les Mollusques. Cela rejoint les observations faites par HAINES en 1975 sur la Rhodophycée Hypnea musciformis lorsqu'il compara la croissance de l'algue dans une eau de surface, une eau de profondeur et une eau provenant d'un bassin à Palourdes. D'autre part, c'est une confirmation des expériences préliminaires de même type réalisées avec Haslea ostrearia sur des eaux de stabulation de quatre Mollusques Bivalves, où il était observé que les eaux d'incubation pouvaient produire, selon l'animal immergé, 5 à 17 fois plus de biomasse que l'eau témoin (ROBERT 1983). Nous montrons, de plus, l'importance de l'espèce algale puisque le phénomène n'a pas été observé avec la même fréquence pour les trois Diatomées : dans plus de 87 % des cas avec S. costatum, 60 % avec P. tricornutum et seulement 36,4 % avec H. ostrearia. S. costatum apparaît donc bien adapté aux milieux conchylicoles. MARION en 1985 a d'ailleurs évalué une croissance très active de cette espèce dans les eaux surnageant les parcs ostréicoles et alimentant les claires de la Baie de Bourgneuf. De plus, de par ses caractéristiques de croissance in vitro, cette Diatomée se révèle une algue-test tout à fait adaptée aux expérimentations visant à comparer les fertilités potentielles respectives d'eaux de mer de différente qualité.

3.2.2 - Rendement d'utilisation des produits d'excrétion des Mollusques par les trois algues-tests

Lorsque la biomasse produite dans les eaux de stabulation des Mollusques est supérieure à celle observée dans le témoin, la différence enregistrée peut être rapportée à la quantité d'azote ou de phosphore, minéraux et organiques dissous, excédentaire et apportée par l'excrétion des Mollusques. Ce calcul, inspiré de celui de "l'indice de fertilité" défini par MAESTRINI et ROBERT en 1979, permet d'estimer la quantité de cellules algales pouvant être produite par μM d'azote ou de phosphore excrétée par les Mollusques.

Haslea ostrearia

Les rendements d'utilisation de l'azote excrété par les Huîtres varient de 0,02 à $1,33 \cdot 10^6$ cell. μM^{-1} sur l'ensemble des expériences réalisées en eaux "filtrée" et "non filtrée"

Dates	<u>Haslea ostrearia</u>			
	Eau "filtrée"		Eau "non filtrée"	
	Huitres	Palourdes	Huitres	Palourdes
	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$
	Azote			
décembre	0,94	1,53	0,04	0,41
février	-	-	0,17	-
avril	1,33	1,18	0,98	0,51
juin	0,02	0,03	0,07	-
août	-	0,11	-	1,72
octobre	-	-	-	-
	Phosphore			
décembre	36,75	29,00	-	19,50
février	-	-	1,42	-
avril	12,03	44,11	-	138,50
juin	0,28	0,78	1,89	-
août	-	5,20	-	12,91
octobre	-	-	-	-

Tableau 17 - Biomasses produites par μM d'azote et de phosphore excrétés par les Huitres et les Palourdes, par l'algue-test Haslea ostrearia entre décembre 1983 et octobre 1984 ; les biomasses sont exprimées en densités numériques en cellules.

(tabl. 18). En ce qui concerne l'azote excrété par les Palourdes, les valeurs, de $0,03$ à $1,72 \cdot 10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$, sont également très variables.

L'excrétion de phosphore par les Mollusques permet une production de biomasse de $0,28$ à $36,75 \cdot 10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$ pour les Huitres et de $0,78$ à $138,5 \cdot 10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$ pour les Palourdes (tabl. 17).

Skeletonema costatum

Les valeurs des rendements d'utilisation de l'azote excrété s'échelonnent entre $3,02$ et $17,96 \cdot 10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$ pour les Huitres et entre $1,74$ et $73,91 \cdot 10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$ pour les Palourdes (tabl.18).

Celles des rendements d'utilisation du phosphore excrété varient entre $18,75$ et $500 \cdot 10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$ pour Crassostrea et entre $64,13$ et $1277,83 \cdot 10^6 \mu\text{M}^{-1}$ pour Ruditapes.

Dates	<u>Skeletonema costatum</u>			
	Eau "filtrée"		Eau "non filtrée"	
	Huîtres	Palourdes	Huîtres	Palourdes
	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$
	Azote			
décembre	12,32	6,54	3,96	5,98
février	-	73,91	17,96	-
avril	5,98	1,74	14,28	4,71
juin	3,29	-	4,08	1,29
août	6,52	2,25	5,08	28,13
octobre	17,32	20,39	3,02	7,80
	Phosphore			
décembre	500,00	123,92	-	285,71
février	-	615,10	142,85	-
avril	53,87	64,13	-	1 277,83
juin	58,71	-	105,26	128,68
août	140,00	100,00	56,66	211,42
octobre	275,25	248,52	18,75	91,52

Tableau 18 - Biomasses produites par μM d'azote et de phosphore excrétés par les Huîtres et les Palourdes, par l'algue-test Skeletonema costatum entre décembre 1983 et octobre 1984 ; les biomasses sont exprimées en densités numériques en cellules.

Phaeodactylum tricornutum

Les rendements d'utilisation de l'azote excrété par les Huîtres et les Palourdes présentent respectivement des valeurs allant de 3,14 à 52,2 $10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$ et de 1,26 à 117,84 $10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$ (tabl. 19).

En ce qui concerne le phosphore, l'excrétion des Huîtres permet une production de 103,19 à 703,66 $10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$, celle des Palourdes permet une production de 9,54 à 6443,30 $10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$.

Les rendements d'utilisation de l'azote et du phosphore excrétés par les algues-tests sont donc très variables d'une expérience à une autre quelle que soit l'espèce algale considérée.

Les valeurs observées pour chaque type de Mollusque sont comparées par le test non paramétrique de MANN-WHITNEY et n'apparaissent pas significativement différentes entre elles au seuil de 5 %.

Dates	<u>Phaeodactylum tricornutum</u>			
	Eau "filtrée"		Eau "non filtrée"	
	Huîtres	Palourdes	Huîtres	Palourdes
	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	$10^6 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$
	Azote			
février	3,14	9,30	12,63	5,06
avril	28,44	117,84	52,20	23,79
juin	19,21	12,42	8,86	5,82
août	32,77	-	11,97	1,26
octobre	-	-	-	-
	Phosphore			
février	194,50	77,39	103,19	333,04
avril	264,00	438,00	-	6 443,33
juin	363,30	303,57	447,36	578,94
août	703,66	-	-	9,54
octobre	-	-	-	-

Tableau 19 - Biomasses produites par μM d'azote et de phosphore excrétés par les Huîtres et les Palourdes, par l'algue test. Phaeodactylum tricornutum ; les biomasses sont exprimées en densités numériques en cellules.

Les deux types de conditions expérimentales d'incubation des Mollusques en eau "filtrée" ou en eau "non filtrée" peuvent être distinguées. Quelle que soit l'algue-test, les moyennes des valeurs des rendements d'utilisation de l'azote semblent plus élevées en eau "filtrée" qu'en eau "non filtrée", contrairement à ce qui est observé pour le phosphore (tabl. 20). Toutefois la comparaison des valeurs obtenues pour les deux éléments dans les deux conditions expérimentales par le test non paramétrique de MANN-WHITNEY montre qu'elles ne présentent pas de différence significative au seuil de 5 %.

Les moyennes des valeurs enregistrées pour chaque espèce algale sont regroupées dans le tableau 21. Les biomasses produites par H. ostrearia par μM d'azote ou de phosphore excrétées par les Mollusques sont inférieures à celles produites par les deux autres espèces, la différence étant significative au seuil de 5 %. Par contre, les réponses de S. costatum et de P. tricornutum vis-à-vis de l'enrichissement en azote et phosphore n'apparaissent pas différentes entre elles quel que soit l'élément considéré. Ce qui signifie que H. ostrearia a besoin pour croître de plus d'azote et de phosphore que les deux autres Diatomées.

<u>Haslea ostrearia</u>				
	<u>Eau "filtrée"</u>		<u>Eau "non filtrée"</u>	
	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)
10^6 cell/ μ M N excrété	0,74	(0,66)	0,56	(0,60)
10^6 cell/ μ M P excrété	18,31	(18,09)	34,84	(58,44)

<u>Skeletonema costatum</u>				
	<u>Eau "filtrée"</u>		<u>Eau "non filtrée"</u>	
	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)
10^6 cell/ μ M N excrété	15,08	(21,62)	8,76	(8,14)
10^6 cell/ μ M P excrété	217,95	(196,15)	257,63	(390,80)

<u>Phaeodactylum tricornutum</u>				
	<u>Eau "filtrée"</u>		<u>Eau "non filtrée"</u>	
	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)
10^6 cell/ μ M N excrété	31,88	(39,32)	15,20	(16,41)
10^6 cell/ μ M P excrété	334,92	(199,77)	1 319,23	(2 519,17)

Tableau 20 - Moyennes des biomasses produites par μ M d'azote et de phosphore excrétés par les Mollusques en eaux "filtrées" ou "non filtrées", par les trois algues-tests Haslea ostrearia, Skeletonema costatum et Phaeodactylum tricornutum ; les biomasses sont exprimées en densités numériques en cellules.

	<u>Haslea ostrearia</u>		<u>Skeletonema costatum</u>		<u>Phaeodactylum tricornutum</u>	
	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)
10^6 cell/ μ M N excrété	0,65	(0,62)	11,77	(15,94)	22,98	(29,52)
10^6 cell/ μ M P excrété	25,20	(36,64)	236,74	(295,85)	789,22	(1 710,28)

Tableau 21 - Moyennes des biomasses produites par μ M d'azote et de phosphore excrétés par les Mollusques par les algues-tests ; les biomasses sont exprimées en densités numériques en cellules.

MAESTRINI et ROBERT en 1981 ont calculé l'indice de fertilité pour l'azote et le phosphore minéraux d'eaux de claires et d'eaux d'alimentation de ces claires. En ce qui concerne l'azote, les indices sont plus élevés pour les eaux des bassins que pour les eaux du canal d'alimentation. Les auteurs ont alors suggéré que l'amélioration du rendement d'utilisation de l'azote minéral pouvait être due à une assimilation par les algues de la forme organique de cet élément, présente en grande quantité dans le milieu et liée à la présence des Huîtres. En effet, si nous calculons les différences entre les valeurs des indices caractérisant les eaux du canal et des claires à partir du travail des deux auteurs, on note curieusement qu'elles ne sont que très légèrement supérieures aux valeurs des rendements d'utilisation que nous avons évalués à partir de l'azote excrété par les Mollusques avec les mêmes souches d'algues-tests (tabl. 22). Les valeurs

	<i>Haslea ostrearia</i>		<i>Skeletonema costatum</i>		<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	
	$10^4 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$		$10^4 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$		$10^4 \text{ cell.}\mu\text{M}^{-1}$	
	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)
Canal	67	(39)	940	(710)	2 140	(1 190)
Claire 1	171	(107)	2 300	(1 920)	6 700	(5 200)
Claire 2	173	(108)	2 700	(2 500)	7 900	(5 800)
Claire 3	145	(73)	1 900	(1 800)	5 300	(3 400)
Biomasse/ $\mu\text{M.N}$ excrété	65	(62)	1 177	(1 594)	2 298	(2 952)

Tableau 22 - Moyennes des biomasses produites par μM d'azote minéral par les trois algues-tests *Haslea ostrearia*, *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornutum* cultivées *in vitro* sur les eaux des claires récoltées en janvier 1977 à mars 1978 (d'après MAESTRINI et ROBERT, 1981) et moyennes des biomasses produites par les trois algues-tests par μM d'azote minéral et organique excrété par les Mollusques.

acquises expérimentalement dans ce travail confortent donc l'argumentation de ces auteurs d'autant plus qu'elles ne représentent qu'un indice minimum. En effet, nous considérons d'une part la réserve azotée excrétée dans son ensemble sans pouvoir distinguer ce qui peut être attribué au minéral de ce qui revient à l'organique, pour la production de biomasse ; nous estimons d'autre part, que l'azote excrété est entièrement consommé, ce qui n'est peut être pas le cas puisque des éléments limitant la production algale peuvent intervenir.

4 - IMPACT DE L'EXCRÉTION DES MOLLUSQUES SUR L'ORDRE DE LIMITATION DES ÉLÉMENTS BIOGÈNES CONTRÔLANT LA PRODUCTION DE BIOMASSE

Des tests d'enrichissements différentiels ont été réalisés sur les eaux des expériences de décembre 1983 et d'avril 1984. Pour ces deux mois, les eaux de stabulation des Mollusques sont apparues plus fertiles que les témoins et ceci quelle que soit l'algue-test utilisée. Il apparaissait intéressant de vérifier si les Mollusques pouvaient améliorer la fertilité par l'apport d'un ou plusieurs éléments limitants. Une comparaison des séquences des facteurs limitants pour chaque type d'eau s'imposait donc.

Les résultats obtenus pour chaque série de tests sont représentés sur les figures 15 à 19 : les croissances relatives à chaque enrichissement sont exprimées en pourcentage de celle observée avec l'enrichissement complet.

4.1 - ENRICHISSEMENTS DIFFÉRENTIELS DES EAUX DE L'EXPERIENCE DE DECEMBRE 1983

4.1.1 - Teneurs initiales en sels nutritifs

Quelle que soit la nature "filtrée" ou "non filtrée" de l'eau de stabulation, les teneurs en nitrates, nitrites et silicates sont équivalentes dans les eaux témoins et celles ayant contenu les Mollusques (Tabl. 23). Les concentrations en ammoniacque sont plus élevées dans les eaux de stabulation des Mollusques de même que celles en phosphates dans les eaux d'incubation des Palourdes. Les variations des teneurs en ces deux composés sont bien sûr liées à l'excrétion des Bivalves.

Les concentrations en azote minéral total sont de l'ordre de 11,5 $\mu\text{M.l}^{-1}$ en eau "filtrée" et de 5,7 $\mu\text{M.l}^{-1}$ en eau "non filtrée". La différence provient essentiellement des plus faibles teneurs en nitrates observées en eau "non filtrée". Les eaux "non filtrées" apparaissent également environ deux fois moins riches en Silicium que les eaux "filtrées". Par contre, les teneurs en phosphore sont équivalentes dans les deux types d'eau.

Si l'on se réfère au rapport N/Si/P = 16/16/1 défini par REDFIELD et al. en 1965, l'azote apparaît légèrement déficitaire

	décembre					
	Eau "filtrée"			Eau "non filtrée"		
	Témoin $\mu\text{M.l}^{-1}$	Huîtres $\mu\text{M.l}^{-1}$	Palourdes $\mu\text{M.l}^{-1}$	Témoin $\mu\text{M.l}^{-1}$	Huîtres $\mu\text{M.l}^{-1}$	Palourdes $\mu\text{M.l}^{-1}$
N-NH ₄	0,92	1,10	2,40	1,17	1,59	2,79
N-NO ₃	9,50	9,64	9,96	3,81	3,81	3,25
N-NO ₂	0,29	0,36	0,38	0,23	0,23	0,20
Σ N	10,71	11,10	12,74	5,21	5,63	6,24
P-PO ₄	0,40	0,44	0,53	0,36	0,36	0,43
Si-SiO ₃	12,23	12,51	12,98	6,89	6,73	5,95
Σ N/P	26,77	25,22	24,03	14,47	15,63	14,51
Σ N/Si	0,87	0,88	0,95	0,75	0,83	1,04

Tableau 23 - Teneurs en sels nutritifs et rapports Σ N/P et Σ N/Si des eaux provenant des expériences de mesure de l'excrétion des Huîtres et des Palourdes, réalisées en décembre 1983 ; Σ N = N - NH₄ + NO₂ + NO₃.

par rapport au silicium dans l'ensemble des eaux excepté celles ayant contenu les Palourdes ; le phosphore apparaît déficitaire par rapport à l'azote dans les eaux "filtrées".

4.1.2 - Croissance de Haslea ostrearia en présence des différents enrichissements

Eau "filtrée"

Dans l'eau "filtrée" n'ayant pas contenu de Mollusques, la croissance observée dans l'enrichissement complet moins les vitamines (T-Vit) ne dépasse pas celle du témoin non enrichi (R) : 60 % de la croissance de l'enrichissement complet (fig.15). L'ensemble des vitamines apparaît donc être le premier facteur limitant. Le phosphore peut être considéré comme le deuxième facteur limitant : son omission dans l'enrichissement entraîne une croissance moins forte (70 % par rapport à l'enrichissement total) ; par contre, l'addition de phosphates seuls ne provoque pas une augmentation de biomasse par rapport au témoin non enrichi.

Dans l'eau de stabulation des Huîtres, les vitamines y limitent toujours la croissance algale mais les éléments EDTA et silicium apparaissent plus limitants qu'ils ne le sont dans l'eau témoin. Par contre le phosphore semble moins intervenir dans la limitation de production de biomasse.

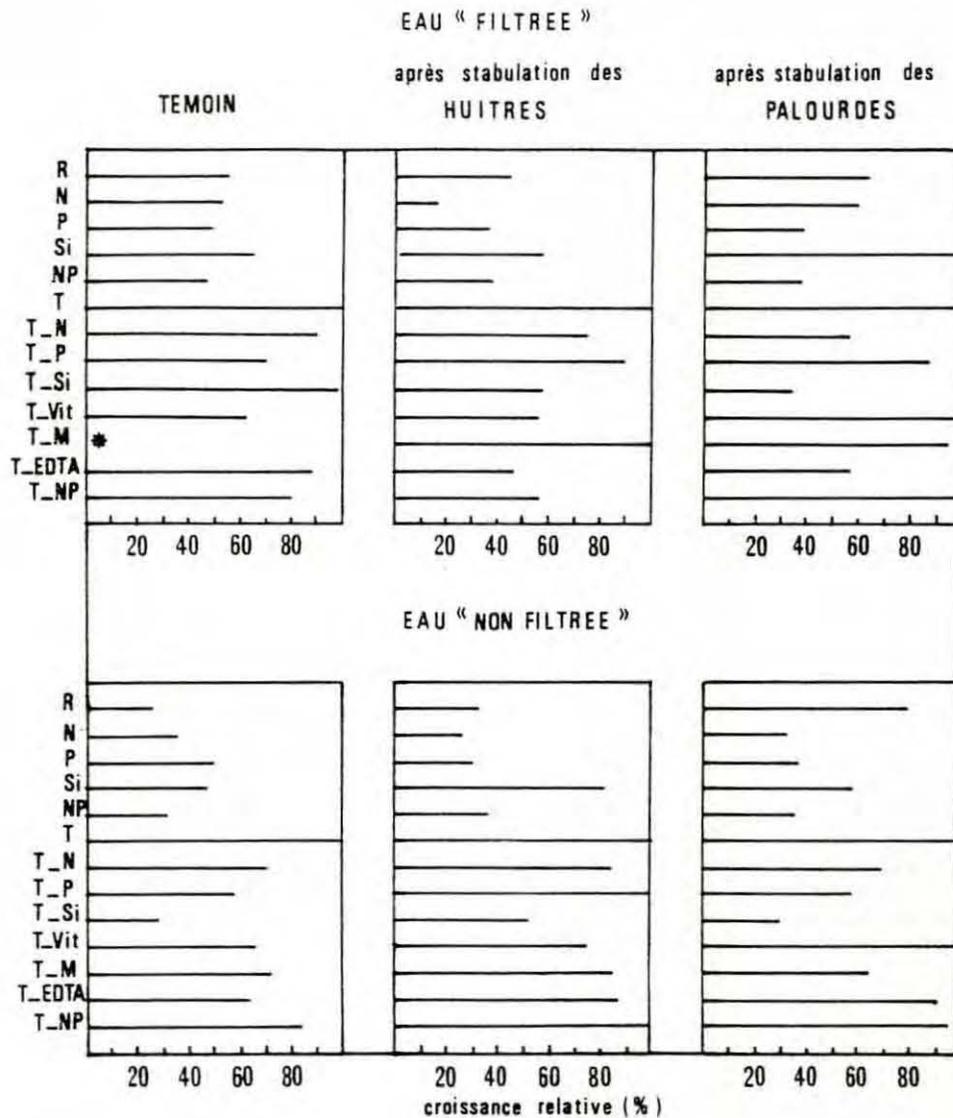


Fig. 15 - Croissances relatives données en nombre de cellules produites, exprimées en pourcentage de la croissance obtenue avec l'enrichissement complet (T), avec l'algue-test *Haslea ostrearia* dans les eaux de décembre 1983 ; * = culture détériorée.

Après l'excrétion des Palourdes, les vitamines ne limitent plus la production algale. Le principal élément limitant serait le silicium. En effet, l'enrichissement complet moins cet élément (T-Si) permet une croissance algale de 35 % seulement par rapport à l'enrichissement total. Ce résultat se trouve d'ailleurs confirmé lorsque seul le silicium est ajouté à l'eau puisque la production de biomasse est alors nettement améliorée par rapport au témoin non enrichi. L'azote et l'EDTA apparaîtraient tous deux en second dans l'ordre des facteurs limitants.

Eau "non filtrée"

Dans l'eau "non filtrée", le premier facteur limitant, le silicium, le reste dans les eaux de stabulation des Mollusques. Pour les éléments phosphore et azote qui apparaissent aux deuxième et troisième rangs de limitation, aucun changement ne s'observe dans l'eau de stabulation des Palourdes. Par contre, après séjour des Huîtres, ces deux éléments ne sont plus limitants. Les vitamines ne limitent plus la croissance algale dans l'eau ayant contenu les Palourdes alors qu'elles étaient limitantes dans l'eau témoin.

4.1.3 - Croissance de Skeletonema costatum en présence des différents enrichissements

Eau "filtrée"

Dans l'eau "filtrée" du bac témoin, plusieurs éléments apparaissent limitants : le phosphore, le silicium, les vitamines, l'EDTA et les métaux (fig. 16). Après stabulation des Huîtres ces éléments ne contrôlent plus la production de biomasse, par contre l'azote devient limitant. Dans l'eau ayant contenu les Palourdes, tous les éléments étudiés limitent dans les mêmes proportions la production algale.

Eau "non filtrée"

Dans l'eau "non filtrée", tous les éléments apparaissent limitants dans l'eau témoin et le demeurent dans l'eau ayant contenu les Huîtres. Par contre, dans l'eau de stabulation des Palourdes, l'azote, le phosphore et les vitamines sont moins limitants. Le silicium devient le principal facteur contrôlant la croissance du Skeletonema costatum.

Ainsi tous les éléments étudiés interviennent plus ou moins dans la limitation de croissance des algues au cours des différents tests d'enrichissements différentiels des eaux de décembre 1983. Les principaux facteurs limitants relevés dans les eaux des bacs témoins sont les vitamines, le phosphore, le silicium et l'azote. Les vitamines, après stabulation des Palourdes, et le phosphore, après séjour des Huîtres, n'apparaissent plus déterminants dans la production des algues-tests ce qui laisserait supposer l'apport de ces nutriments par les Mollusques. L'azote, et surtout le silicium, deviennent quant à eux plus limitants après stabulation des Bivalves.

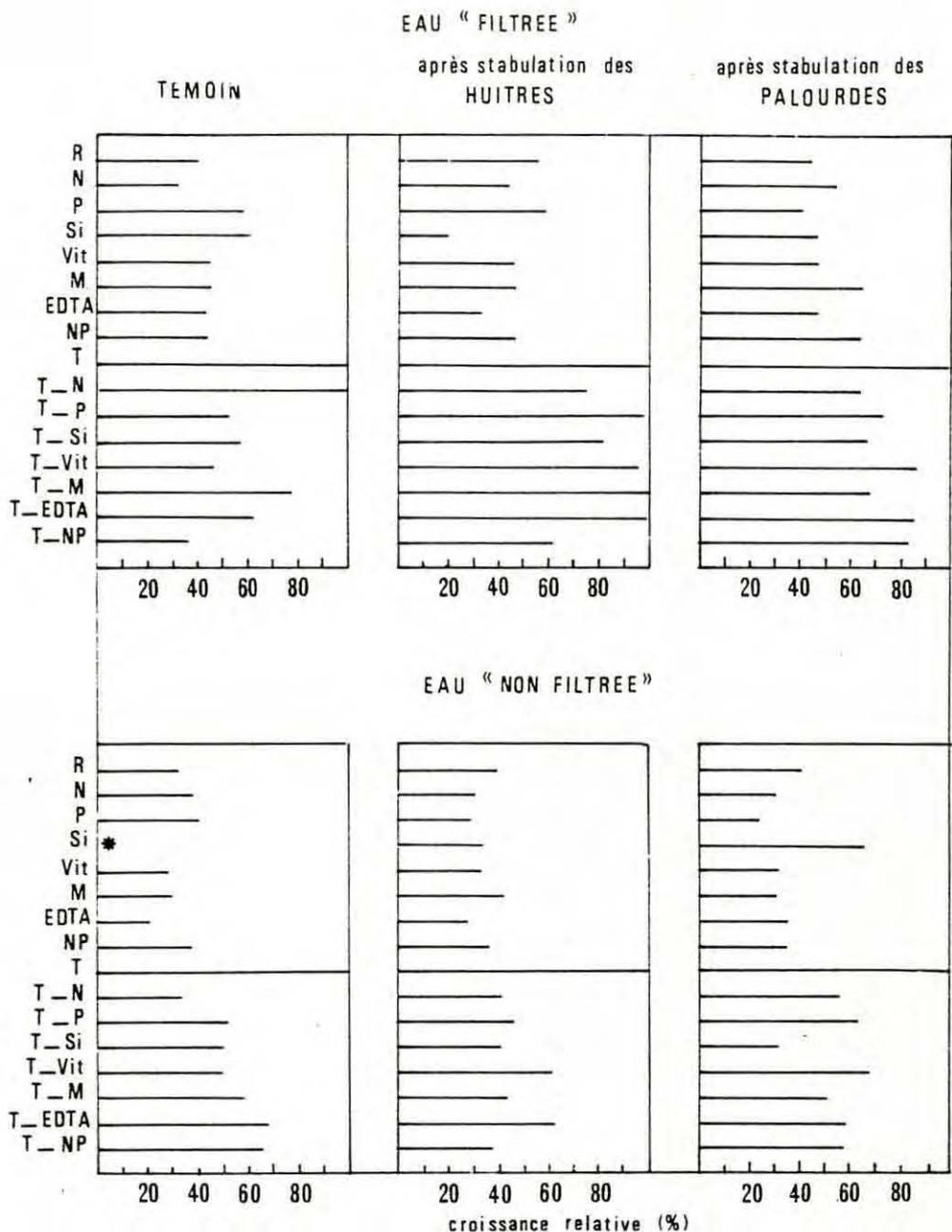


Fig. 16 - Croissances relatives données en nombre de cellules produites, exprimées en pourcentage de la croissance obtenue avec l'enrichissement complet (T), avec l'algue-test *Skeletonema costatum* dans les eaux de décembre 1983 ; * = culture détériorée.

4.2 - ENRICHISSEMENTS DIFFERENTIELS DES EAUX DE L'EXPERIENCE D'AVRIL 1984

4.2.1 - Teneurs initiales en sels nutritifs

En eau "filtrée", les eaux de stabulation des Mollusques sont plus riches en ammoniacque et en phosphates que les eaux

témoins (tabl. 24). Les teneurs des autres composés, nitrates, nitrites et silicates sont équivalentes entre elles dans les trois eaux. En eau "non filtrée", les Mollusques ont excrété de l'ammoniaque mais pas de phosphates. Les concentrations des autres composés sont similaires dans l'eau témoin et l'eau de stabulation des Huîtres ; par contre, l'eau ayant contenu les Palourdes présente des concentrations en nitrates plus élevées et en silicates plus faibles que les deux autres.

Les eaux "filtrées" sont moins riches en azote, phosphore et silicium que les eaux "non filtrées". Si l'on se réfère aux rapports de REDFIELDS, les premières semblent déficientes en phosphore par rapport à l'azote et déficientes en azote par rapport au silicium. Les secondes sont déficientes en phosphore par rapport à l'azote. Par contre, les eaux témoin et de stabulation des Huîtres semblent équilibrées en azote et silicium. Les eaux où les Palourdes ont séjourné sont déficientes en silicium par rapport à l'azote.

	avril					
	Eau "filtrée"			Eau "non filtrée"		
	Témoin $\mu\text{M.l}^{-1}$	Huîtres $\mu\text{M.l}^{-1}$	Palourdes $\mu\text{M.l}^{-1}$	Témoin $\mu\text{M.l}^{-1}$	Huîtres $\mu\text{M.l}^{-1}$	Palourdes $\mu\text{M.l}^{-1}$
N-NH ₄	2,07	4,94	3,90	3,76	5,36	4,61
N-NO ₃	11,02	11,48	11,43	23,04	22,52	25,89
N-NO ₂	0,23	0,32	0,23	0,48	0,48	0,40
Σ N	13,32	16,74	15,56	27,28	28,36	30,90
P-PO ₄	0,14	0,47	0,26	1,06	1,06	0,92
Si-SiO ₃	6,45	5,74	6,16	24,94	24,38	19,00
Σ N/P	95,14	35,61	59,84	25,73	26,75	33,58
Σ N/Si	2,06	2,91	2,52	1,09	1,16	1,62

Tableau 24 - Teneurs en sels nutritifs et rapports Σ N/P et Σ N/Si des eaux provenant des expériences de mesure de l'excrétion des Huîtres et des Palourdes, réalisées en avril 1984 ; Σ N = N - NH₄ + NO₂ + NO₃.

4.2.2 - Croissance de Haslea ostrearia en présence des différents enrichissements

Eau "filtrée"

L'eau "filtrée" du bac témoin se caractérise par l'absence d'un facteur limitant essentiel mais plutôt par deux groupes d'éléments d'égale importance : l'azote, le silicium et les métaux en première position dans l'ordre de limitation, l'EDTA et le phosphore en deuxième position (fig. 17). Après stabulation

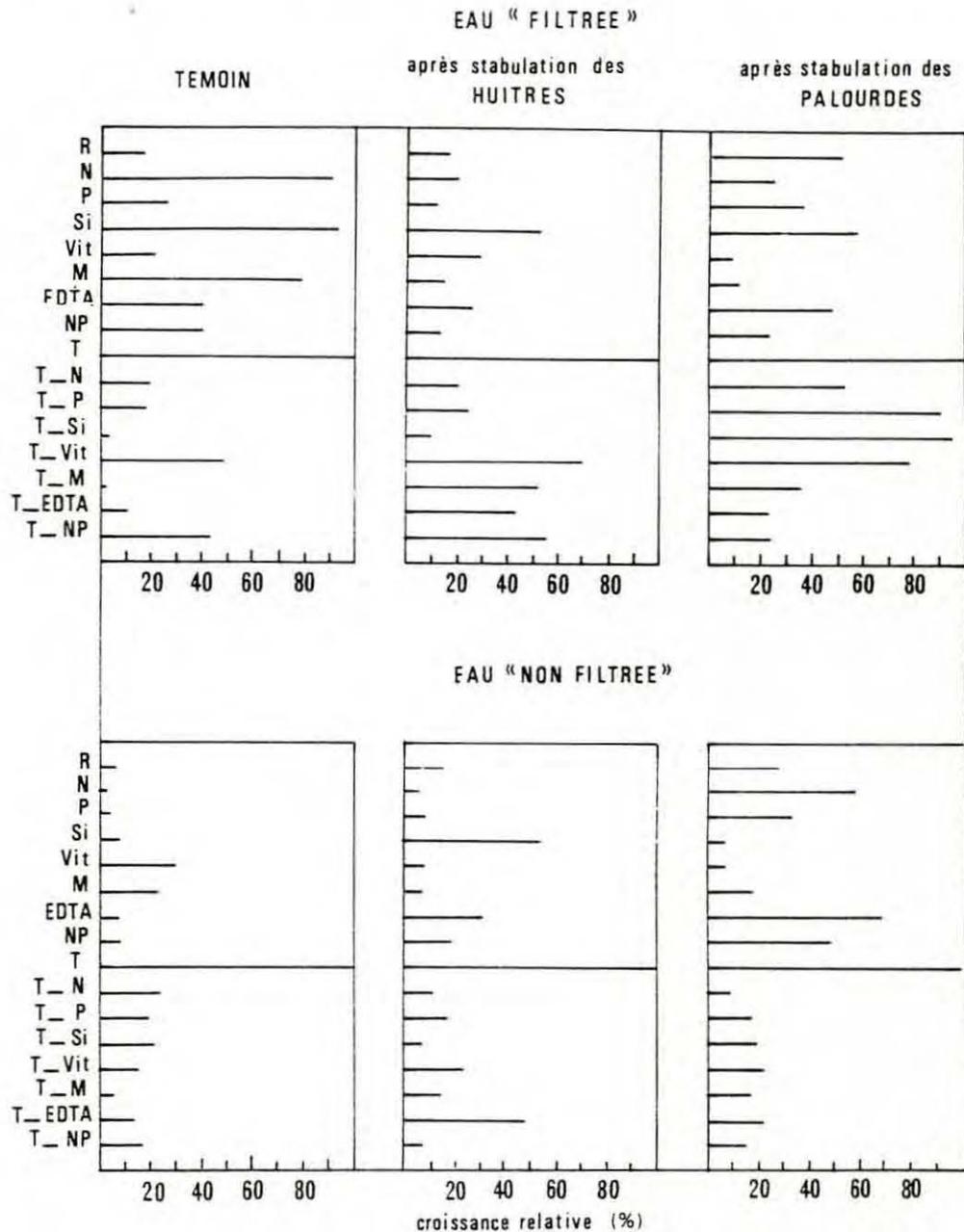


Fig. 17 - Croissances relatives données en nombre de cellules produites, exprimées en pourcentage de la croissance obtenue avec l'enrichissement complet (T), avec l'algue-test Haslea ostrearia dans les eaux d'avril 1984.

des Huîtres, Si, N et P restent les trois principaux facteurs limitants tandis que l'EDTA et les métaux le sont moins. Après séjour des Palourdes, ce sont l'EDTA et les métaux qui apparaissent plus limitants tandis que Si, N et P le sont moins. On note, de plus que les vitamines sont moins limitantes dans les eaux de stabulation des Mollusques que dans l'eau témoin.

Eau "non filtrée"

Dans l'eau "non filtrée", tous les éléments interviennent dans le contrôle de la production de biomasse. Néanmoins, on remarque une influence plus marquée des vitamines et des métaux dans l'eau provenant du bac témoin, du silicium dans l'eau ayant contenu les Huîtres et de l'azote dans l'eau de séjour des Palourdes.

4.2.3 - Croissance de Skeletonema costatum en présence des différents enrichissements

Eau "filtrée"

Dans l'eau "filtrée", tous les éléments étudiés excepté l'EDTA, sont limitants dans l'eau témoin (fig. 18). Après stabulation des Huîtres, l'azote est moins limitant par contre, le silicium et l'EDTA le sont davantage. Après stabulation des Palourdes, l'azote ne limite plus du tout la croissance algale.

Eau "non filtrée"

Dans l'eau "non filtrée", le phosphore est le premier élément contrôlant la production de biomasse dans l'eau témoin et le demeure dans les eaux de stabulation des Mollusques. Le silicium et les métaux deviennent plus limitant après séjour des Mollusques. Les vitamines et l'EDTA limitent davantage la croissance algale dans l'eau ayant contenu les Palourdes qu'ils ne le font dans les deux autres eaux.

4.2.4 - Croissance de Phaeodactylum tricornutum en présence des différents enrichissements

Eau "filtrée"

Dans le témoin des eaux "filtrées", l'azote, le phosphore puis le silicium limitent la croissance de Phaeodactylum tricornutum

nutum. Les deux premiers éléments perdent leur caractère déterminant dans les eaux de stabulation des Mollusques alors que le silicium devient encore plus limitant (fig. 19).

Eau "non filtrée"

Ces trois éléments sont également limitants dans la production algale de l'eau témoin "non filtrée". Ils le restent dans l'eau

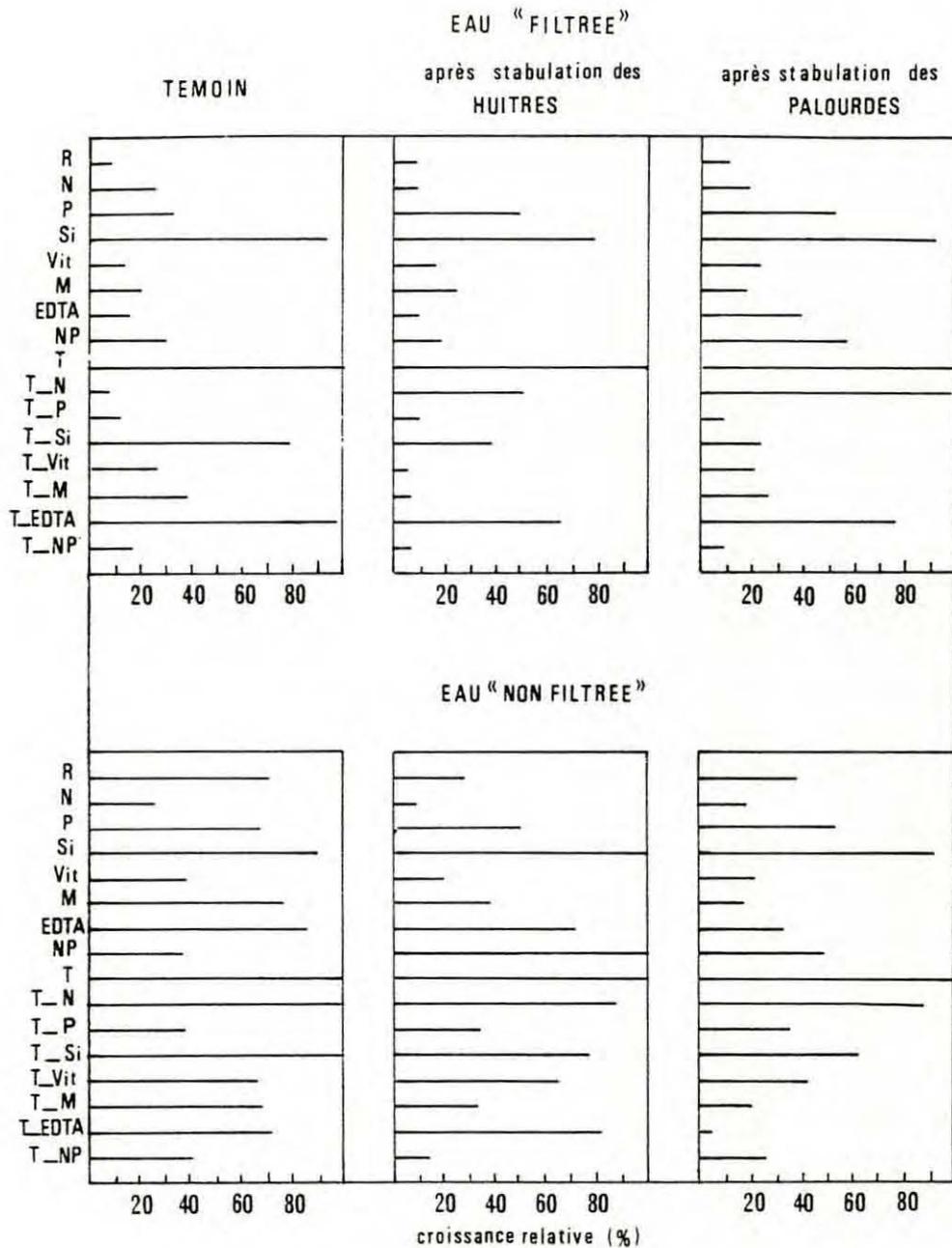


Fig. 18 - Croissances relatives données en nombre de cellules produites, exprimées en pourcentage de la croissance obtenue avec l'enrichissement complet (T), avec l'algue-test *Skeletonema costatum* dans les eaux d'avril 1984.

ayant contenu les Palourdes. L'azote n'est plus limitant dans l'eau de stabulation des Huitres.

Les principaux éléments limitants de la production algale en avril 1984 sont le plus souvent l'azote, le phosphore et le silicium. L'azote limite la production des algues-tests dans l'eau témoin dans toutes les séries de tests réalisées excepté avec S. costatum en eau "non filtrée". Après séjour des Mollusques

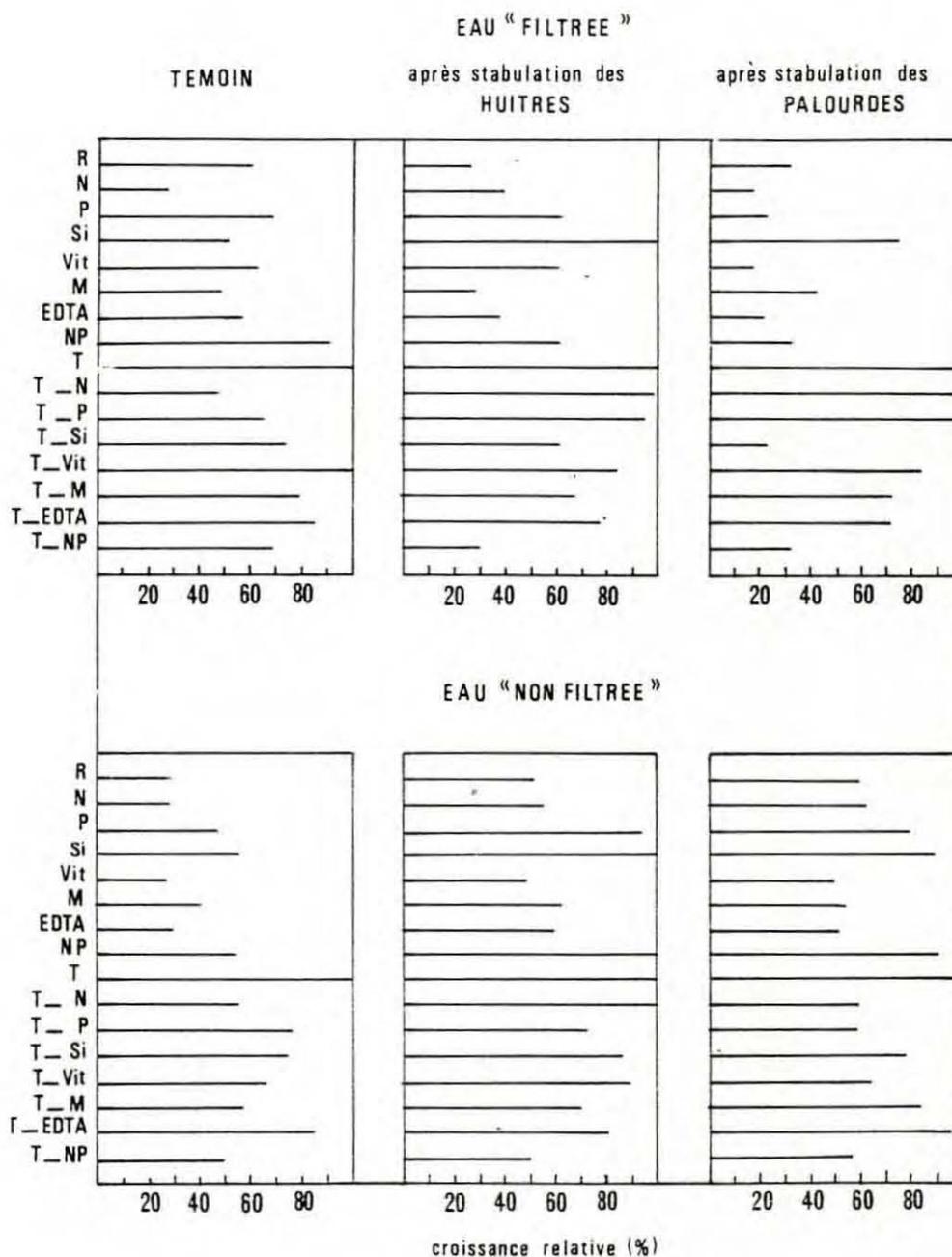


Fig. 19 - Croissances relatives données en nombre de cellules produites, exprimées en pourcentage de la croissance obtenue avec l'enrichissement complet (T), avec l'algue-test Phaeodactylum tricornutum dans les eaux d'avril 1984.

dans cette eau, l'azote perd son influence limitante ce qui peut confirmer l'apport de cet élément sous différentes formes par les Bivalves. Le phosphore apparaît limitant dans les eaux témoins comme dans les eaux de stabulation. Le silicium limite la production des algues-tests avec beaucoup plus d'acuité dans les eaux de stabulation que dans les eaux témoins où il est déjà limitant.

4.3 - DISCUSSION

4.3.1 - Composition des enrichissements

Les résultats obtenus en ajoutant un seul élément à l'eau testée sont moins révélateurs que ceux enregistrés en ajoutant l'ensemble des éléments moins un car la croissance des algues-tests dans les eaux considérées pour cette étude est contrôlée simultanément par plusieurs éléments. Par conséquent, l'enrichissement de l'eau par un seul de ces éléments ne permet pas d'observer une amélioration de croissance algale, même s'il est limitant, du fait que les autres sont absents. Cependant, dans le cas où Haslea ostrearia est cultivée dans l'eau "filtrée" de décembre ayant contenue les Palourdes, il apparaît que seul le silicium soit limitant. En effet, la croissance de l'algue dans l'eau recevant l'enrichissement complet moins cet élément est faible alors qu'elle est équivalente à celle observée dans le témoin ayant reçu l'enrichissement complet lorsque seul le silicium est ajouté.

4.3.2 - Influence de la nature des eaux testées

Les eaux de décembre et d'avril sont différentes. Ainsi, en décembre, les vitamines semblent déficientes puisqu'elles apparaissent comme facteur limitant dans toutes les eaux témoins. D'autre part, la nature "filtrée" ou "non filtrée" des eaux de même origine conduit à des conclusions différentes. Rappelons que ces termes ne s'appliquent pas aux eaux utilisées pour les tests puisqu'elles ont toutes été filtrées sur membrane de 0,45µm de porosité, mais aux conditions préalables de stabulation des Mollusques. Ainsi, en décembre, les eaux "non filtrées" sont moins riches en azote que les eaux "filtrées". En conséquence, cet élément apparaît limitant essentiellement dans les eaux "non filtrées".

4.3.3 - Influence de l'espèce algale utilisée

L'espèce algale utilisée doit aussi être considérée du fait que toutes n'ont pas les mêmes besoins nutritifs. Ainsi, il semble que la croissance de P. tricornutum demande essentiellement l'apport de macro-éléments car seuls ceux-ci interviennent au cours des tests réalisés avec cette Diatomée.

4.3.4 - Influence de la présence préalable des Mollusques dans l'eau testée

Le séjour préalable des Mollusques dans les eaux testées modifie l'ordre des facteurs limitants observé dans l'eau témoin. Ainsi, lorsque l'azote est limitant dans les eaux de référence, on observe que son degré de limitation diminue, voire disparaît, dans les eaux de stabulation des Mollusques : l'azote excrété par ces derniers sous les formes minérales et organiques constitue une source azotée supplémentaire pour les algues. De même, au cours des tests d'enrichissements différentiels réalisés avec les eaux de décembre, le phosphore n'est plus limitant pour la croissance des Diatomées après séjour des Huîtres ou des Palourdes. Cet élément est excrété par les Huîtres dans l'eau "non filtré" d'avril ni sous forme minérale, ni sous forme organique (tabl. 8, CHAPITRE 1) ce qui explique qu'il soit toujours limitant dans ces eaux. Le fait qu'il limite toujours la croissance des algues dans les eaux où il est pourtant excrété par les Bivalves peut signifier qu'il n'est peut être pas apporté en quantité suffisante par rapport à l'azote. En effet, l'ordre de limitation du phosphore n'est pas avancé après stabulation des Mollusques contrairement au silicium que l'excrétion d'azote rend inévitablement plus limitant puisque en principe les variations de ses concentrations dans le milieu ne sont pas liées à la présence des animaux.

Hormis l'azote et le phosphore, des micro-éléments comme les vitamines peuvent également être apportés par les Mollusques et utilisés par les algues comme le montrent les enrichissements différentiels des eaux de décembre. Quant aux métaux et chélateurs, les résultats observés diffèrent selon les tests et ne permettent pas de mettre en évidence l'impact des Mollusques sur l'ordre de limitation de ces éléments pour la croissance des algues-tests.

5 - CONCLUSION

L'étude expérimentale confirme les observations faites in situ par d'autres auteurs : il est désormais certain que la présence de Mollusques dans une eau de mer améliore la fertilité potentielle de cette eau pour les algues de milieux conchylicoles.

C'est essentiellement grâce à l'azote mais aussi au phosphore, apportés par l'excrétion des Bivalves sous les formes minérales et organiques que l'amélioration de la production végétale est possible ; à condition cependant que les autres éléments nutritifs du milieu ne soient pas rendus limitants. En effet, l'apport d'azote et de phosphore par les Mollusques n'est bénéfique que dans la mesure où les autres nutriments sont en quantité suffisante dans l'eau ce qui n'est pas toujours le cas pour le silicium.

Les Mollusques sont également susceptibles d'apporter des micro-éléments comme les vitamines bénéfiques au développement algal et qu'il conviendrait d'observer avec plus de soin.

Ainsi, la disponibilité pour les algues de différentes sources d'éléments nutritifs pourrait intervenir dans la succession des espèces et contribuer en tout état de cause à la grande productivité des eaux conchylicoles observée dans la nature.

Nous avons estimé l'effet global de substances excrétées sur les algues. Il serait intéressant désormais d'étudier comment celles-ci sont utilisées par les microphytes ; en particulier, dans quel ordre chronologique les différentes formes minérales et organiques présentes dans l'eau après stabulation des Mollusques sont prélevées par les Diatomées.

CHAPITRE 3

ABSORPTION PAR DEUX DIATOMEES DES DIFFERENTES FORMES D'AZOTE APPORTEES PAR LES HUITRES OU INITIALEMENT PRESENTEES DANS L'EAU

- 1 - INTRODUCTION
- 2 - MATERIEL ET METHODES
 - 2.1 - Stabulation des huîtres
 - 2.2 - Fertilité des eaux de stabulation
 - 2.3 - Cultures algales
- 3 - APPORTS D'ELEMENTS ET COMPOSES PAR LES HUITRES :
FERTILITE DES EAUX DE STABULATION
 - 3.1 - Apports d'éléments et composés
 - 3.1.1 - Excrétion des différentes substances azotées
 - 3.1.2 - Evolution des concentrations en acides aminés
libres dissous dans les eaux témoins et dans
les eaux d'incubation des Huîtres après
5 heures de stabulation
 - 3.1.2 a - Expérience de mars 1985
 - 3.1.2 b - Expérience de mai 1985
 - 3.1.2 c - Importance des apports en taurine
 - 3.1.3 - Excrétion de phosphore
 - 3.1.4 - Cas particulier de l'eau intervalvaire des
Huîtres
 - 3.2 - Fertilité potentielle des eaux témoins et des eaux
de stabulation des huîtres
- 4 - CINETIQUE D'ABSORPTION PAR DEUX DIATOMEES DES
SUBSTANCES AZOTEES PROVENANT DES HUITRES
 - 4.1 - Expérience de mars 1985 avec Phaeodactylum tricornutum
 - 4.1.1 - Evolution de la biomasse algale
 - 4.1.2 - Consommation de l'azote
 - 4.2 - Expérience de mai 1985 avec Skeletonema costatum
 - 4.2.1 - Evolution de la biomasse algale
 - 4.2.2 - Consommation de l'azote

5 - DISCUSSION

- 5.1 - Impact de l'excrétion azotée sur la fertilité potentielle de l'eau de mer
- 5.2 - Utilisation des formes minérales et organiques de l'azote
 - 5.2.1 - Evolution de la biomasse algale
 - 5.2.2 - Utilisation de l'ammoniaque et des nitrates
 - 5.2.3 - Utilisation de l'azote organique dissous
 - 5.2.4 - Evolution des acides aminés libres dissous au cours de la croissance de Phaeodactylum tricornutum

6 - CONCLUSION

CHAPITRE 3

ABSORPTION PAR DEUX DIATOMEES DES DIFFERENTES FORMES D'AZOTE APPORTEES PAR LES HUITRES OU INITIALEMENT PRESENTEES DANS L'EAU

I - INTRODUCTION

Nous avons pu observer qu'il existe bien une relation de cause à effet entre la présence de Mollusques dans une eau de mer et l'amélioration de la fertilité potentielle de cette eau pour les Diatomées qui y sont mises en culture. Indirectement et suite aux observations in situ réalisées par les auteurs, on attribue à l'ensemble des substances excrétées par les Mollusques l'origine de cette amélioration de la production végétale. Actuellement nous ne disposons pas de moyens analytiques suffisants pour déterminer toutes les substances excrétées par les Bivalves. Cependant, il est déjà possible d'étudier quels sont, parmi les éléments ou composés azotés et phosphorés apportés dans le milieu grâce à l'activité métabolique des animaux, ceux que les algues utilisent. De même, l'existence d'un ordre d'utilisation préférentiel de certains composés par rapport à d'autres peut être recherchée.

Un protocole expérimental a donc été élaboré visant à mettre en évidence les cinétiques d'absorption par deux Diatomées, des différentes substances, en particulier azotées, apportées par l'excrétion des Mollusques ou initialement présentes dans l'eau. Deux expériences sont donc réalisées, l'une en mars 1985 avec Phaeodactylum tricornutum, l'autre en mai 1985 avec Skeletonema costatum. Pour chacune d'elles, dans un premier temps, des Huitres sont mises en stabulation dans une eau de mer afin que celle-ci soit enrichie en substances dissoutes. Dans un deuxième temps, les algues-tests sontensemencées dans l'eau de stabulation. L'évolution des teneurs en nutriments est alors suivie parallèlement à la croissance de la population algale jusqu'à ce que celle-ci atteigne la phase de plateau.

2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 - STABULATION DES HUITRES

Une semaine avant les expériences, 30 Huîtres sont récoltées sur des parcs ostréicoles de la baie de Bourgneuf à proximité de Bouin. Les Mollusques sont acclimatés aux conditions du laboratoire dans de l'eau de mer non filtrée renouvelée tous les deux jours. Quarante huit heures avant l'expérience, les animaux sont mis à jeûner dans de l'eau de mer filtrée sur membrane de 0,45 μm de porosité après un brossage soigneux de leurs coquilles.

Le jour de l'expérience, les 30 Huîtres sont mises en stabulation dans un bac contenant 30 litres d'eau de mer filtrée à côté d'un autre bac sans Mollusques servant de témoin. Le fond des bacs est surélevé d'une grille de matière plastique pour éliminer les fèces et pseudo-fèces. L'oxygénation est assurée par un bulleur. L'expérience dure 5 heures. Toutes les heures, un prélèvement d'eau est effectué par siphonnage dans chaque bac afin de doser les éléments minéraux tels que l'ammoniaque, les nitrites, nitrates et phosphates ainsi que la matière organique telle que l'urée, les acides aminés totaux et l'azote et le phosphore organiques dissous totaux. Les méthodes d'analyses sont les mêmes que celles exposées au chapitre I.

Aux premier et dernier prélèvements, les acides aminés libres dissous sont également dosés par HPLC. De plus, 300 ml d'eau supplémentaires sont prélevés et répartis immédiatement en aliquots de 100 ml dans 3 erlenmeyers afin d'estimer la fertilité potentielle de l'eau au moyen de tests biologiques.

A la fin des cinq heures d'expérience, 20 litres de l'eau surnageant les Huîtres sont siphonnés dans un baril de culture stérile de 25 litres de contenance.

Les poids de chair frais et secs des Huîtres sont ensuite déterminés. Lors de l'expérience de mars 1985, l'eau intervalvaire des Huîtres est récupérée, filtrée et versée dans un erlenmeyer de culture.

2.2 - FERTILITE DES EAUX DE STABILATTON

Les algues-tests utilisées sont Haslea ostrearia, Skeletonema costatum et Phaeodactylum tricornutum. Elles subissent le même traitement que celui détaillé dans le chapitre II. Chaque culture unispécifique en phase exponentielle de croissance est appauvrie pendant deux jours pour Haslea ostrearia et quatre jours pour les deux autres Diatomées. Chaque algue est ensuiteensemencée dans l'un des trois erlenmeyers préparés à cet effet lors des prélèvements d'eau d'incubation des Huîtres à raison de 10^6 cell.l⁻¹ pour H. ostrearia et 5.10^6 cell.l⁻¹ pour les deux autres espèces. Les cultures sont placées à 12°C sous un éclairément de 5.10^{15} quanta.cm⁻².s⁻¹ à des alternances jour/nuit de 12h/12h. La croissance algale est évaluée par comptage journalier des densités numériques cellulaires sur cellule hématimétrique de type NAGEOTTE pour H. ostrearia et de type NEUBAUER pour S.costatum et P. tricornutum. Les cultures sont arrêtées lorsque la croissance est à son maximum et que aucune division cellulaire n'est plus observée.

L'eau intervalvaire des Huîtres recueillie en mars 1985 estensemencée avec P. tricornutum à raison de 5.10^6 cell.l⁻¹. L'évolution des densités numériques en cellules dans cette eau est suivie quotidiennement parallèlement aux autres culture-tests.

2.3 - CULTURES ALGALES

Les 20 litres d'eau d'incubation des Huîtres sont enrichis de $70 \mu\text{M.l}^{-1}$ en silicates ($\text{Na}_2\text{SiO}_2, 5 \text{H}_2\text{O}$) et de $4 \mu\text{M.l}^{-1}$ en phosphates (K_2HPO_4) afin que silice et phosphore ne deviennent pas limitants au cours de la croissance algale.

Les algues-tests, P. tricornutum pour l'expérience de mars et S. costatum pour celle de mai, sont ensuite inoculées à raison de 5.10^6 .cell.l⁻¹, les souches ayant été préalablement débarrassées de leurs réserves intracellulaires par séjour de quatre jours dans une eau de mer pauvre en sels nutritifs.

Les cultures sont exposées à un éclairément de $30.10^{36} \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ à une alternance jour/nuit de 12h/12h et à la température de 12°C.

Le premier prélèvement est effectué immédiatement après l'ensemencement. Une moyenne de trois prises d'eau quotidiennes est ensuite réalisée. Certaines peuvent être parfois omises par souci d'économie d'eau lorsqu'elles sont jugées non indispensables. L'eau prélevée est analysée selon les méthodes citées au chapitre I pour connaître l'évolution des teneurs en ammoniacque, nitrites et nitrates ainsi que celles en urée et en azote organique dissous total.

Lors de l'expérience de mars, les acides aminés totaux sont dosés au moyen de la fluorescamine et quelques déterminations qualitatives sont réalisées sur certains échantillons par H.P.L.C.

L'évolution de la biomasse algale est estimée chaque jour par dénombrements cellulaires sur cellule hématimétrique de type NEUBAUER.

3 - APPORTS D'ÉLÉMENTS ET COMPOSÉS PAR LES HUÎTRES : FERTILITE DES EAUX DE STABILISATION

3.1 - APPORTS D'ELEMENTS ET COMPOSES

L'évolution des teneurs en éléments minéraux et organiques dissous dans les eaux des bacs témoins et des bacs contenant les Huîtres sont comparables, pour les deux expériences, à ce qui a déjà été décrit pour avril 1984 au chapitre I (fig. 2). Le but de l'étude étant moins ici de mettre en évidence l'excrétion des Mollusques que de montrer l'utilisation des produits d'excrétion par les microphytes, nous n'insistons pas sur cet aspect. Les substances dont l'excrétion a pu être observée sont mentionnées dans les tableaux 25 et 28.

3.1.1 - Excrétion des différentes substances azotées

L'excrétion azotée est très différente entre les deux expériences tant du point de vue quantitatif que qualitatif (tabl.25). L'azote total excrété est de $1,91 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en mars et de $4,06 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en mai. Il est entièrement constitué d'ammoniacque en mars tandis que c'est la forme organique, représentée par l'urée, qui domine en mai. Les résultats de mars peuvent être

intégrés aux précédents car ils rappellent ce qui fut observé en avril 1984 en eau "filtrée" (tabl. 5, chapitre I). Par contre, en mai, les Huîtres ont réagi tout à fait différemment : l'excrétion d'ammoniaque apparaît faible pour cette période et celle de l'urée est particulièrement élevée.

	mars 1985		mai 1985	
	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	%
N-NH ₄	1,91	100	0,35	8,6
Urée	-	-	3,71	91,3
+ acides aminés	-	-	-	-
+ substances non identifiées	-	-	-	-
= azote organique dissous total	-	-	3,71	91,3
azote total	1,91	100	4,06	100

Tableau 25 - Taux d'excrétion horaires par gramme de chair sèche d'Huîtres et pourcentages relatifs des différentes substances azotées excrétées au cours des expériences de mars et mai 1985.

3.1.2 - Evolution des concentrations en acides aminés libres dissous dans les eaux témoins et dans les eaux d'incubation des Huîtres après 5 heures de stabulation

3.1.2. a - Expérience de mars 1985

Les teneurs en acides aminés ne semblent pas avoir évolué dans le bac témoin (Tabl. 26). Dans le bac contenant les Huîtres, par contre, les concentrations en début et fin d'expérience sont respectivement de $3,48 \mu\text{M.l}^{-1}$ et $1,54 \mu\text{M.l}^{-1}$. Les Huîtres auraient consommé des acides aminés. Il apparaît, d'autre part, que, dès que les Huîtres sont mises à stabuler dans l'eau, elles l'enrichissent immédiatement en acides aminés puisque les concentrations dans le bac témoin et dans le bac contenant les Huîtres sont respectivement de $2,076$ et $3,48 \mu\text{M.l}^{-1}$ au temps 0 de l'expérience.

	TEMOIN $\mu\text{M.l}^{-1}$	HUITRES $\mu\text{M.l}^{-1}$
début d'expérience	2,076	3,480
fin d'expérience	2,095	1,554

Tableau 26 - Concentrations en acides aminés libres dissous totaux dans l'eau témoin et dans l'eau contenant les Huîtres au début et à la fin de l'expérience de mars 1985.

Dans l'eau témoin, au départ de l'expérience, 16 acides aminés ont pu être identifiés (fig. 20). La thréonine et la serine en sont les principaux puisqu'ils forment à eux deux plus de 50 % de l'ensemble avec des concentrations respectives de 0,574 et 0,509 $\mu\text{M.l}^{-1}$. L'ornithine vient ensuite (0,317 $\mu\text{M.l}^{-1}$) suivi de l'alanine et l'acide aspartique (respectivement 0,193 et 0,145 $\mu\text{M.l}^{-1}$). L'acide glutamique, la lysine, l'histidine, la leucine, l'isoleucine, la tyrosine, la taurine, l'asparagine, l'arginine et la glycine constituent environ les derniers 15 % de l'ensemble. Ils sont classés par ordre de concentration décroissante de 0,064 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à 0,004 $\mu\text{M.l}^{-1}$. Enfin, le tryptophane peut être décelé à l'état de traces.

Les proportions relatives de ces différents acides aminés restent les mêmes dans l'eau témoin après 5 heures d'expérience (fig. 20). Elles sont sensiblement différentes dans l'eau des Huîtres au départ : il y a une légère diminution dans la proportion d'ornithine compensée par une légère augmentation dans celles des acides aminés les moins bien représentés, en particulier, la tyrosine, la taurine et le tryptophane. Après les cinq heures de séjour des Huîtres dans l'eau, l'importance relative de chacun des différents acides aminés se trouve modifiée par une forte augmentation de la concentration en taurine qui, de 0,033 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à $t = 0$ heure atteint 0,220 $\mu\text{M.l}^{-1}$ à $t = 5$ heures, soit pratiquement équivalente à celles de la thréonine et de la sérine.

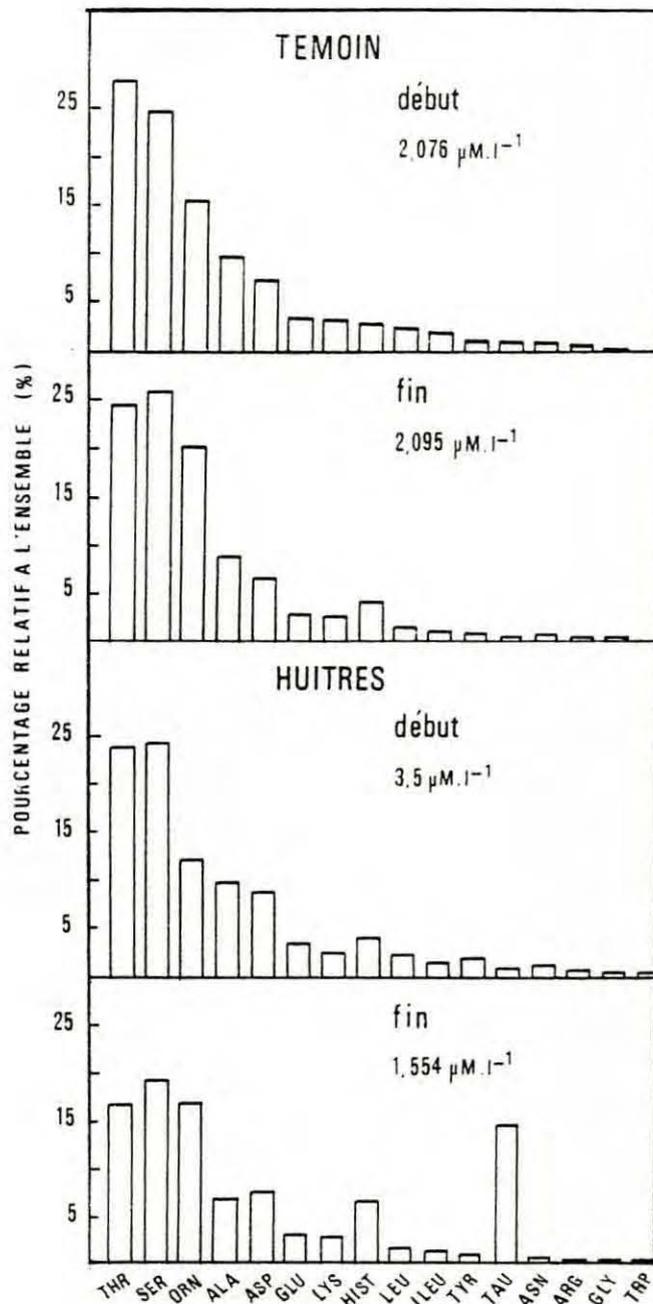


Fig. 20 - Pourcentages relatifs des différents acides aminés libres dissous analysés dans l'eau témoin et l'eau contenant les Huitres en début et en fin de l'expérience de mai 1985.

3.1.2. b - Expérience de mai 1985

La concentration en acides aminés libres dissous totaux (AALDT) augmente de 1,40 à 2,93 $\mu\text{M.l}^{-1}$ dans le bac témoin (tabl. 27). Nous avons déjà observé au cours des expériences précédentes que les teneurs en substances dissoutes pouvaient varier dans l'eau témoin (fig. 2, chapitre I). Les Huitres,

comme en mars 1985, semblent avoir absorbé des acides aminés puisque la concentration de ceux-ci diminue de 3,85 à 2,24 $\mu\text{M.l}^{-1}$ au cours des 5 heures d'expérience. Cependant, compte-tenu de la variation observée dans le témoin, il est permis de douter que la différence soit nécessairement due à l'activité des animaux. Là encore, il semble que le fait d'introduire des Huîtres dans le bac expérimental provoque un relargage d'acides aminés de la part des Mollusques puisque au temps 0 de l'expérience, l'eau de stabulation des Huîtres contient 3,85 μM d'AALDT par litre tandis que l'eau témoin n'en contient que 1,40 $\mu\text{M.l}^{-1}$.

	TEMOIN	HUITRES
	$\mu\text{M.l}^{-1}$	$\mu\text{M.l}^{-1}$
début d'expérience	1,40	3,85
fin d'expérience	2,93	2,24

Tableau 27 - Concentrations en acides aminés libres dissous totaux dans l'eau témoin et dans l'eau contenant les Huîtres au début et à la fin de l'expérience de mai 1985.

L'ensemble des AALDT de l'eau témoin correspond à 14 acides aminés (fig. 21). Thréonine et serine en forment presque les 40 %. L'acide glutamique est également bien représenté avec une concentration de 0,232 $\mu\text{M.l}^{-1}$ soit 16,6 % de la totalité. L'ornithine, l'alanine et l'acide aspartique forment presque 30 %. Les huit acides aminés restant sont la lysine, l'histidine, la leucine, l'isoleucine, la tyrosine, la glycine, l'asparagine et l'arginine dont les concentrations sont inférieures à 0,06 $\mu\text{M.l}^{-1}$.

La composition de l'eau témoin évolue légèrement après 5 heures d'expérience : la part de la thréonine et de la serine augmente sensiblement ainsi que celle de l'acide aspartique. Par contre, l'acide glutamique, la leucine et la glycine deviennent moins importants. Dans le bac contenant les Huîtres, au début de la mise en stabulation, la sérine et la thréonine sont à des concentrations plus importantes qu'elles ne le sont dans

le témoin. De plus, taurine et tryptophane peuvent être décelés en faible quantité. Après les 5 heures d'expérience, la taurine atteint une concentration de $0,496 \mu\text{M.l}^{-1}$ et devient l'acide aminé dominant aux dépens de tous les autres.

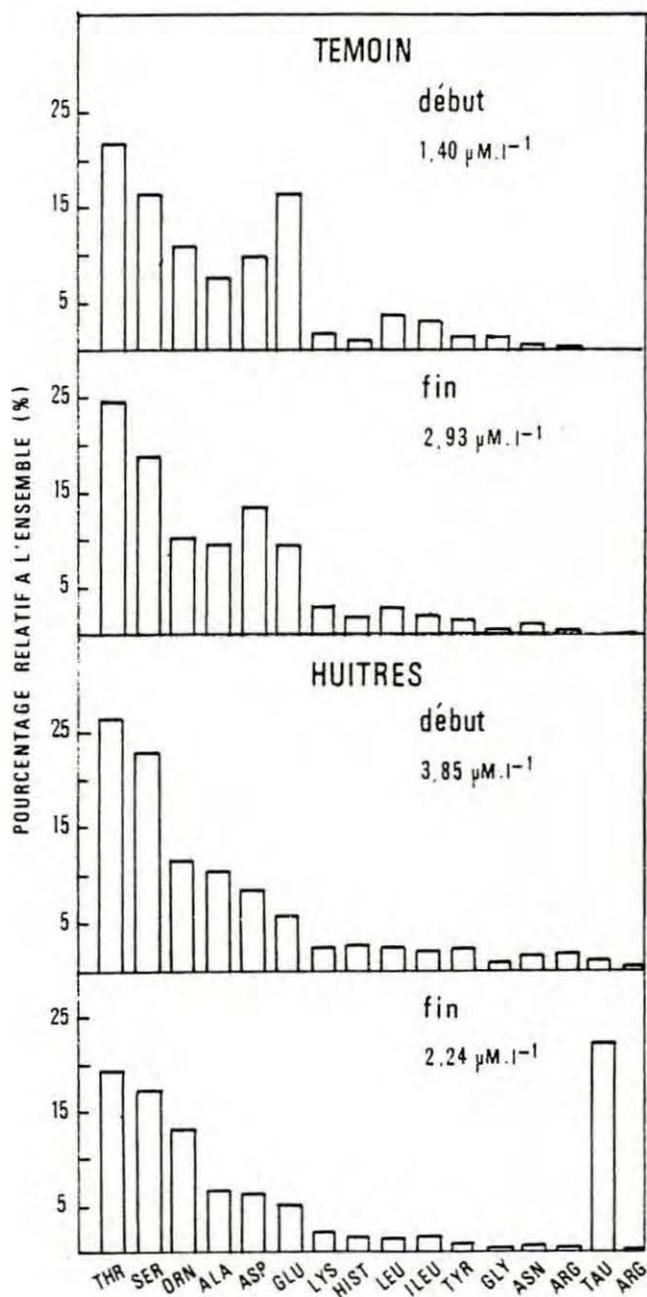


Fig. 21 - Pourcentages relatifs des différents acides aminés libres dissous analysés dans l'eau témoin et l'eau contenant les Huitres en début et en fin de l'expérience de mai 1985.

3.1.2. c - Importance des apports en taurine

Parmi les acides aminés étudiés, seule la taurine présente une concentration qui varie significativement au cours des 5 heures de stabulation des Huîtres. Celle-ci augmente en effet de $0,033 \mu\text{M.l}^{-1}$ à $0,220 \mu\text{M.l}^{-1}$ en mars et de $0,018 \mu\text{M.l}^{-1}$ à $0,496 \mu\text{M.l}^{-1}$ en mai. Les taux d'excrétion horaires de cet acide aminé par gramme de chair sèche d'Huîtres, calculés sur les 5 heures d'expérience, sont donc de $0,05 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en mars et de $0,14 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en mai.

L'excrétion de taurine par les Mollusques, observée une première fois en octobre 1984 avec des Huîtres et des Palourdes, se trouve confirmée par ces deux expériences. Le taux d'excrétion observé en mai 1985 est tout à fait comparable à celui enregistré en octobre 1984 avec les Huîtres. Par contre, en mars 1985, il est beaucoup plus faible. Il est possible qu'au cours de cette expérience, les Huîtres n'aient excrété la taurine qu'après un temps relativement long par rapport au moment où elles ont été immergées comme cela fut observé en octobre avec les Palourdes (fig. 7, chapitre 1).

3.1.3 - Excrétion de phosphore

Les résultats obtenus lors des deux expériences sont très semblables. Les taux d'excrétion de phosphore total sont de $0,63 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en mars et de $0,74 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en mai (tabl.28).

	mars 1985		mai 1985	
	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	%	$\mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$	%
P-PO ₄	0,05	8,2	0,08	11,4
phosphore organique dissous total	0,58	91,8	0,66	88,6
phosphore total	0,63	100	0,74	100

Tableau 28 - Taux d'excrétion horaires par gramme de chair sèche d'Huîtres et pourcentages relatifs des différentes substances phosphorées excrétées au cours des expériences de mars et de mai 1985.

Dans les deux cas, le phosphore apporté est essentiellement sous forme organique dissoute. Ces résultats s'opposent par contre à ceux précédemment observés (Tabl. 8, chapitre I) car, d'une part le taux d'excrétion de phosphore total moyen était de $0,14 \pm 0,18 \mu\text{M.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ et, d'autre part, la forme minérale dominait.

3.1.4 - Cas particulier de l'eau intervalvaire des Huîtres

Lors de l'expérience de mars 85, les teneurs en substances dissoutes de l'eau intervalvaire des Huîtres sont déterminées et comparées à celles de l'eau de stabulation (tabl. 29).

L'eau intervalvaire est extrêmement riche en azote puisque la concentration en cet élément atteint $281,15 \mu\text{M.l}^{-1}$ avec $88,41 \mu\text{M.l}^{-1}$ pour l'azote minéral et $96,37 \mu\text{M.l}^{-1}$ pour l'azote organique total. Les teneurs en phosphore sous les formes minérale et organique dissoutes sont également particulièrement élevées puisqu'elles sont respectivement de $6,24 \mu\text{M.l}^{-1}$ et $14,88 \mu\text{M.l}^{-1}$.

	eau intervalvaire des Huîtres	eau de stabulation des Huîtres	rapport des concentrations
	$\mu\text{M.l}^{-1}$	$\mu\text{M.l}^{-1}$	$\mu\text{M.l}^{-1}$
N-NH ₄	49,95	11,32	4,4
N-NO ₃	31,46	27,18	1,1
N-NO ₂	7,00	0,89	7,8
Σ N minéral	88,41	39,39	2,2
urée	12,01	5,53	2,1
acides aminés totaux	53,00	2,70	19,6
azote organique dissous total	96,37	15,65	6,1
azote total	281,15	55,04	5,1
P-PO ₄	6,24	1,83	3,4
phosphore organique dissous total	14,88	2,32	6,4
phosphore total	21,12	4,15	5,1
$\frac{\text{N}}{\text{P}}$ minéral	14,16	21,52	-
$\frac{\text{N}}{\text{P}}$ minéral + organique	13,31	13,26	-
Si	16,33	17,92	0,9

Tableau 29 - Teneurs en substances minérales et organiques dissoutes et rapports N/P de l'eau intervalvaire et l'eau de stabulation des Huîtres à la fin de l'expérience de mars 1985.

La comparaison entre l'eau intervalvaire des Huitres et l'eau où ces dernières ont séjourné montre que tous les composés analysés, hormis les nitrates et les silicates sont nettement plus concentrés dans l'eau intervalvaire que dans l'eau de stabulation. L'eau intervalvaire est deux fois plus riche en azote minéral : si la concentration en nitrates demeure équivalente dans les deux eaux, il n'en est pas de même pour celles de l'ammoniaque et des nitrites qui sont respectivement pour plus de quatre fois et pour près de huit fois plus concentrés dans l'eau intervalvaire. Les fortes teneurs en nitrites sont à relier aux fortes teneurs en ammoniaque et peuvent être dues à un début de nitrification. La concentration en azote organique dissous total est six fois plus importante dans l'eau intervalvaire que dans l'eau de stabulation. L'eau intervalvaire est deux fois plus riche en urée mais ce sont les acides aminés qui présentent de très fortes teneurs avec $96,37 \mu\text{M eq. Glycine.l}^{-1}$ soit 19,6 fois plus que dans l'eau de stabulation.

Les concentrations en phosphore minéral et organique, déjà élevées dans l'eau de stabulation, se trouve respectivement multipliées par 3,4 et 6,4 dans l'eau intervalvaire. Comme pour l'azote, c'est la forme organique qui présente le facteur multiplicatif le plus fort.

Le rapport N/P des formes minérales, de 21,52 dans l'eau de stabulation, est de 14,16 dans l'eau intervalvaire. C'est-à-dire que l'eau intervalvaire est, par rapport à l'azote, plus riche en phosphore. Les rapports N/P des formes minérale et organique sont équivalents dans les deux eaux.

3.2 - FERTILITE POTENTIELLE DES EAUX TEMOINS ET DES EAUX DE STABULATION DES HUITRES

La fertilité potentielle des eaux testées pour les trois Diatomées est estimée par le nombre maximal de cellules produites obtenu au cours de la croissance algale (fig. 22). Rappelons que les échantillons d'eau ont été prélevés aux temps 0 h et 5 h des expériences dans les bacs témoins (T0, T5) et dans les bacs à Huitres (H0, H5).

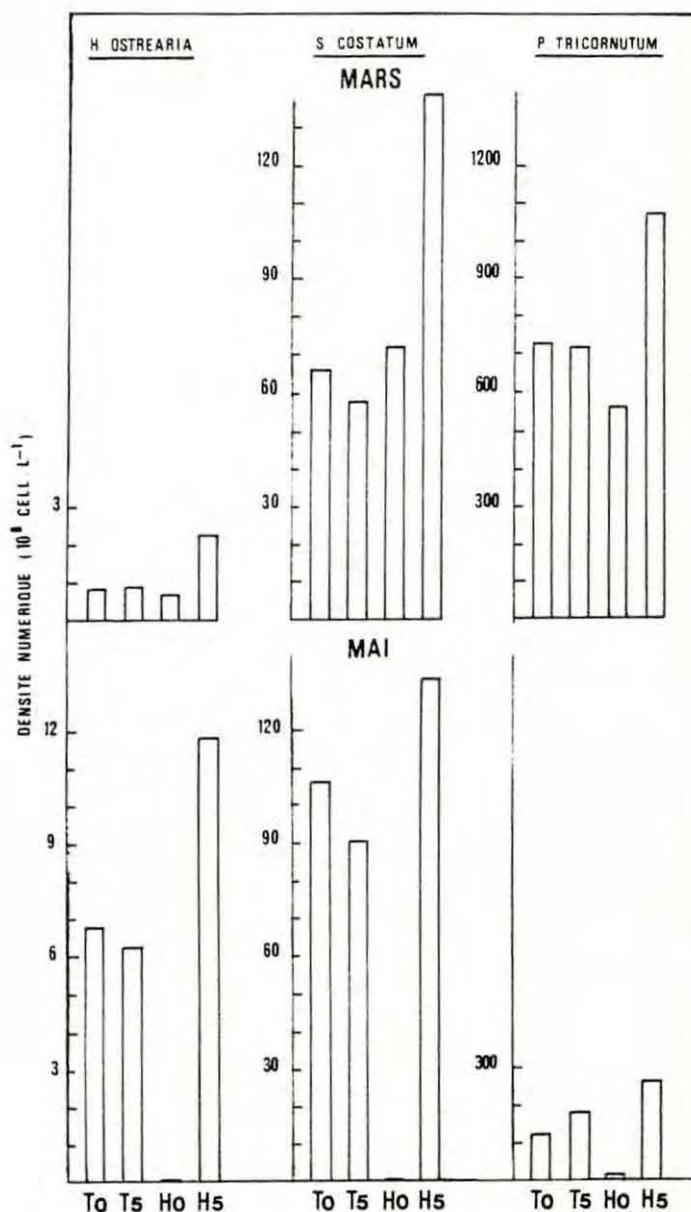


Fig. 22 - Biomasses maximales produites par les algues-tests *H. ostrearia*, *S. costatum* et *P. tricornutum* ensemencées dans les eaux témoins et dans les eaux de stabulation des Huîtres prélevées aux temps 0 heure et 5 heures des expériences de mars et de mai 1985.

L'eau "HO" de mai n'a pas permis de développement algal quelle que soit l'espèce considérée.

Les réponses obtenues avec *Haslea ostrearia* sur les eaux de mars et de mai sont quantitativement différentes mais qualitativement semblables : elles sont quantitativement différentes car les densités cellulaires enregistrées en mars sont inférieures à $2,5 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$ tandis que celles enregistrées en mai sont

supérieures à 6.10^6 cell.l⁻¹ ; elles sont qualitativement semblables car l'eau prélevée dans le bac à Huîtres après 5 heures de stabulation apparaît nettement plus fertile que les autres pour les deux expériences. En effet, alors que les eaux "T0", "T5" et, pour le mois de mars, "H0", produisent des biomasses algales équivalentes, l'eau "H5" se distingue nettement par une production qui est quasiment doublée.

Avec Skeletonema costatum, les nombres de cellules produites sont du même ordre de grandeur entre les deux expériences. L'eau ayant contenu les Huîtres apparaît, ici aussi, plus fertile que les autres puisqu'elle permet une croissance algale supérieure de 100 % à celle de "T0", "T5" et "H0" en mars et de 35 % à celle de "T0" et "T5" en mai.

Les densités cellulaires produites par Phaeodactylum tricornutum sont différentes d'une expérience à l'autre : elles s'échelonnent entre 561.10^6 cell.l⁻¹ et $1\ 071\ 10^6$ cell.l⁻¹ en mars et entre 124.10^6 cell.l⁻¹ et 266.10^6 cell.l⁻¹ en mai. En mars, l'eau de stabulation des Huîtres est 1,5 fois plus fertile que les eaux témoins et 2 fois plus fertile que l'eau des Huîtres avant stabulation. En mai, elle est de 1,5 à 2 fois plus fertile que les eaux témoins.

P. tricornutum a aussi étéensemencée dans l'eau intervalvaire des Huîtres au cours de l'expérience de mars. La biomasse produite par l'algue dans cette eau est de $4\ 135.10^6$ cell.l⁻¹ soit près de 4 fois celle produite dans l'eau ayant contenu les Huîtres.

4 - CINÉTIQUES D'ABSORPTION PAR DEUX DIATOMÉES DES SUBSTANCES AZOTÉES PROVENANT DES HUITRES

4.1 - EXPERIENCE DE MARS 1985 AVEC PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM

4.1.1 - Evolution de la biomasse algale

La multiplication des cellules algales se traduit par une courbe de croissance constituée de quatre phases caractéristiques (fig. 23) : une première phase linéaire

jusqu'à la 30ème heure de culture, une seconde phase exponentielle de 30 à 80 heures, une troisième phase de ralentissement de croissance à partir de 80 heures de culture lorsque la réserve en azote minéral se trouve épuisée et enfin, un plateau de fin de croissance qui s'accompagne d'un relargage d'ammoniaque et de nitrates de la part des cellules scenescentes.

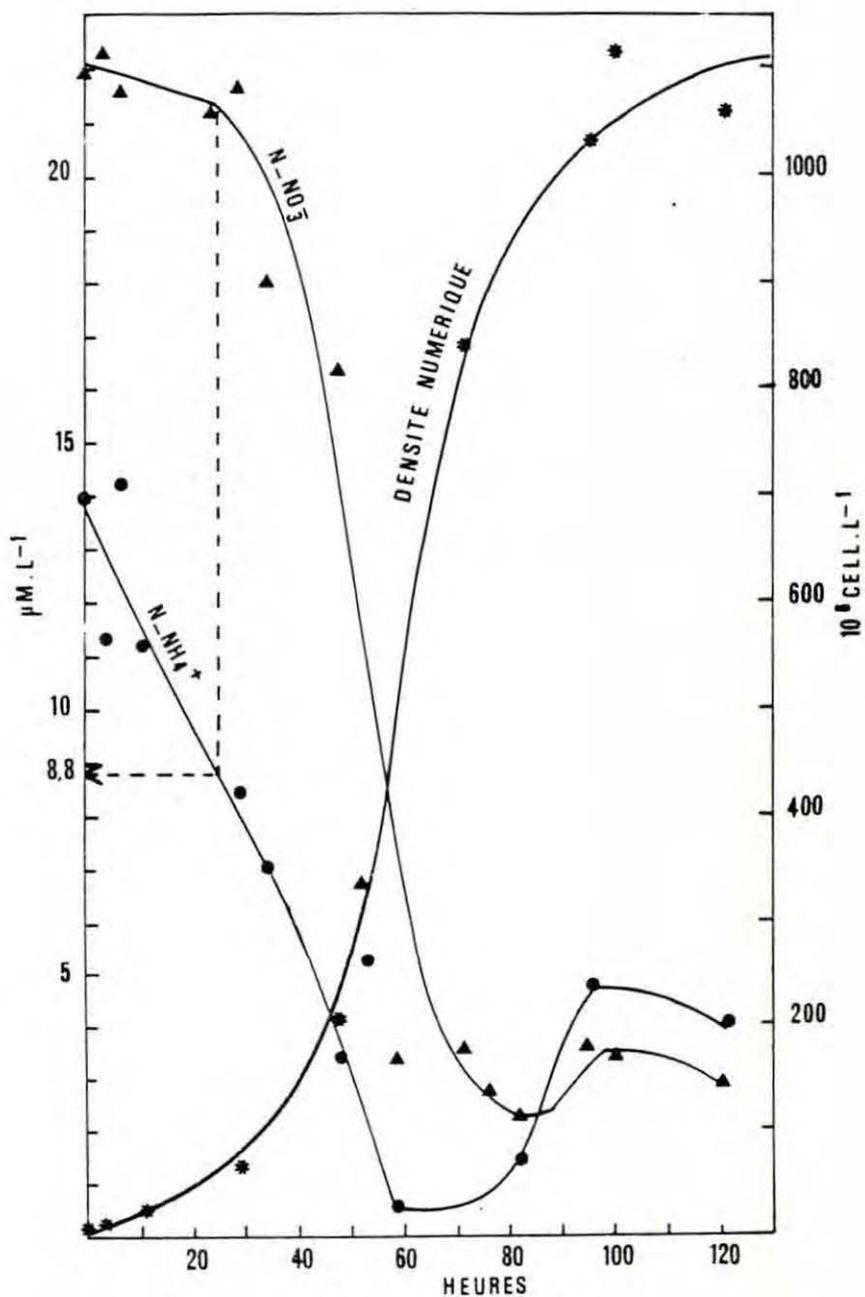


Fig. 23 - Diminution des concentrations en NH_4^+ et NO_3^- , et augmentation de la biomasse exprimée en densité numérique en cellules au cours de l'expérience de mars 1985.

La biomasse maximale produite par P. tricornutum exprimée en densité cellulaire, est de $1\ 113.10^6$ cell.l⁻¹ à la 96ème heure de culture, soit équivalente à celle produite dans l'eau "H₅ au cours des tests de fertilité (fig. 22). Les cellules algales se sont divisées 7,17 fois au taux de 1,78 divisions par jour.

4.1.2 - Consommation de l'azote

L'ammoniaque

La concentration en ammoniaque, initialement de $13,96\ \mu\text{M.l}^{-1}$ diminue dès le début de l'expérience pour atteindre, après 58 heures $0,53\ \mu\text{M.l}^{-1}$ (fig. 23). L'ion ammoniacal est prélevé jusqu'à son épuisement dans le milieu à un taux proche de $0,20\ \mu\text{M.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Il est ensuite relargué par les algues en fin de culture.

Les nitrates

L'utilisation des nitrates s'effectue pendant les 24 premières heures selon un taux réduit de $0,02\ \mu\text{M.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Lorsque la concentration en ammoniaque atteint $8,8\ \mu\text{M.l}^{-1}$, la disparition des nitrates dans le milieu se fait au taux de $0,37\ \mu\text{M.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$, supérieur à celui de l'utilisation de l'ammoniaque. Après 80 heures de culture, la concentration en N-NO_3^- augmente de $2,18$ à $3,6\ \mu\text{M.l}^{-1}$.

L'azote organique dissous total

Les concentrations en azote organique dissous total présentent des écarts importants d'un prélèvement à l'autre (fig. 24). Néanmoins, les valeurs tendent à diminuer au cours du temps. Cette tendance prise globalement pourrait être représentée par une relation linéaire exprimée par la droite de régression d'équation $y = - 0,07 x + 17,23$; $r^2 = 0,73$.

Les acides aminés

Les teneurs en acides aminés totaux diminuent tout au long de la culture selon un taux moins rapide que celui de l'azote organique total (fig. 24). La droite de corrélation calculée est d'équation $y = -0,0174 x + 4,05$, $r^2 = 0,68$.

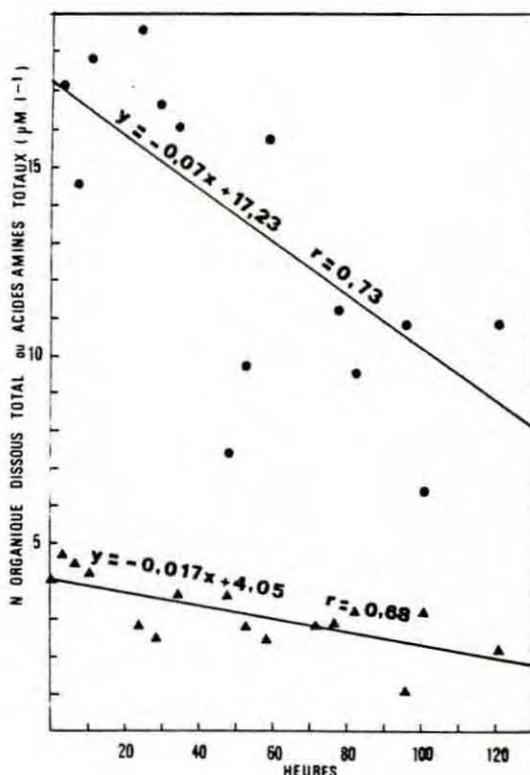


Fig. 24 - Diminution des concentrations en azote organique dissous total (●) et en acides aminés totaux (▲) au cours de l'expérience de mars 1985.

L'analyse de certains prélèvements par HPLC permet de suivre l'évolution de la séquence des différents acides aminés libres dissous (fig. 25). La concentration en AALDT de l'eau au départ de la culture est de $2,225 \mu\text{M.l}^{-1}$. Elle est supérieure à la concentration de $1,554 \mu\text{M.l}^{-1}$ enregistrée dans le bac à Huîtres en fin de stabulation (fig. 20). L'origine de cet écart peut être due aux différentes manipulations réalisées entre les deux prélèvements (transvasement dans le baril de culture, enrichissement en phosphates et silicates, ensemencement des algues et prélèvement).

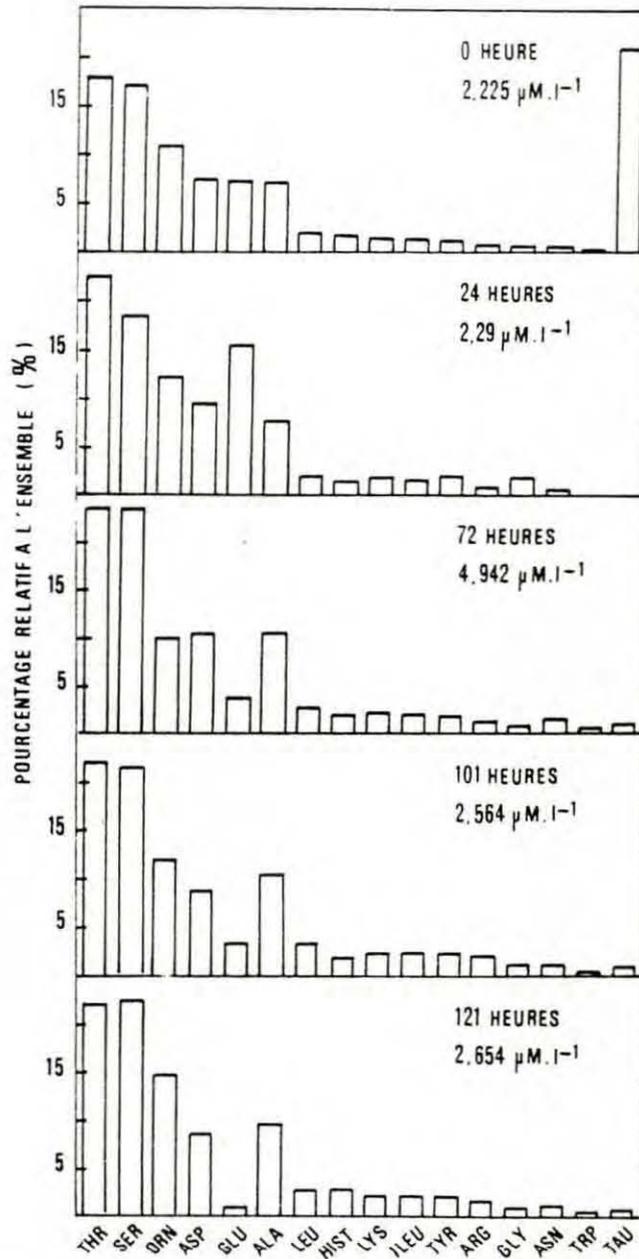


Fig. 25 - Evolution des pourcentages relatifs des acides aminés libres dissous au cours de la culture de *P. tricornutum* en mars 1985.

Les teneurs en AALDT évoluent peu au cours de la culture (fig. 25) et demeurent voisines de $2,4 \mu\text{M.l}^{-1}$ excepté à 72 heures où elles atteignent $4,942 \mu\text{M.l}^{-1}$ sans qu'une explication puisse être donnée à cette valeur exceptionnelle.

L'importance relative des différents acides aminés libres est tout à fait semblable à celle observée dans l'eau des Huitres après 5 heures de stabulation : la taurine, qui forme 21 % de l'ensemble des 16 acides aminés identifiés est le mieux représenté à côté de la thréonine et de la serine. L'ornithine, l'acide aspartique, l'acide glutamique et l'alanine viennent ensuite, le premier formant 10,8 % et les trois autres environ 7,4 % de l'ensemble. Les dix acides aminés restants constituent un peu plus de 10 % du total. Après 24 heures de culture, la thréonine l'ornithine, l'acide aspartique et surtout, l'acide glutamique deviennent plus importants. La taurine a complètement disparu du milieu. Les autres acides aminés gardent la même importance. A 72 heures, la proportion de la serine augmente tandis que celle de l'acide glutamique diminue. La part des acides aminés les moins bien représentés augmente pour former 15 % de l'ensemble. La taurine réapparaît à la concentration de $0,049 \mu\text{M.l}^{-1}$ habituellement décelée dans l'eau de mer. Les deux derniers prélèvements à 101 h et 121 h présentent peu de changement par rapport à celui de 72 h.

Il ressort de cette analyse que les algues ont utilisé en 24 heures les $0,470 \mu\text{M.l}^{-1}$ de taurine initialement présents. Parallèlement à la disparition de la taurine, il y a eu un relargage d'acide glutamique vite réabsorbé tandis que thréonine et serine sont doucement libérées dans le milieu pour atteindre les concentrations initialement présentes dans l'eau expérimentale.

L'urée

Les teneurs en urée apparaissent très variables d'un prélèvement à l'autre, oscillant entre 1,71 et $20,74 \mu\text{M.l}^{-1}$. Il est difficile d'extraire de l'ensemble des valeurs observées une quelconque relation.

4.2 - EXPERIENCE DE MAI 1985 AVEC SKELETONEMA COSTATUM

4.2.1 - Evolution de la biomasse algale

Après une période de latence d'environ 20 heures, la population algale se multiplie activement pour atteindre après 118 heures de culture une densité cellulaire maximale de $320 \cdot 10^6$ cell.l⁻¹, soit 2,4 fois plus qu'au cours des tests de fertilité (fig. 26). Les algues se sont donc multipliées 6,18 fois à raison de 1,47 divisions par jour.

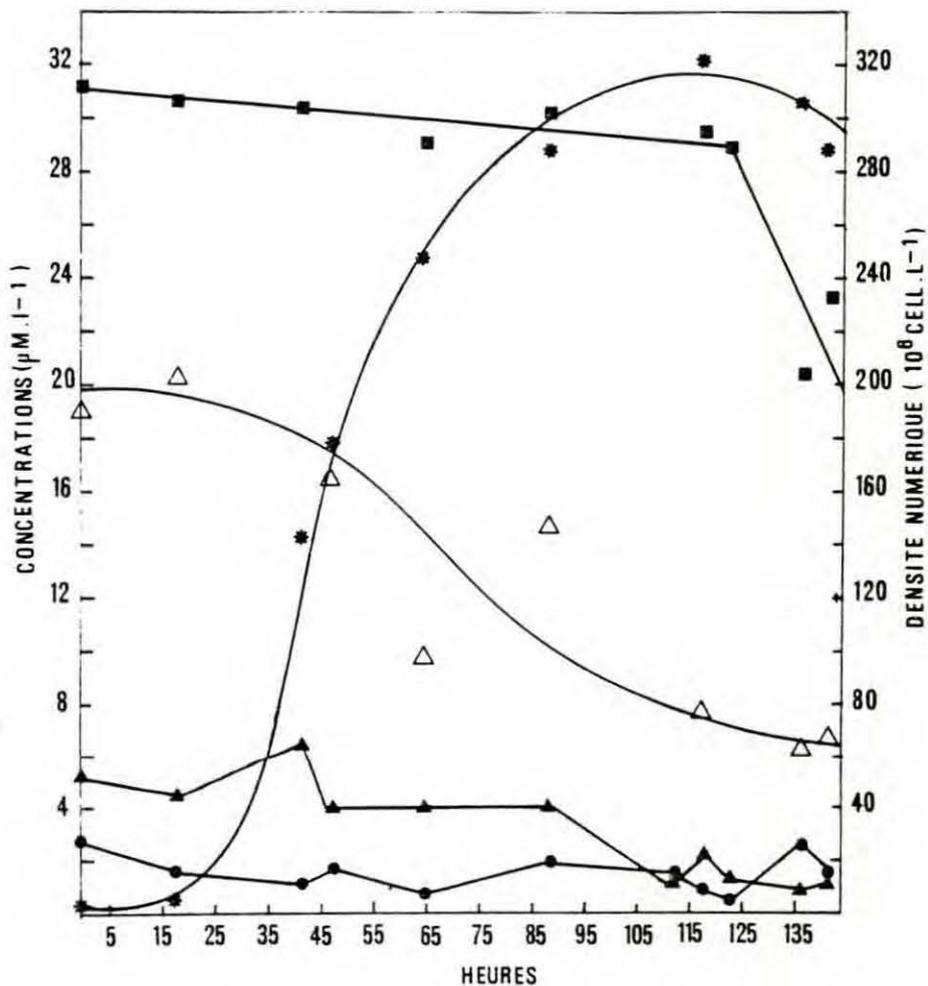


Fig. 26 - Diminution des concentrations en NH_4^+ (●), NO_3^- (▲), Urée (Δ) et azote organique dissous total (■) ; augmentation de la biomasse exprimée en densité numérique en cellules (*) au cours de l'expérience de mai 1985.

4.2.2 - Consommation de l'azote

L'ammoniaque

La teneur en ammoniaque, initialement faible dans l'eau, n'a pas été augmentée par l'excrétion des Huîtres. Les algues sont donc en présence d'un milieu épuisé en ammoniaque.

Les nitrates

Les nitrates, également en faible concentration dans l'eau sont totalement utilisés par les algues.

L'azote organique dissous total

La concentration en azote organique dissous total diminue légèrement pendant les 123 premières heures de l'expérience selon un taux très réduit de $0,016 \mu\text{M.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Les teneurs enregistrées diminuent ensuite en moins de 24 heures de $28,4 \mu\text{M.l}^{-1}$ à environ $20 \mu\text{M.l}^{-1}$. Cette brusque diminution des teneurs en azote organique dissous total correspond à la phase de sénescence de la population algale.

L'urée

L'absorption de l'urée commence à partir de 18 h de culture selon un taux d'abord lent qui s'accélère durant la fin de la phase exponentielle de croissance des algues. En fin de culture la diminution des teneurs en urée devient équivalente à ce qu'elle était au début.

5 - DISCUSSION

5.1 - IMPACT DE L'EXCRETION AZOTEE SUR LA FERTILITE POTENTIELLE DE L'EAU DE MER

Les Huîtres ont apporté dans le milieu où elles séjournent, outre du phosphore minéral et organique, de l'ammoniaque en mars et de l'urée en mai. Ces substances se sont ajoutées aux sels nutritifs initialement présents.

La variabilité des résultats obtenus, déjà observée au cours des tests précédemment réalisés (chapitre II), se retrouve entre les deux expériences de mars et de mai. Néanmoins, un résultat demeure constant et confirme les précédentes observations : la présence des Huîtres est bien responsable de l'amélioration de la fertilité potentielle de l'eau. Cette affirmation est d'autant plus justifiée que, d'une part, il existe une similitude de réponse entre l'eau témoin en début de stabulation (T0), l'eau témoin en fin de stabulation (T5) et l'eau contenant les Huîtres en début de stabulation (H0) ; d'autre part, lorsque les algues sont directementensemencées dans l'eau intervalvaire, elles s'y développent encore plus intensément.

Nous rejoignons les conclusions des auteurs qui ont étudié la régénération de l'azote par les organismes animaux et l'utilisation de l'azote régénérée par le phytoplancton bien que la plupart des travaux portent sur l'excrétion du zooplancton (HARRIS 1959, DUGDALE et GOERING 1967, EPPLEY et al. 1973, JAWED 1973, HARRISSON 1978, HOLLIGAN et al. 1984). SMITH et WHITLEDGE (1977) évoquent cependant le rôle joué par d'autres organismes tels que ceux appartenant au Benthos et au Necton et estiment que ceux-ci fournissent respectivement 35 % et 13 % de l'azote nécessaire à la croissance du phytoplancton ; de même, ROBERT et al. (1982 b) considèrent que la production végétale des claires ostréicoles ne peut s'expliquer sans un apport complémentaire de l'azote excrété par les Huîtres "semées" sur le fond sédimentaire des bassins.

5.2 - UTILISATION DES FORMES MINÉRALES ET ORGANIQUES DE L'AZOTE

5.2.1 - Evolution de la biomasse algale

Si la biomasse maximale produite par P. tricornutum dans la culture de mars est équivalente à celle produite par la même espèce dans l'eau "H5" au cours des tests de fertilité, il n'en est pas de même pour S. costatum en mai. En effet, cette Diatomée s'est développée 2,4 fois plus au cours de la culture qu'au cours des tests. La croissance de S. costatum, avide de phosphore (MARION, 1985) s'est trouvée limitée dans l'eau des tests où, contrairement à l'eau de la culture, aucun enrichissement en silice et phosphore n'a été ajouté.

5.2.2 - Utilisation de l'ammoniaque et des nitrates

En mai, les algues épuisent la totalité de NH_4^+ et NO_3^- présents en faible quantité dans l'eau. En mars, ammoniaque et nitrates ont des concentrations non négligeables (respectivement $13,96 \mu\text{M.l}^{-1}$ et $22,31 \mu\text{M.l}^{-1}$) et leurs cinétiques absorption sont mieux discernables. Il y a utilisation concomitante des deux formes ammoniacale et nitrique dès le début de la culture. Les nitrates sont d'abord absorbés selon un taux réduit puis leur absorption devient maximale et même supérieure à celle de l'ammoniaque lorsque la concentration de celui-ci est de $8,8 \mu\text{M.l}^{-1}$.

L'utilisation simultanée de NH_4^+ et NO_3^- est bien connue mais les auteurs s'opposent quant à la valeur seuil de la concentration en ammoniaque à partir de laquelle il y a absorption concomitante des nitrates. Certains ont montré que l'ammoniaque inhibe l'assimilation des nitrates jusqu'à ce que sa concentration dans le milieu ait diminué à $1 \mu\text{M.l}^{-1}$ (EPPLEY et al., 1969 ; PACKARD et BLASCO, 1974 ; CAPERON et ZIEMAN, 1976 ; Mc CARTHY et al., 1977 ; EPPLEY et al., 1979 ; Mc ISAAC et al., 1979 ; OLSON, 1980 ; GARSIDE, 1981). D'autres auteurs ont montré, par contre, qu'il existe une levée de l'inhibition de la prise des nitrates par l'ammoniaque pour des concentrations d' NH_4^+ supérieures à $30 \mu\text{M.l}^{-1}$. La levée de l'inhibition est d'abord partielle mais elle devient totale pour des concentrations en ion ammonium voisines de $6 \mu\text{M.l}^{-1}$ (MAESTRINI et al., 1982 ; HAFSAOUI, 1984 ; ROBERT et MAESTRINI, 1986). Nos résultats confirment particulièrement bien ces dernières observations.

Les interactions entre les différentes sources d'azote au cours de leur assimilation par les microphytes demeurent confuses (COLLOS et SLAWYK, 1980 ; SYRRET, 1981). DORTCH et CONWAY (1984) évoquent les différents facteurs tant externes que internes qui peuvent intervenir sur l'assimilation de l'ammoniaque et des nitrates par les microalgues et expliquent ainsi les observations variables faites par les différents auteurs.

5.2.3 - Utilisation de l'azote organique dissous

Quelles que soient les concentrations initiales en ammoniacque et en nitrates, l'utilisation de l'azote minéral est accompagnée d'une diminution concomitante de l'azote organique dissous considéré dans son ensemble. Il a été montré que l'azote organique dissous pouvait être directement assimilé par les microphytes (ROBERT et al., 1982 b) simultanément à NH_4^+ et NO_3^- (HAFSAOUI, 1984 ; PRICE et al., 1985) sans modifier les caractéristiques d'assimilation des formes minérales (ROBERT et al., 1986). Cependant, les cinétiques d'absorption des différents substrats organiques ne sont pas similaires pour les deux expériences. Ainsi, l'azote organique dissous total est utilisé de façon continue en mars, alors que son absorption présente deux vitesses de prise en mai. Il est vrai que les conditions de culture ne sont pas les mêmes pour les deux expériences : la réserve du milieu en azote minéral est importante en mars, alors qu'elle est pratiquement inexistante en mai. L'azote organique dissous peut donc constituer une source de remplacement pour les algues en face d'un milieu épuisé en azote. Cependant, la brusque diminution des teneurs de l'azote organique dissous observée en mai est plus probablement due à un développement accru des bactéries du milieu associé à la sénescence de la population algale qu'aux algues elles-mêmes. D'autre part, les algues-tests mises en culture n'appartiennent pas au même genre systématique.

Ainsi, P. tricornutum est en présence d'une réserve d'azote minéral importante, or on sait, depuis Mc CARTHY et EPPLEY (1972) que les composés azotés minéraux et organiques dissous sont prélevés par les microphytes en fonction de leur disponibilité dans le milieu. L'algue utilise cependant les composés organiques autres que l'urée. S. costatum est incubé dans un milieu pauvre en azote minéral ; l'urée est utilisée comme autre source d'azote. Ce composé est prélevé d'autant plus aisément que S. costatum est connu pour présenter une grande affinité pour l'urée : en effet, Mc CARTHY (1972) montra que la constante de demi-saturation (K) pour la prise de ce composé par l'algue est presque

semblable à celle observée pour la prise de NH_4^+ ; de même, HAFSAOUI (1984) observa, au cours de ses expériences, un développement accru de S. costatum dans une population algale naturelle à partir du moment où l'urée est puisé dans le milieu.

5.2.4 - Evolution des acides aminés libres dissous au cours de la croissance de Phaeodactylum tricornutum en mars 1985.

Le fait que la concentration de l'ensemble des acides aminés libres et combinés diminue au cours de la croissance algale, alors que les acides aminés libres dissous totaux considérés seuls demeurent à des concentrations constantes permet de suggérer, comme le fait NORTH (1975) avec Platymonas, que les formes associées à d'autres substances seraient assimilables par P. tricornutum.

Parmi les acides aminés libres, la taurine excrétée par les Huîtres se retrouve en grande quantité en début de culture. Ce composé est généralement peu représenté dans les eaux marines; toutefois, JORGENSEN (1982) le remarqua dans plusieurs échantillons prélevés dans le Fjord Kinsing (Danemark) où il correspondait parfois à près de 20 % de l'ensemble des acides aminés avec une concentration proche de $0,370 \mu\text{M.l}^{-1}$. Quant aux autres, la part relative de chacun d'eux est conforme à ce qui est très généralement observé dans les travaux réalisés sur de nombreuses aires marines que POULET et al. (1985) ont recensés, où les mêmes acides aminés dominent.

La plupart demeurent à la même concentration tout au long de la culture, certains sont libérés dans le milieu au cours de la croissance algale pendant la phase linéaire (THR, GLU, ORN, ASP) et la phase exponentielle (SER). Ces composés, excepté l'acide glutamique, ont été observés parmi ceux relargués par Chaetoceros debile en culture axénique par POULET et MARTINJEZEQUEL (1983) ; cependant les auteurs ont montré que l'excrétion se produit pendant les phases stationnaire et sénescence de la croissance de l'algue. Toutefois, les acides aminés peuvent aussi être excrétés pendant la phase exponentielle comme le montrent BERLAND et al. (1970) sur la Xanthophycée Monallantus salina et HAMMER et al. (1981) sur la Diatomée Thalassiosira rotula.

Seule la taurine semble être assimilée. Sa disparition du milieu se produit rapidement (moins de 24 heures) ce qui pourrait expliquer qu'on la rencontre en faible quantité dans l'eau de mer même dans des aires de forte activité conchylicole, où elle doit être excrétée par les Mollusques en élevage, comme la baie de Morlaix (POULET et al., 1985) ou la baie de Bourgneuf (ROBERT, 1983). Il reste à savoir si la diminution de la concentration de taurine dans l'eau de culture est due à la prise de ce composé essentiellement par les algues, ou à son assimilation hétérotrophe par les bactéries. En effet, AMANO et al. (1982) ont montré que des souches bactériennes pouvaient utiliser des acides aminés libres fournis à des concentrations initiales de 1 mM en 8-12 heures d'incubation. De nombreuses autres études sur l'assimilation hétérotrophe des acides aminés existent, en particulier celles de CRAWFORD et al., 1974 ; WILLIAMS et al., 1976 ; DAWSON et GOCKE, 1978 ; HOLLIBAUG, 1979 ; KELLER et al., 1982 ; LINLEY et al. 1983 mais à notre connaissance aucune a montré une utilisation sélective de la taurine par les bactéries.

Les micro-algues sont aussi capables d'assimiler la matière organique dissoute en présence de lumière. Cette assimilation photohétérotrophe de substances organiques dissoutes par les algues unicellulaires fait également l'objet de nombreux travaux comme le montre les synthèses bibliographiques réalisées sur ce sujet par BONIN et MAESTRINI (1981) et par FLYNN et BUTLER (1986). La capacité à prélever différents acides aminés a été testée pour Phaeodactylum tricornutum (HAYWARD, 1965) et pour d'autres souches algales (WHEELER et al., 1974 ; ADMIRAAL et PELETIER, 1979 ; ROBERT, 1983) mais au cours de ces expériences, la taurine n'apparaît pas être le substrat le plus utilisé pour assurer la croissance algale. Néanmoins, la taurine étant largement représentée parmi l'ensemble des grandes algues (FATTORUSSO et PIATELLI, 1980), on peut avancer par analogie qu'elle présente une grande importance pour les microphytes.

Dans l'état actuel de nos travaux, il ne nous est donc pas possible de montrer quel phénomène conduit à la disparition de taurine dans le milieu. Cependant, ce composé excrété par les Mollusques attire notre attention en ce sens qu'il pourrait peut être expliquer en partie l'amélioration de la fertilité de l'eau observée après l'incubation des Mollusques.

6 - CONCLUSION

L'enrichissement en azote et en phosphore minéraux et organiques dissous, ainsi que l'amélioration de la fertilité potentielle d'une eau de mer après stabulation d'Huîtres sont confirmés.

Les Diatomées Phaeodactylum tricornutum ou Skeletonema costatum, mises en culture dans les eaux ayant contenu les Huîtres utilisent les substances excrétées par les Mollusques et celles initialement présentes dans l'eau. En particulier, en ce qui concerne les formes minérales de l'azote, lorsque leurs concentrations initiales sont suffisantes pour en apprécier les cinétiques d'absorption, comme lors de l'expérience de mars 1985, les nitrates sont puisés simultanément à l'ammoniaque selon un taux d'abord réduit puis plus rapide lorsque la concentration de celui-ci dans le milieu n'est plus que de $8,8 \mu\text{M.l}^{-1}$.

Les teneurs de l'eau en azote organique dissous diminuent également au cours de la croissance algale, simultanément à celles de l'ammoniaque et des nitrates mais les cinétiques d'absorption des différentes formes varient en fonction de la réserve minérale du milieu et de la souche algale mise en culture.

Parmi les composés organiques azotés excrétés par les Mollusques et réutilisés dans la culture algale, on note l'importance de la taurine mise en évidence en mars 1985 par des analyses de teneurs en acides aminés libres dissous. En effet, c'est le seul acide aminé qui soit à la fois excrété de façon significative par les Mollusques et à la fois utilisé sélectivement par les microphytes. Il est donc permis de l'associer aux autres substances azotées excrétées par les Bivalves et responsables de l'amélioration de la fertilité potentielle de leur eau de stabulation.

CHAPITRE 4

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'UTILISATION DE LA TAURINE PAR
SKELETONEMA COSTATUM EN CONDITION NON AXENIQUE ET APRES
TRAITEMENT AUX ANTIBIOTIQUES

- 1 - INTRODUCTION
- 2 - MATERIEL ET METHODES
 - 2.1 - Traitement de l'eau de mer
 - 2.2 - Préparation des solutions enrichissantes
 - 2.3 - Traitement des algues
 - 2.4 - Ensemencement
 - 2.5 - Méthodes d'analyses
- 3 - BIOMASSES PRODUITES PAR SKELETONEMA COSTATUM DANS
LES DEUX CONDITIONS EXPERIMENTALES
 - 3.1 - Nombre de cellules produites par la souche non axénique
 - 3.2 - Nombre de cellules produites par la souche traitée aux
antibiotiques
- 4 - VARIATIONS DES TENEURS EN AZOTE MINERAL DANS LES CUL-
TURES
 - 4.1 - Variations journalières de la teneur en $N-NH_4^+$
 - 4.1.1 - Souche non axénique
 - 4.1.2 - Souche traitée aux antibiotiques
 - 4.2 - Azote minéral total consommé par les algues
- 5 - VARIATION DES CONCENTRATIONS EN TAURINE AU COURS
DE LA CROISSANCE DES ALGUES TRAITEES AUX ANTIBIO-
TIQUES
- 6 - DISCUSSION
 - 6.1 - Contrôle de l'activité bactérienne
 - 6.2 - Biomasses produites
 - 6.3 - Influence de la taurine sur la croissance algale
- 7 - CONCLUSION

CHAPITRE 4

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'UTILISATION DE LA TAURINE
PAR SKELETONEMA COSTATUM EN CONDITION NON AXENIQUE
ET APRES TRAITEMENT AUX ANTIBIOTIQUES

1 - INTRODUCTION

HAINES en 1975 a montré que la Rhodophycée Hypnea musciformis cultivée dans une eau de mer enrichie à la fois en ammoniac, métaux et vitamines présentait une croissance 4 fois supérieure à celle obtenue dans l'eau non enrichie mais inférieure d'un tiers à celle observée dans l'eau provenant d'un bassin d'élevage de Palourdes. Comme cet auteur, nous observons une amélioration de croissance pour des microphytes mises en culture dans une eau de mer ayant contenu des Bivalves. De même, nous montrons l'importance de l'ammoniac, des vitamines et parfois, des métaux excrétés par les Mollusques dans l'amélioration de la croissance algale. Nous mettons de plus en évidence que des substances organiques azotées sont excrétées par les Mollusques et peuvent être utilisées par les algues. Celles-ci pourraient être responsables de l'amélioration de croissance de Hypnea musciformis dans les eaux ayant contenu les Palourdes par rapport aux eaux enrichies en ammoniac, vitamines et métaux. Cette observations conforte les hypothèses émises par ROBERT et al. (1979), MAESTRINI et ROBERT (1981) et ROBERT (1983) qui ont montré que des Diatomées de claires ostréicoles pouvaient utiliser des formes azotées autres que les seules substances minérales.

Parmi ces composés organiques azotés, nous avons pu noter que la taurine pourrait jouer un rôle privilégié. En effet, le composé est excrété en quantité non négligeable par les Huîtres et par les Palourdes. D'autre part, lorsque les microphytes sont mises en culture dans l'eau de stabulation des Mollusques, la taurine excrétée par ces derniers disparaît complètement du milieu. Cependant, il ne nous est pas permis d'évaluer si elle est directement prélevée par les algues ou minéralisée par les bactéries en composés plus simples.

Afin de rechercher si cette substance peut constituer effectivement un des facteurs de l'amélioration de la croissance des microphytes de milieux ostréicoles, la Diatomée Skeletonema costatum a été incubée dans une gamme de cultures enrichies en concentrations croissantes en taurine, en présence de deux types de conditions expérimentales : en présence d'une souche algale non axénique, puis en présence de la même souche traitée aux antibiotiques. La croissance de l'algue est suivie quotidiennement jusqu'à l'obtention de la biomasse maximale. Parallèlement, les teneurs de l'eau en ammoniacque sont dosées afin de mettre en évidence les éventuels processus de minéralisation.

2 - MATERIEL ET METHODES

Pour chacune des expériences, 7 cultures sont réalisées : 1 culture témoin, 1 culture enrichie à $40 \mu\text{M.l}^{-1}$ en nitrates et 5 cultures enrichies en taurine aux concentrations respectives de 0,5, 2,5, 10, 30 et $50 \mu\text{M.l}^{-1}$. La nomenclature utilisée pour chacune d'elles est : T ; NO_3 ; 0,5 TAU ; 2,5 TAU ; 10 TAU ; 30 TAU et 50 TAU.

2.1 - TRAITEMENT DE L'EAU DE MER

Les eaux utilisées proviennent de claires ostréicoles de la baie de Bourgneuf, prélevées en mars 1986 pour la première expérience et en mai 1986 pour la seconde. Ces eaux sont filtrées sur membrane de $0,45 \mu\text{m}$ de porosité, enrichies en silicates et en phosphates aux concentrations respectives de 70 et $4 \mu\text{M.l}^{-1}$ afin que ceux-ci ne soient pas limitants au cours de la croissance algale. La salinité est ramenée à 28 ‰ et le pH à 7,8.

L'eau est alors répartie dans sept erlenmeyers de 250 ml à raison de 100 ml d'eau par flacon pour la première expérience. Pour la deuxième expérience, la prévision de prélèvements en vue d'analyses supplémentaires nous conduit à augmenter le volume des cultures. Sept erlenmeyers de 1 litre contenant chacun 600 ml d'eau de mer ont donc été utilisés. Les flacons de culture sont stérilisés par autoclavage.

2.2 - PREPARATION DES SOLUTIONS ENRICHISSANTES

La solution enrichissante en $N-NO_3^-$ est préparée à partir de nitrate de sodium et est stérilisée par autoclavage.

L'amplitude de la gamme des concentrations de taurine oblige à préparer 2 solutions : la première pour enrichir en 0,5 et 2,5 $\mu M.l^{-1}$ et la deuxième pour enrichir en 10,30 et 50 $\mu M.l^{-1}$. Ces solutions sont stérilisées par filtration sur filtre SARTORIUS de 0,2 μm de vide de pore.

2.3 - TRAITEMENT DES ALGUES

Pour la première expérience, une souche de Skeletonema costatum non axénique cultivée dans du milieu de PROVASOLI est utilisée. Lorsque les cellules algales sont en phase exponentielle de croissance dans le milieu, elles sont mises à incuber dans une eau de mer stérile pauvre en sels nutritifs pendant 4 jours afin qu'elles perdent leurs réserves intracellulaires. Elles sont ensuiteensemencées en différentes cultures expérimentales.

Pour la deuxième expérience, une culture de Skeletonema costatum issue de la même souche que celle utilisée lors de l'expérience précédente est traitée aux antibiotiques : la culture en phase exponentielle de croissance est lavée stérilement plusieurs fois avec du milieu de PROVASOLI afin d'éliminer les bactéries attachées aux cellules. Les Diatomées sont ensuite incubées pendant quatre jours dans un milieu contenant 250 $mg.l^{-1}$ de pénicilline, 125 $mg.l^{-1}$ de streptomycine et 125 $mg.l^{-1}$ de kanamycine. Elles sont ensuite à nouveau lavées etensemencées dans du milieu de PROVASOLI. Un test de contrôle de la contamination bactérienne est réalisé en ajoutant 1 ml de la nouvelle culture dans un tube contenant 10 ml de milieu FAG ou FG (BERLAND et al., 1972). Les tubes sont maintenus à l'obscurité dans une étuve à 22°C. Lorsqu'un trouble apparaît, la culture de Skeletonema costatum est à nouveau traitée aux antibiotiques.

Malgré une durée totale de séjour dans les antibiotiques de 24 jours, la souche de S. costatum n'est toujours pas axénique. Cependant, alors qu'en début de traitement, les tubes de contrôle FAG et FG se troublent 2 jours après leur ensemencement, en

fin de traitement, la durée d'obtention du trouble s'allonge à 4 jours. Nous avons arrêté le traitement de crainte de léser les cellules algales (BERLAND, 1966) tout en considérant que les conditions de forte luminosité et de faible température définies pour les expériences favorisent la croissance des algues aux dépens de celle des bactéries déjà affaiblies par les antibiotiques (BONIN, 1969). Néanmoins, un contrôle de l'activité bactérienne est prévu parallèlement à l'observation de la croissance algale.

La souche de S. costatum traitée est mise en appauvrissement pendant quatre jours avant son ensemencement dans les cultures expérimentales.

2.4 - ENSEMENCEMENT

Chaque erlenmeyer reçoit l'enrichissement qui lui est réservé. Puis les algues sontensemencées à raison de $5 \cdot 10^6$ cell.⁻¹. Les cultures sont mises à incuber sous un éclairage de $30 \cdot 10^{36}$ $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ selon une photopériode de 12 heures de lumière/12 heures d'obscurité à la température de 12°C.

2.5 - METHODES D'ANALYSE

Pour chacune des deux expériences, la croissance algale est suivie, quotidiennement dans chaque erlenmeyer par comptages cellulaires sur cellule hématimétrique NEUBAUER jusqu'à l'obtention de la biomasse maximale. Parallèlement, 5 ml de milieu sont prélevés stérilement à l'aide d'une seringue, filtrés sur filtres WHATMAN GFC de 0,45 μm environ de vide de pore afin d'en déterminer la teneur en ammoniacque selon KOROLEFF (1970) et ainsi, de mettre en évidence des éventuels processus de minéralisation. Dans le même but, les concentrations de l'eau en nitrates et nitrites sont estimées selon STRICKLAND et PARSONS (1972) aux premier et dernier jours de culture.

Pour la deuxième expérience, des analyses supplémentaires sont effectuées : en effet, les acides aminés libres dissous sont dosés par HPLC selon LINDROTH et MOPPER (1979)* aux premier, troisième et dernier jours de croissance afin de suivre l'évolution

* analyses réalisées par Véronique MARTIN-JEZEQUEL de la station biologique de Roscoff.

de la concentration en taurine : environ 50 ml de milieu sont prélevés à l'aide d'une seringue, filtrés aux filtres WHATMAN GFC calcinés de 0,45 μm de porosité, stockés à $- 20^{\circ}\text{C}$ jusqu'au moment des analyses dans des piluliers de verre préalablement lavés à l'eau oxygénée et à l'acide, puis calcinés.

D'autre part, des sous-cultures sur milieu FAG et FG sont réalisées chaque jour afin de suivre l'évolution de la flore bactérienne.

3 - BIOMASSES PRODUITES PAR SKELETONEMA COSTATUM DANS LES DEUX TYPES DE CONDITIONS EXPÉRIMENTALES

3.1 - NOMBRES DE CELLULES PRODUITES PAR LA SOUCHE NON AXENIQUE

La croissance algale débute après un temps de latence de 1 ou 2 jours selon les cultures : 1 jour pour les eaux enrichies en nitrates et celles enrichies à 0,5, 2,5, 10 et 50 $\mu\text{M.l}^{-1}$ de taurine et 2 jours pour l'eau témoin et celle enrichie à 30 $\mu\text{M.l}^{-1}$ de taurine (fig. 27).

L'évolution de la croissance des populations algales est suivie pendant 10 jours mais la production maximale de biomasse dans chaque erlenmeyer est observée entre le 5ème et le 8ème jour selon les cultures : dans l'eau témoin, le maximum de croissance de S. costatum est atteint au 5ème jour et correspond à une densité numérique en cellules de $30.10^6 \text{ cell.l}^{-1}$; en présence de nitrates, S. costatum se multiplie jusqu'au 7ème jour de culture et produit une biomasse équivalente à $55,5 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$ soit presque 2 fois plus élevée que celle observée dans l'eau témoin. Dans l'eau enrichie en 0,5 $\mu\text{M.l}^{-1}$ de taurine, la biomasse maximale produite est équivalente à celle du témoin ($33,3 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$) mais elle est observée après un délai de temps supérieur (8 jours). Dans l'eau où la taurine est ajoutée à la concentration de 2,5 $\mu\text{Molaire}$, les cellules de S. costatum se multiplient jusqu'au 6ème jour de culture pour atteindre une densité numérique de $33,3 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$. Lorsque l'enrichissement en taurine atteint des concentrations égales ou supérieures à 10 $\mu\text{M.l}^{-1}$, les biomasses produites par l'algue sont supérieures à celles enregistrées dans l'eau enrichie en nitrates : pour 10 $\mu\text{M.l}^{-1}$, le maximum

de biomasse est produit au 8ème jour de culture et est de $62,2 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$; pour $30 \mu\text{M.l}^{-1}$, le nombre maximal de cellules produites par litre de milieu est de $86 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$ au 7ème jour ; enfin, pour $50 \mu\text{M.l}^{-1}$, la biomasse maximale est également observée au 7ème jour de culture mais est inférieure à la précédente, soit $71,1 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$.

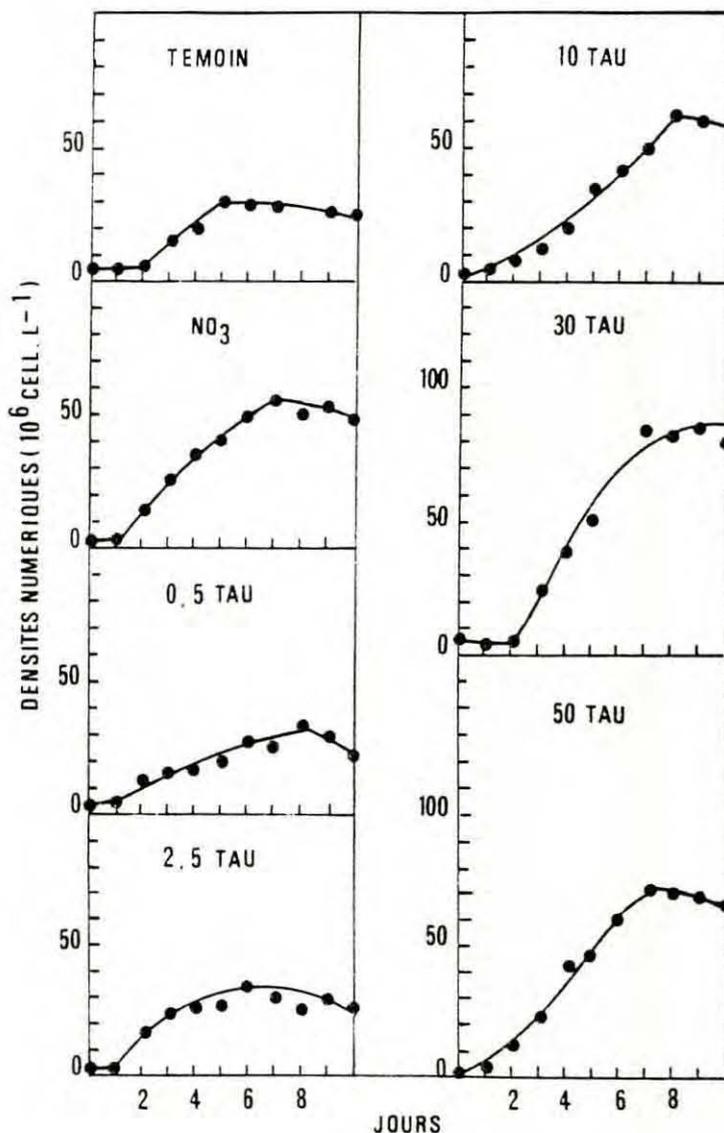


Fig. 27 - Evolution, au cours du temps, de la biomasse algale, exprimée en densité numérique en cellules, dans la culture témoin, la culture enrichie en nitrates et celles enrichies en concentrations croissantes de taurine,ensemencées avec la souche de *Skeletonema costatum* non axénique.

3.2 - NOMBRES DE CELLULES PRODUITES PAR LA SOUCHE TRAITE AUX ANTI-BIOTIQUES

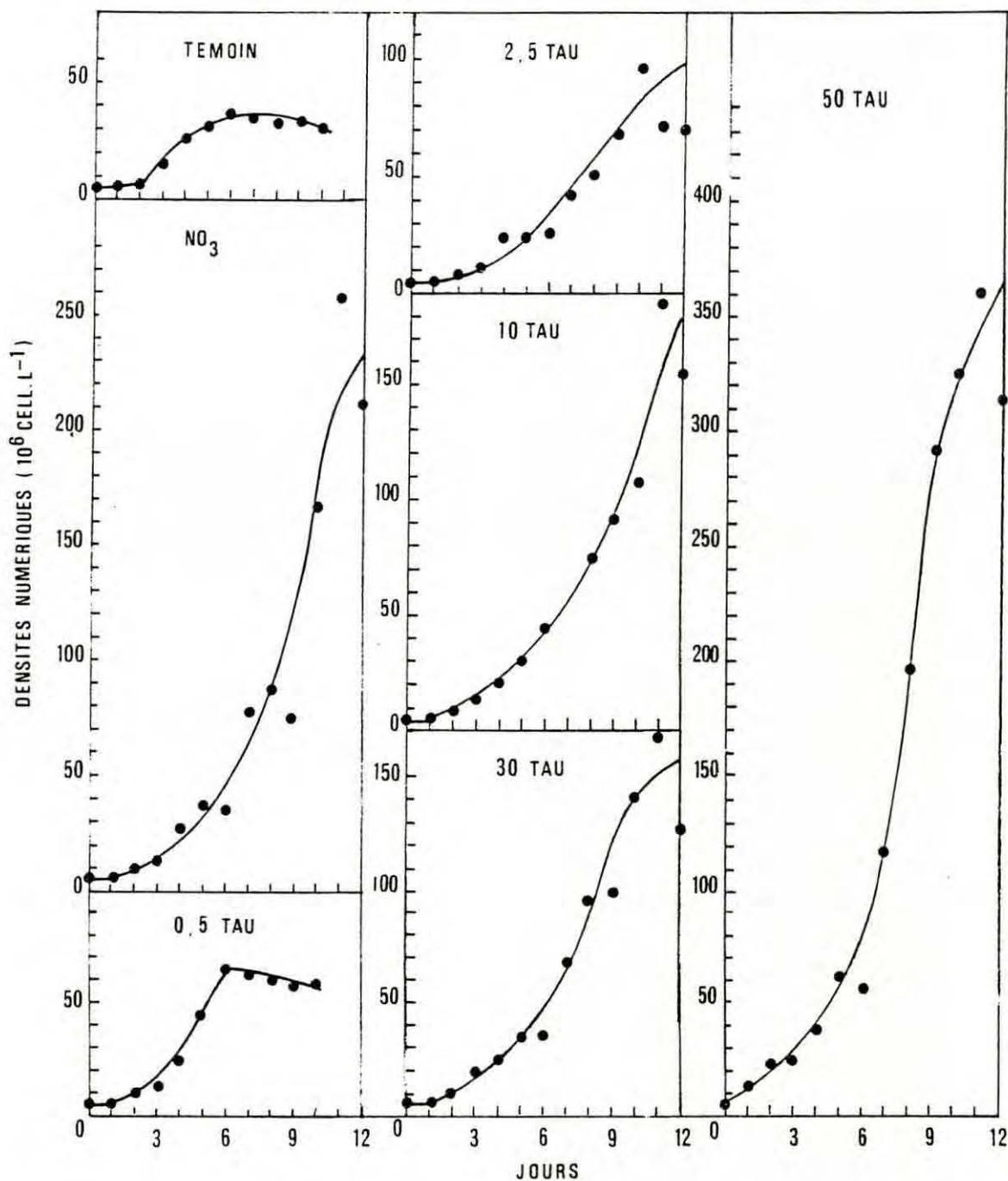


Fig. 28 - Evolution, au cours du temps, de la biomasse algale, exprimée en densité numérique en cellules, dans la culture témoin, la culture enrichie en nitrates et celles enrichies en concentrations croissantes de taurine,ensemencées avec la souche de Skeletonema costatum traitée aux antibiotiques.

Alors que la culture témoin présente un temps de latence de 2 jours avant que la croissance algale ne débute, la culture enrichie en nitrates et celles enrichies en taurine aux concentrations de 0,5, 2,5, 10 et 30 $\mu\text{M.l}^{-1}$ ont un temps de latence réduit à un jour (fig. 28). Dans la culture enrichie à 50 $\mu\text{M.l}^{-1}$ en taurine, celui-ci a même disparu et les algues se multiplient dès leur ensemencement.

Dans l'erlenmeyer témoin et celui enrichi en 0,5 $\mu\text{M.l}^{-1}$ en taurine, la biomasse maximale produite par Skeletonema costatum est observée au 6ème jour de culture. Dans les autres erlenmeyers, c'est au 11ème jour que la densité numérique en cellules est la plus élevée.

Les algues ensemencées dans la culture témoin atteignent une biomasse de $37,7 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$ au maximum de leur croissance. Dans l'eau enrichie en nitrates, la biomasse maximale enregistrée est près de 7 fois supérieure à celle observée dans le témoin soit $258,8 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$. Dans l'eau enrichie en taurine à la concentration de 0,5 $\mu\text{M.l}^{-1}$, la biomasse maximale, exprimée en densité numérique en cellules, de $64,4 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$, est quasiment double de celle du témoin. Celles observées dans les erlenmeyers de culture enrichis à 2,5, 10 et 30 $\mu\text{M.l}^{-1}$ en taurine sont nettement supérieures à celle du témoin mais encore inférieures à celle enregistrée dans l'eau enrichie en nitrates, respectivement $97,7 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$, $186,6 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$ et $167,7 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$. Quant à la culture enrichie à 50 $\mu\text{M.l}^{-1}$, la croissance algale dépasse nettement celle observée dans l'eau contenant les nitrates puisque la densité numérique en cellules atteint alors $361,6 \cdot 10^6 \text{ cell.l}^{-1}$.

4 - VARIATIONS DES TENEURS EN AZOTE MINÉRAL DANS LES CULTURES

4.1 - VARIATIONS JOURNALIÈRES DE LA TENEUR EN N-NH_4^+

4.1.1 - Souche non axénique

Dans la culture témoin, la teneur en N-NH_4^+ diminue rapidement pendant les deux premiers jours de culture de 3,8 à 1,16 $\mu\text{M.l}^{-1}$ puis plus lentement au 3ème jour pour atteindre 0,80 $\mu\text{M.l}^{-1}$ (fig.29).

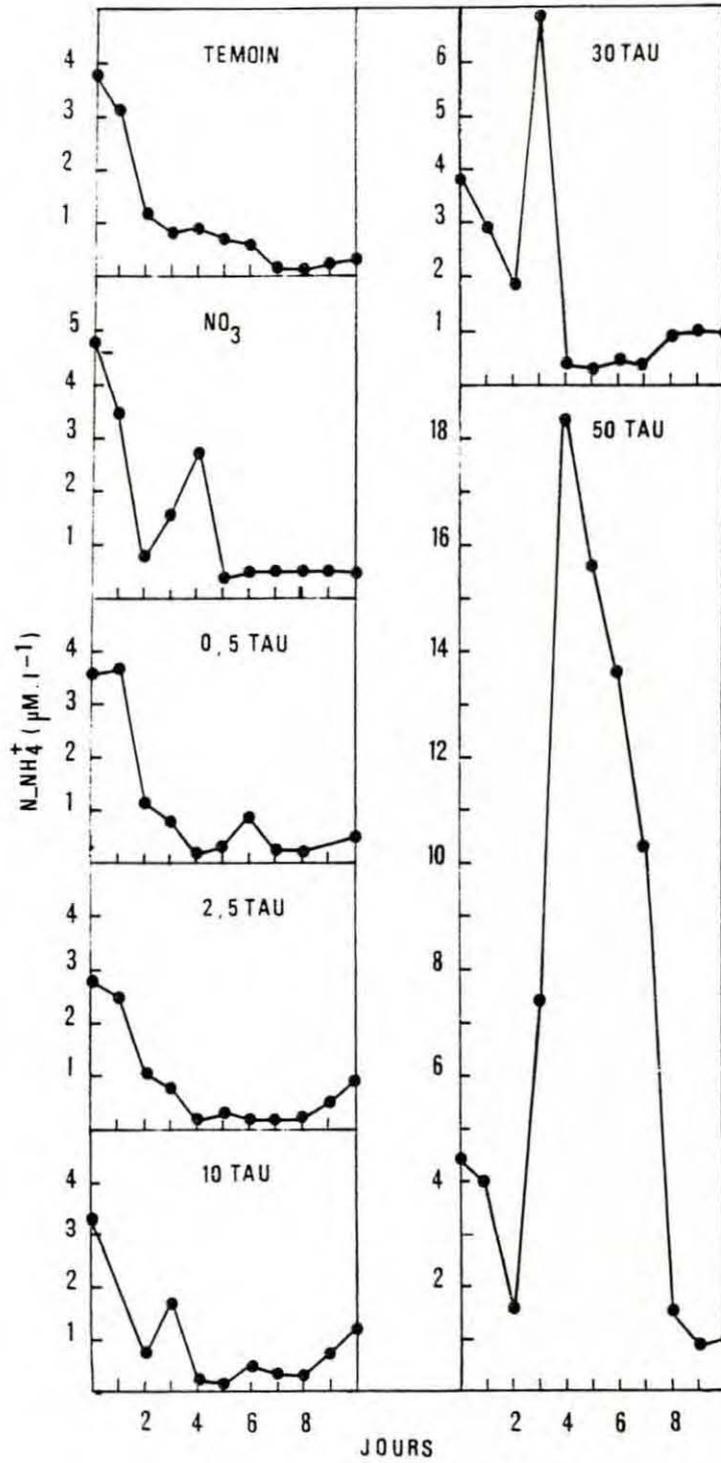


Fig. 29 - Evolution, au cours du temps, des teneurs en $N-NH_4^+$ dans la culture témoin, la culture enrichie en nitrates et celles enrichies en concentrations croissantes en taurine,ensemencées avec la souche de Skeletonema costatum non axénique.

Au 4ème jour de la croissance algale, la concentration en ammoniacque augmente légèrement ($0,90 \mu\text{M.l}^{-1}$) puis diminue pour atteindre des valeurs très faibles ($0,10 \mu\text{M.l}^{-1}$) au 7ème jour. En fin de culture, un léger relargage d'ammoniacque est observé à cause de la senescence de la population algale.

Dans la culture enrichie à $40 \mu\text{M.l}^{-1}$ en nitrates, une diminution rapide des teneurs en ammoniacque s'observe pendant les deux premiers jours, comme par la culture témoin. Elle est suivie d'une augmentation très nette de la concentration en N-NH_4^+ pendant les 2 jours suivants de $0,8$ à $2,7 \mu\text{M.l}^{-1}$ laissant supposer l'intervention de bactéries dénitrifiantes. L'ammoniacque libéré dans le milieu est immédiatement repris. La teneur de ce composé n'est plus que de $0,4 \mu\text{M.l}^{-1}$ au 5ème jour de culture et le restera jusqu'à la fin.

Dans la culture enrichie à $0,5 \mu\text{M.l}^{-1}$ en taurine, l'ammoniacque n'est consommé qu'après une journée de temps de latence. Sa concentration diminue alors brusquement de $3,7$ à $1,1 \mu\text{M.l}^{-1}$ puis plus lentement jusqu'à $0,2 \mu\text{M.l}^{-1}$ au 4ème jour de culture. La concentration en N-NH_4^+ augmente ensuite légèrement pour former un "pic" de $0,9 \mu\text{M.l}^{-1}$ au 6ème jour de croissance probablement dû à l'activité de minéralisation de taurine par des bactéries. Un léger relargage s'observe également en fin de croissance algale.

La culture enrichie à $2,5 \mu\text{M.l}^{-1}$ de taurine présente une diminution de sa teneur en ammoniacque de $2,8 \mu\text{M.l}^{-1}$ à $0,2 \mu\text{M.l}^{-1}$ pendant les 4 premiers jours de croissance algale. L'ammoniacque demeure ensuite à la concentration voisine de $0,2 \mu\text{M.l}^{-1}$ sauf à la fin où un relargage est visible.

Pour les cultures enrichies en taurine à $10,30$ et $50 \mu\text{M.l}^{-1}$, les concentrations en ammoniacque évoluent de façon similaire dans les trois cultures mais à des amplitudes différentes : on observe d'abord une consommation de l'ammoniacque initialement présent jusqu'au 2ème jour de culture, puis une brusque augmentation de sa concentration atteignant une valeur d'autant plus forte que l'enrichissement en taurine est élevé : $1,62 \mu\text{M.l}^{-1}$

pour la culture enrichie à $10 \mu\text{M.l}^{-1}$, $6,89 \mu\text{M.l}^{-1}$ pour celle à $30 \mu\text{M.l}^{-1}$ et $18,37 \mu\text{M.l}^{-1}$ pour celle à $50 \mu\text{M.l}^{-1}$. La taurine apportée apparaît donc être rapidement minéralisée par les bactéries. La forme minérale libérée est ensuite reprise par les algues jusqu'à son épuisement dans le milieu. Un relargage d'ammoniaque s'observe en fin de croissance algale pour les cultures enrichies à 10 et $30 \mu\text{M.l}^{-1}$ en taurine.

4.1.2 - Souche traitée aux antibiotiques

La concentration en ammoniaque diminue de $3,07$ à $1,22 \mu\text{M.l}^{-1}$ lors des deux premiers jours de la culture témoin (fig. 30). Elle augmente jusqu'à $1,62 \mu\text{M.l}^{-1}$ les 3 jours suivants puis diminue à nouveau jusqu'à la fin.

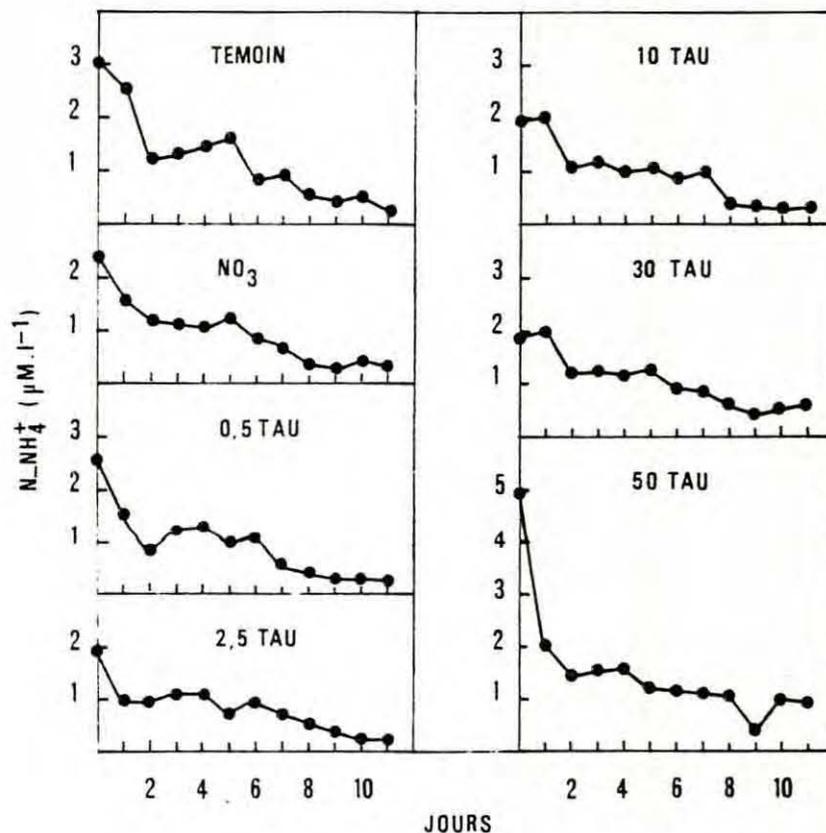


Fig. 30 - Evolution, au cours de temps, des teneurs en N-NH_4^+ dans la culture témoin, la culture enrichie en nitrates et celles enrichies en concentrations croissantes en taurine,ensemencées avec la souche de *Skeletonema costatum* traitée aux antibiotiques.

Cette évolution des teneurs en ammoniacque se retrouve dans la culture enrichie en nitrates et celles enrichies en taurine aux concentrations de 0,5 et 2,5 $\mu\text{M.l}^{-1}$: diminution rapide des concentrations jusqu'au 2ème jour, ralentissement ou même légère augmentation entre la 2ème et le 6ème jour de croissance algale suivie d'une nouvelle diminution des concentrations jusqu'à des valeurs proches de l'épuisement.

Dans les cultures enrichies à 10 et 30 $\mu\text{M.l}^{-1}$ en taurine, l'ammoniacque n'est utilisé qu'après 1 jour de culture. On observe également un ralentissement de la consommation de N-NH_4 entre les 2ème et 7ème jours puis une reprise jusqu'à la fin.

La teneur initiale en ammoniacque de la culture enrichie à 50 $\mu\text{M.l}^{-1}$ de taurine est de 4,92 $\mu\text{M.l}^{-1}$ alors que dans les autres cultures, elle est proche d'une valeur moyenne de 1,88 $\mu\text{M.l}^{-1}$. Après 2 jours de culture, la concentration en N-NH_4^+ n'est plus que de 1,43 $\mu\text{M.l}^{-1}$ et demeure proche de cette valeur jusqu'au 5ème jour où elle commence à diminuer doucement. Une reprise de la consommation s'amorce au 8ème jour mais elle est immédiatement suivie d'un relargage.

4.2 - Azote minéral total consommé par les algues

Les eaux prélevées en mars sont légèrement plus riches en N-NH_4^+ que celles prélevées en mai ; les algues en conditions non axéniques,ensemencées dans les eaux de mars ont prélevé en moyenne presque deux fois plus d'ammoniacque que les algues traitées aux antibiotiques etensemencées dans les eaux de mai (tabl. 31). De plus, si on tient compte des apports d'ammoniacque dûs à la minéralisation (fig. 29), les Diatoméesensemencées dans les cultures de mars enrichies à 40 $\mu\text{M.l}^{-1}$ en nitrates et à 10,30 et 50 $\mu\text{M.l}^{-1}$ en taurine ont respectivement consommé non plus 4,3, 3,0, 3,4 et 3,5 $\mu\text{M.l}^{-1}$ d' N-NH_4^+ (tabl. 30) mais 6,2, 3,9, 8,5 et 20,32 $\mu\text{M.l}^{-1}$ d'ammoniacque.

Les teneurs en nitrates + nitrites sont évaluées en début et fin de chaque culture algale. Les eaux de mars sont initialement

plus riches que les eaux de mai car la teneur moyenne en $N-NO_2 + NO_3$ est de $39,4 \mu M.l^{-1}$ pour les premières et $10,8 \mu M.l^{-1}$ pour les secondes. La somme de nitrates + nitrites consommés est par conséquent beaucoup plus faible au cours de l'expérience de mai (tabl. 31). Cependant, malgré la faible quantité de nitrates et nitrites en mai, les algues ont utilisé un pourcentage de sels disponibles moins important qu'en mars (tabl. 30).

En conséquence, l'azote minéral total est proportionnellement moins consommé dans les conditions expérimentales de mai que dans celles de mars (tabl. 30).

souche non axénique						
	N-NH ₄ consommé		N-NO ₂ + NO ₃ consommé		Σ N consommé	
	$\mu M.l^{-1}$	%	$\mu M.l^{-1}$	%	$\mu M.l^{-1}$	%
T	3,7	97,4	38,6	98,5	42,3	98,4
NO ₃	4,3	89,6	54,8	67,8	59,1	69,1
0,5 TAU	3,4	94,4	35,7	94,3	39,1	94,3
2,5 TAU	2,6	92,8	37,5	96,3	40,1	96,2
10 TAU	3,0	89,5	36,9	94,3	39,9	93,9
30 TAU	3,4	89,5	37,0	94,4	40,4	93,9
50 TAU	3,5	79,5	34,9	85,1	38,4	84,5

souche traitée aux antibiotiques						
	N-NH ₄ consommé		N-NO ₂ + NO ₃ consommé		Σ N consommé	
	$\mu M.l^{-1}$	%	$\mu M.l^{-1}$	%	$\mu M.l^{-1}$	%
T	2,8	91,5	5,4	64,8	8,3	72,0
NO ₃	2,1	88,5	12,8	25,2	14,9	28,1
0,5 TAU	2,3	91,4	4,7	52,6	7,1	61,3
2,5 TAU	1,6	87,4	7,8	66,6	9,4	69,4
10 TAU	1,6	83,6	7,1	60,8	8,7	64,1
30 TAU	1,5	77,3	6,6	57,0	8,1	59,8
50 TAU	4,4	90,0	9,5	77,1	13,9	80,8

Tableau 30 - Azote minéral consommé dans les cultures de *Skeletonema costatum* en condition non axénique puis après traitement aux antibiotiques. Les quantités et les pourcentages par rapport aux quantités initiales sont précisés.

5 - VARIATIONS DES CONCENTRATIONS EN TAURINE AU COURS DE LA CROISSANCE DES ALGUES TRAITÉES AUX ANTIBIOTIQUES

A l'analyse, on note une absence de taurine dans les eaux témoin et enrichie en nitrates (tabl. 31).

Dans les autres cultures, la taurine apportée expérimentalement est toujours présente au 3ème jour de croissance algale. En fin de culture, c'est-à-dire après 10 jours pour celle enrichie à $0,5 \mu\text{M.l}^{-1}$ et après 12 jours pour les autres, une diminution des concentrations s'observe.

	Début			3ème jour			fin		
	$\mu\text{M.l}^{-1}$			$\mu\text{M.l}^{-1}$			$\mu\text{M.l}^{-1}$		
T	0			0			0		
NO ₃	0			0			0		
0,5 TAU	0,479			0,463			0,443		
2,5 TAU	2,569			2,509			2,497		
10 TAU	12,265			12,611			10,982		
30 TAU	29,939			29,480			27,302		
50 TAU	45,205			46,071			43,326		

Tableau 31 - Variations des concentrations en taurine en début, au troisième jour et en fin de culture au cours de l'expérience réalisée avec la souche de *Skeletonema costatum* traitée aux antibiotiques.

On peut en outre remarquer que la taurine est d'autant plus consommée qu'elle est fournie aux cultures en concentration croissante jusqu'à une valeur optimale de $30 \mu\text{M.l}^{-1}$ (fig. 31).

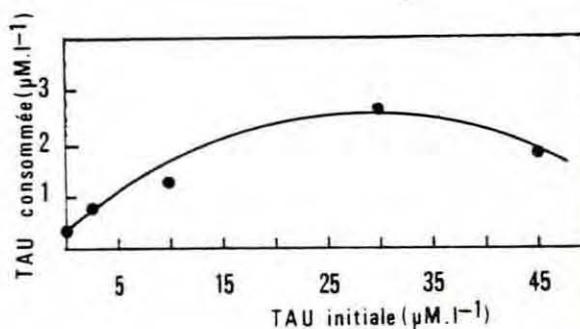


Fig. 31 - Consommation de taurine par les cellules de *Skeletonema costatum* traitées aux antibiotiques en fonction de la concentration initiale de ce composé dans les cultures.

6 - DISCUSSION

6.1 - CONTROLE DE L'ACTIVITE BACTERIENNE

Malgré le traitement aux antibiotiques, la souche de *Skeletonema costatum* utilisée en mai n'est pas axénique. Des sous-cultures sur milieux FAG et FG sont donc réalisées quotidiennement à partir de chacune des cultures algales afin de contrôler le développement des bactéries : jusqu'au 7ème jour des cultures algales, les milieux FAG et FG se troublent 4 jours après leur ensemencement. Ensuite, c'est 3 jours puis 2 jours après l'ensemencement des sous-cultures que le trouble apparaît. Les conditions d'incubation des sous-cultures étant optimales pour le développement des bactéries (22°C à l'obscurité), nous estimons que le nombre des bactéries est demeuré faible jusqu'à la fin des croissances algales.

Cependant, le ralentissement de la diminution des teneurs en $N-NH_4^+$ observé en mai dans toutes les cultures entre le 2ème et le 7ème jour (fig. 30) laisserait supposer l'intervention de bactéries dont l'activité de minéralisation pourrait libérer de l'ammoniaque. Toutefois, l'activité de minéralisation par

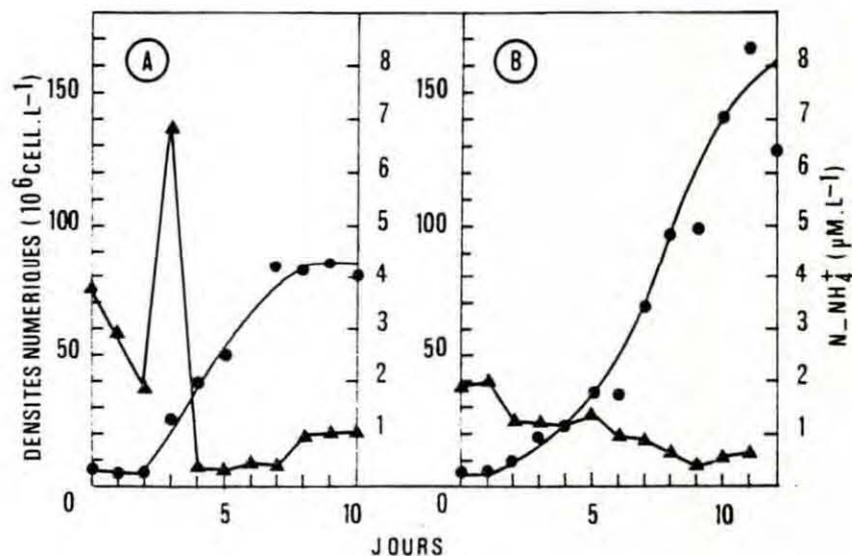


Fig. 32 - Evolutions au cours du temps des biomasses algales, exprimées en densités numériques en cellules, (●) et des teneurs en $N-NH_4^+$ (▲) des cultures enrichies à $30 \mu M.l^{-1}$ en taurine et ensemencées avec la souche de *Skeletonema costatum* non traitée (A) et traitée (B) aux antibiotiques.

les bactéries semble bien affaiblie par rapport à ce que l'on peut observer en présence de la souche non traitée pour laquelle se traduit en culture une libération importante d'ammoniaque: la comparaison des deux conditions de culture est résumé dans l'exemple décrit en figure 32.

6.2 - BIOMASSES PRODUITES

Pour un enrichissement équivalent, les eaux de mars et de mai, comparées deux à deux, produisent des biomasses différentes. En effet, les densités numériques en cellules obtenues dans les eaux de mai sont nettement supérieures à celles obtenues dans les eaux de mars alors que ces dernières renferment des teneurs en azote minéral beaucoup plus élevées.

De récents travaux de ROBERT et al., non encore publiés, réalisés sur une souche de Skeletonema costatum de même origine que celles utilisées au cours de ces expériences ont permis de mettre en évidence une relation linéaire entre le nombre de cellules et l'azote particulaire produits par les algues en culture. L'équation de la droite de régression calculée par ces auteurs est :

$$y = 0,13 x + 1,23 \quad r^2 = 0,83$$

où y correspond à l'azote particulaire produit, et x au nombre de cellules produites.

Il nous est donc permis de calculer la biomasse produite sous forme d'azote particulaire à partir des résultats exprimés en densité numérique en cellules pour chacune des cultures réalisées (tabl. 33).

Si l'on considère qu'il existe une correspondance entre l'azote minéral prélevé et l'azote particulaire produit, comme cela a pu être vérifié par ailleurs au cours des travaux antérieurs avec des populations naturelles de phytoplancton (VINCENDEAU, 1982), nous constatons que pour la souche non axénique, il existe une très nette déficience de l'azote particulaire produit (tabl. 32) par rapport à l'azote minéral prélevé (tabl. 31).

Cultures	Souche non axénique	Souche traitée aux antibiotiques
	$\mu\text{M.l}^{-1}$	$\mu\text{M.l}^{-1}$
T	5,13	6,13
NO ₃	8,44	34,87
0,5 TAU	5,56	9,60
2,5 TAU	5,56	13,93
10 TAU	9,31	25,48
30 TAU	12,41	23,03
50 TAU	10,47	48,23

Tableau 32 - Azote particulaire produit calculé à partir du nombre de cellules produites d'après la relation établie par ROBERT *et al.*

Les travaux de WHEELER et KIRCHMANN (1986) concernant l'utilisation de l'azote inorganique par les bactéries permettent de suggérer que l'azote minéral a pu être utilisé à la fois par les algues et par les bactéries. Au contraire, avec la souche traitée, l'azote particulaire produit dépasse nettement l'azote minéral prélevé. Dans ce cas, il semble que les cellules algales aient utilisé une autre source d'azote. Nous pouvons émettre l'hypothèse que le traitement aux antibiotiques ait modifié les caractéristiques de croissance des algues comme l'a d'ailleurs déjà souligné BONIN en 1969 et ainsi, stimulé la croissance algale comme l'ont observé BERLAND et MAESTRINI en 1969 lorsqu'ils utilisaient de faibles concentrations en antibiotiques. Mais nous pouvons aussi émettre l'hypothèse que les algues, en absence de bactéries, utilisent directement la taurine apportée dans le milieu ou tout autre composé organique azoté initialement présent.

6.3 - INFLUENCE DE LA TAURINE SUR LA CROISSANCE ALGALE

L'apport de taurine dans l'eau de culture améliore la croissance algale dans les deux conditions expérimentales. En effet, les algues se multiplient davantage dans les eaux enrichies en taurine que dans les eaux témoins.

Les densités numériques cellulaires maximales sont d'autant plus élevées que l'enrichissement en taurine est important sauf exceptionnellement la culture enrichie à $50 \mu\text{M.l}^{-1}$ en mars et celle enrichie à $30 \mu\text{M.l}^{-1}$ en mai (fig. 33). De plus, au cours de cette dernière période, le temps de la tence précédant la croissance algale diminue lorsque la concentration de taurine apportée augmente (fig. 28).

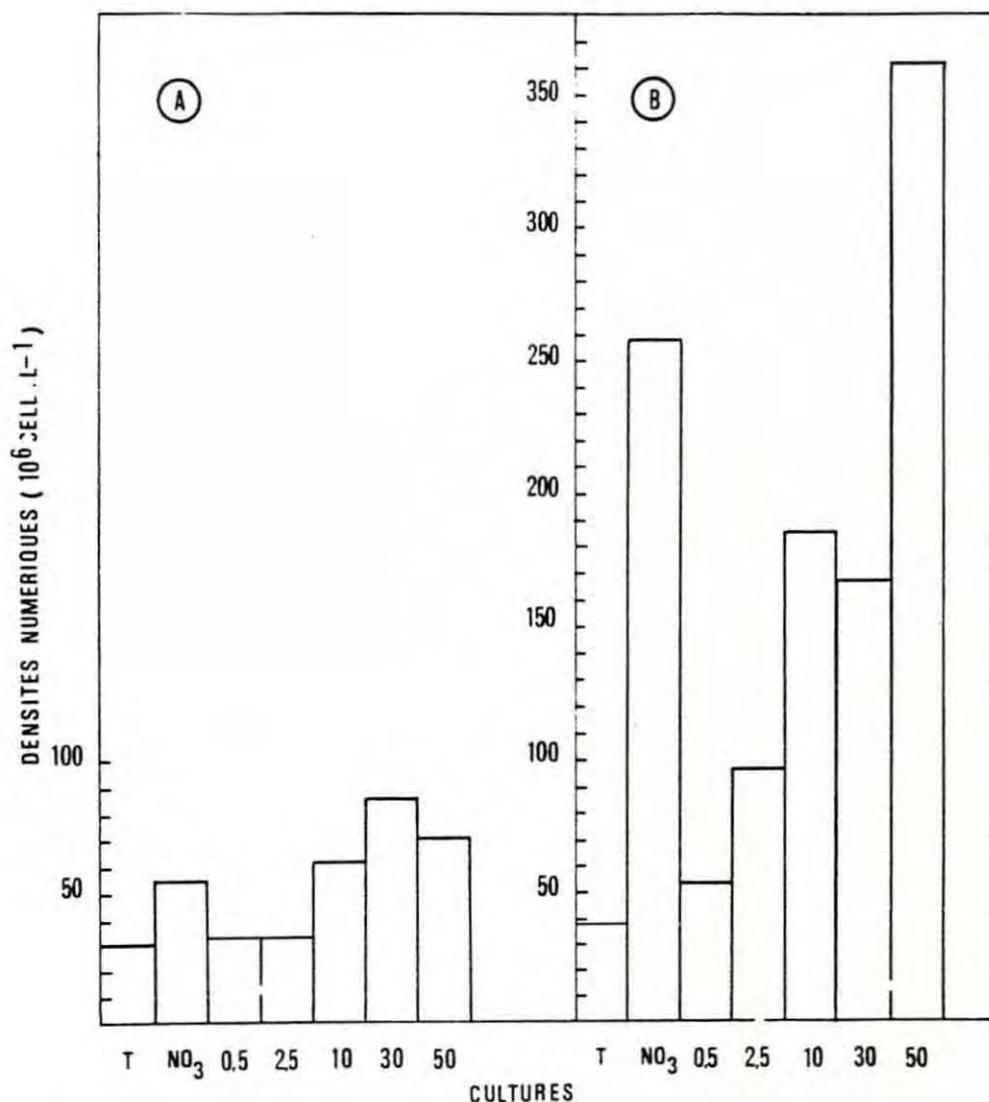


Fig. 33 - Biomasses algales maximales, exprimées en densité numérique en cellules, obtenues dans les différentes cultures au cours des deux expériences.

A : Expérience de mars avec la souche de *Skeletonema costatum* non axénique

B : Expérience de mai avec la souche de *Skeletonema costatum* traitée aux antibiotiques.

Lorsque, dans les conditions non axéniques, l'enrichissement en taurine est supérieur à $10 \mu\text{M.l}^{-1}$, la croissance des algues dépasse celle observée dans l'eau enrichie à $40 \mu\text{M.l}^{-1}$ en nitrates. Avec la souche traitée aux antibiotiques, il faut en revanche que l'enrichissement en taurine atteigne $50 \mu\text{M.l}^{-1}$ pour que cela se produise. Plusieurs auteurs ont comparé la multiplication de plusieurs souches d'algues microphytes sur de la taurine avec celle obtenue en présence de nitrates : dans la plupart des cas, ils n'ont pas observé d'amélioration de la croissance tout en travaillant à des concentrations élevées, de $100 \mu\text{M.l}^{-1}$ (ROBERT, 1983) et même 2 et 4 mM. (HAYWARD, 1965). Cependant, BONIN et MAESTRINI (1981) insistent bien sur le fait que les conditions de culture influent beaucoup sur les résultats et que des conclusions contradictoires peuvent alors être émises par différents auteurs. Le nombre restreint d'expérimentations ne nous permet pas d'énoncer une conclusion définitive. Certes, les teneurs en taurine ont diminué à la fin de chacune des cultures, mais la taurine consommée ne peut à elle seule expliquer l'amélioration de biomasse produite. Elle ne permet pas non plus de stimuler la consommation d'azote minéral (tabl. 30) sauf dans le cas où sa minéralisation par les bactéries fournit de l'ammoniaque. Nous pouvons seulement émettre l'hypothèse que son addition dans le milieu pourrait stimuler la prise d'une autre source d'azote présente sous forme organique dissoute. Cet aspect spécifique devrait être développé à l'avenir afin de déterminer les constantes physiologiques de l'algue vis-à-vis du substrat taurine.

7 - CONCLUSION

Au terme de cette première étude, plusieurs conclusions peuvent déjà être émises : tout d'abord, il est difficile d'éliminer les bactéries d'une souche de Skeletonema costatum non axénique. Le traitement aux antibiotiques permet toutefois d'affaiblir la flore bactérienne. Simultanément, ce traitement modifierait les caractéristiques de croissance des algues et améliorerait leur production de biomasse. Quant à la taurine, nous vérifions qu'elle favorise la croissance de Skeletonema costatum. Dans des conditions non axéniques, elle est en partie minéralisée

par les bactéries présentes dans le milieu et est alors disponible sous forme d'ammoniaque pour les Diatomées. Mais en conditions axéniques, alors qu'elle n'est pas minéralisée, elle est directement prélevée par les algues. Plus encore, il semble qu'elle favorise la prise d'autres composés qu'il conviendrait de définir par de nouvelles expérimentations au cours desquelles des dosages d'azote organique dissous, et même de vitamines ou de métaux seraient associés à ceux déjà réalisés dans le cadre de cette étude.

CONCLUSION GENERALE

L'étude expérimentale présentée confirme bien les observations faites in situ par d'autres auteurs dans les aires conchylicoles: il y a enrichissement des eaux marines en substances dissoutes par les Mollusques mis en élevage ; la présence de ces substances modifie la qualité nutritionnelle des eaux vis-à-vis des microphytes des milieux néritiques et paraliques.

Tout d'abord, l'étude in vitro de l'excrétion des Huîtres et des Palourdes permet d'expliquer en partie l'origine de la richesse en substances minérales et organiques habituellement observée dans les eaux baignant les parcs d'élevage ou les aires d'affinage . En effet, au contact de ces Mollusques, l'eau de mer s'enrichit en azote minéral (ammoniaque) et organique dissous (urée, acides aminés, autres substances azotées non identifiées) ainsi qu'en phosphore, également sous les formes minérales et organiques dissoutes. Ces différentes substances sont excrétées en quantités variables selon les saisons en fonction de facteurs externes et internes agissant simultanément sur le métabolisme des Bivalves. Bien que la qualité des apports varie d'une période de l'année à une autre, leurs quantités demeurent constantes. Ainsi , l'enrichissement en azote et en phosphore, qu'elles qu'en soient les formes, est permanent dans les milieux d'élevage et est d'autant plus élevé que la quantité des Mollusques présents est grande. Ces substances excrétées s'ajoutent à celles déjà présentes dans le milieu par le renouvellement de l'eau, les apports terrigènes et les échanges avec le sédiment. Cependant cet enrichissement de l'eau est différentiel et par conséquent, l'excrétion des Mollusques modifie les rapports des concentrations entre les différents éléments.

Ainsi, les microphytes de milieux ostréicoles sont mis en présence d'une eau de mer dont les concentrations en certains éléments sont plus importantes et en proportions relatives différentes que dans la situation des microphytes des zones plus océaniques.

Il a déjà été observé que la croissance potentielle d'un peuplement algal naturel se trouvait améliorée dans les eaux surnageant des parcs ou confinées dans les claires ostréicoles par rapport à des eaux du large. Cette observation réalisée sur des échantillons naturels est confirmée ici par la comparaison entre la fertilité potentielle d'eaux ayant contenu expérimentalement des Huîtres ou des Palourdes et celle d'eaux témoins n'ayant pas été mises en contact avec les Mollusques, en utilisant trois Diatomées-tests dominantes des milieux ostréicoles. La preuve est donc bien apportée que l'amélioration de la fertilité d'eaux conchylicoles est en partie due à l'apport de substances nutritives par les Mollusques. Cette observation est d'autant plus justifiée que l'étude des rendements de l'utilisation de l'azote minéral et organique excrété par ces derniers permet d'expliquer l'amélioration, observée par d'autres auteurs, des rendements de l'utilisation de l'azote minéral (indices de fertilité) d'eaux de claires chargées en Huîtres, par rapport à ceux caractérisant les eaux d'alimentation des bassins.

La portée du facteur excrétion d'azote par les Mollusques, est d'autant plus importante que les algues de ces milieux ont elles-mêmes un comportement particulier vis-à-vis de cet élément. En effet, il a été montré que, alors que le plancton océanique n'utilise les nitrates que lorsque la concentration en ammoniacque du milieu n'est plus que de $1 \mu\text{M.l}^{-1}$, les Diatomées des claires ostréicoles les prélèvent pour des concentrations en ammoniacque au moins dix fois plus élevées. Au cours de cette étude expérimentale, nous avons pu également confirmer que les microphytes utilisent les nitrates du milieu simultanément à l'ammoniacque initialement présent et apporté par les Mollusques, alors que celui-ci est encore à une concentration de $13,9 \mu\text{M.l}^{-1}$: le taux de prise des nitrates est d'abord réduit puis il s'accélère quand la concentration en ammoniacque atteint $8,8 \mu\text{M.l}^{-1}$.

Les Diatomées des aires conchylicoles ont donc la particularité d'utiliser de grandes quantités d'azote minéral puisqu'elles peuvent puiser simultanément l'ammoniacque et les nitrates. Parallèlement, elles sont aussi susceptibles d'utiliser l'azote organique dissous et en particulier les formes excrétées par les

Mollusques : urée, acides aminés libres ou combinés, autres substances non identifiées par les moyens analytiques employés.

En particulier, tout au long de l'étude présentée, par des analyses occasionnelles des acides aminés libres dissous totaux en chromatographie liquide à haute pression, nous avons pu montrer qu'un composé proche des acides aminés, la taurine, est libéré en quantités non négligeables par les Huîtres et les Palourdes et qu'il disparaît rapidement du milieu en présence d'algues et de bactéries. L'étude plus spécifique de l'utilisation de la taurine par la Diatomée Skeletonema costatum montre qu'elle peut favoriser la croissance de Diatomées : soit elle est utilisée sous forme d'ammoniaque après minéralisation rapide par les bactéries ; soit elle est directement prélevée par les algues. Dans ce dernier cas, il semble de plus qu'elle favoriserait la prise d'autres composés.

L'azote n'est pas la seule forme concernée puisque les Mollusques peuvent également excréter des composés favorables à la croissance algale autres que ceux analysés dans le cadre de cette étude. C'est le cas des vitamines et des métaux dont l'importance a pu être mise en évidence indirectement au cours de tests d'enrichissements différentiels : en effet, la présence préalable de Mollusques dans les eaux à tester rend parfois ces composés moins limitants pour les algues-tests, laissant supposer l'apport de ceux-ci par les Bivalves.

La figure 34 illustre le processus complexe qui conduit à la production d'algues microphytes dans une aire conchylicole: l'eau du large apporte des sels nutritifs qui vont s'ajouter à ceux dus aux apports terrigènes ou du sédiment pour produire une biomasse algale qualifiée de "production nouvelle". Les Mollusques en élevage, mais aussi le zooplancton, excrètent de l'azote et du phosphore minéral ainsi que des formes organiques dissoutes. Ces dernières sont minéralisées par les bactéries et rejoignent le pool minéral ou bien elles sont directement prélevées par les algues. L'ensemble des produits excrétés permet donc une "production régénérée" qui, avec la production nouvelle, peut être potentiellement utilisable par les Mollusques.

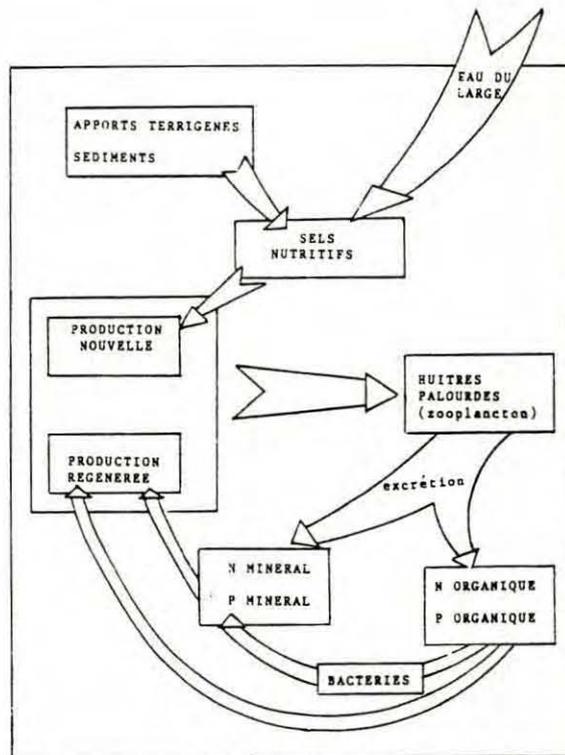


Fig. 34 - Schéma récapitulatif des processus conduisant à la production de biomasse microphytobenthique au sein d'une aire conchylicole.

Ce schéma très simple devra être enrichi par l'observation plus précise des produits excrétés grâce à des moyens analytiques spécifiques mais pas toujours mis au point à ce jour. De même, il conviendra d'approfondir la part des bactéries et celle des algues dans l'utilisation des produits excrétés. Enfin l'impact de la nutrition des Mollusques sur la production végétale devra constituer un élément supplémentaire pour la compréhension des mécanismes mis en jeu.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADMIRAAL W. et PELETIER H., 1979.- Influence of organic compounds and light limitation on the growth rate of estuarine benthic diatoms. Br. phycol. J., 14, 197-206.
- ADMIRAAL W., LAANE R.W.P.M. et PELETIER H., 1984.- Participation of diatoms in the amino acid cycle of coastal waters; uptake and excretion in cultures. Mar. Ecol. Prog. ser., 15, 303-306.
- ALLEN K. et AWAPARA J., 1960.- Metabolism of sulfur amino-acids in *Mytilus edulis* and *Rangia cuneata* Biol. Bull. mar. biol. lab., Woods Hole 118, 173-182.
- ALLEN J.A. et GARRETT M.R., 1971.- Taurine in invertebrates. In Advances in marine biology, 9, F.S. RUSSEL et M. YONGE ed., Acad. Press, London, 205-253.
- AMANO M., HARA S. et TAGA N., 1982.- Utilization of dissolved amino acids in seawater by marine bacteria. Mar. Biol., 68, 31-36.
- AMINOT A. et KEROUEL R., 1982.- Dosage automatique de l'urée dans l'eau de mer : une méthode très sensible à la diacetylmonoxime. Can. J. Fish. Aquat. Sc., 39, 174-183.
- AMMERMAN J.W. et AZAM F., 1985.- Bacterial 5' nucleotidase in aquatic ecosysteme : a novel mechanism of phosphorus regeneration. Science, 227, 1338-1340.
- ARMSTRONG F.A.J. et TIBBITTS S., 1968.- Photochemical combustion of organic matter in sea-water for nitrogen, phosphorus and carbon determination. J. mar. biol. Ass. U.K., 48, 143-152.
- BAMSTEDT U., 1985.- Seasonal excretion rates of macrozooplankton from the Swedish west coast. Limnol. Oceanogr., 30 (3), 607-617.

- BAYNE B.L., WIDDOWS J., THOMPSON R.J., 1976.- Physiology. In Marine Mussels, their ecology and physiology, B.L. BAYNE ed., Cambridge University Press, Cambridge, 224-247.
- BAYNE B.L. et SCULLARD C., 1977.- Rate of nitrogen excretion by species of *Mytilus* (Bivalvia : Mollusca). J. mar. biol. Ass. U.K., 57, 355-369.
- BAYNE B.L., MOORE N.M. et KOEHN R.K., 1981.- Lysosomes and the response by *Mytilus edulis* L. to an increase in salinity. Mar. Biol. lett., 2, 193-204.
- BENZECRI J.P. et coll., 1973.- Analyse des données, Tome 2, l'analyse des correspondances, Dunod, Paris 619 pp.
- BERLAND B.R., 1966.- Contribution à l'étude des cultures de diatomées marines. Rec. Trav. Sta. mar. Endoume, 40 (56), 82 p.
- BERLAND B.R. et MAESTRINI S.Y., 1969.- Action de quelques antibiotiques sur le développement de cinq Diatomées en culture. J. exp. mar. Biol. Ecol., 3, 62-75.
- BERLAND B.R., BONIN D.J., DAUMAS R.A., LABORDE P.L. et MAESTRINI S.Y., 1970.- Variations du comportement physiologique de l'algue *Monallantus salina* (xanthophycée) en culture. Mar. Biol., 7, 82-92.
- BERLAND B.R., BONIN D.J., CORNU A.L., MAESTRINI S.Y. et MARINO J.P., 1972.- The antibacterial substances of the marine alga *Fragillaria pinnata* (Bacillariophyta). J. Phycol., 8, 383-392.
- BERLAND B.R., BONIN D.J., COSTE B., MAESTRINI S.Y. et MINAS H.J., 1973.- Influence des conditions hivernales sur les productions phyto et zooplanctoniques en Méditerranée nord-occidentale. III - Caractérisation des eaux de surface au moyen de cultures d'algues. Mar. Biol., 23, 267-274.

- BILLEN G., 1984.- Heterotrophic utilization and regeneration of nitrogen. In Heterotrophic activity in the sea, J.E. HOBBIIE and P.J. WILLIAMS ed. Plenum, 313-355.
- BISHOP S.H., 1976.- Nitrogen metabolism and excretion : regulation of intracellular amino acids concentrations. In Estuarine Processes, 1, M. WILEY ed., Acad. Press, New-York, 414-429.
- BONIN D.J., 1969.- Influence de différents facteurs écologiques sur la croissance de la diatomée marine *Chaetoceros affinis* Lauder en culture. Téthys, 1, 173-238.
- BONIN D.J. et MAESTRINI S.Y., 1981.- Importance of organic nutrients for phytoplankton growth in natural environments: implications for algal species succession. Can Bull. Fish. aquat. Sci., 210, 279-291.
- BOROMTHANARAT W., 1986.- Ecophysiologie de *Mytilus edulis* L. dans le bassin de Marennes-Oléron : Alimentation et bilan d'énergie. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Nantes, 104 p.
- BOUCHER G., 1985.- Métabolisme respiratoire et échanges azotés à l'interface des parcs ostréicoles. GIS Aquaculture Nord-Vilaine. Rapport d'exécution de contrat de recherche, CNRS/CNEXO n°84/3082, Mai 1985, 51 pp.
- BOUKABOUS R., 1982.- Nutrition de l'huître *Crassostrea gigas*: mise au point du protocole expérimental. Rapport de D.A.A., E.N.S.A. Rennes, 36 pp + annexes.
- BROWN C.M., 1980.- Ammonia assimilation and utilization in bacteria and fungi. In Microorganismes and nitrogen sources, WILEY ed., 511-535.
- CAPERON J. et ZIEMANN D.A., 1976.- Synergistic effects of nitrate and ammonium on the growth and uptake kinetics of *Monochrysis lutheri* in continuous culture. Mar. Biol., 36, 73-84.
- CHARPY-ROUBAUD C.J., CHARPY L.J. et MAESTRINI S.Y., 1982.- Fertilité des eaux côtières nord-patagoniques : facteurs limitant la production du phytoplancton et potentialités d'exploitation mytilicole. Oceanol. Acta, 5, 179-188.

- COLLOS Y. et SLAWYK G., 1980.- Uptake and assimilation by marine phytoplankton. In Primary productivity in the sea. Ed. by P.G. FALKOWSKI, New York, Plenum Press, 195-211.
- CRAWFORD C.C., HOBBIIE J.E. et WEBB K.L., 1974.- The utilization of dissolved free amino acids by estuarine microorganisms. Ecology, 55, 551-563.
- DAVID P., 1980.- Etude expérimentale de la désorption des phosphates et de l'azote ammoniacal dans l'eau de mer. Application à l'étude de l'évolution de la charge minérale du grand émissaire de Marseille. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Aix-Marseille II, 132 p.
- DAWSON R. et GOCKE K., 1978.- Heterotrophic activity in comparison to the free amino acid concentrations in Baltic Sea water samples. Oceanol. Acta 1, 45-54.
- DELMAS R., 1981.- Evolution saisonnière des sels nutritifs dans la rade de Brest en fonction des apports fluviaux et des échanges avec l'Iroise. Thèse Doct. Spécialité, UBO, Brest, 163 pp.
- DESLOUS-PAOLI J.M., 1980 - Contribution à l'étude de la biologie de l'huître *Crassostrea gigas* Thunberg dans le bassin et les claires de Marennes-Oléron. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Aix-Marseille II, 121 p. + Annexes.
- DORTCH Q. et CONWAY H.L., 1984.- Interactions between nitrate and ammonium uptake : variation with growth rate, nitrogen source and species. Mar. Biol., 79, 151-164.
- DUFOUR Ph. et SLEPOUKHA M., 1981.- Etude de la fertilité d'une lagune tropicale de Côte d'Ivoire au moyen de tests biologiques sur populations phytoplantoniques naturelles. Rev. Hydrobiol. trop., 14, 103-114.
- DUGDALE R.C. et GOERING J.J., 1967.- Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. Limnol. Oceanogr., 12, 196-206.

- EPPLEY R.W., COATSWORTH J.L. et SOLORZANO L., 1969.- Studies of nitrate reductase in marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr., 14, 194-205.
- EPPLEY R.W., RENGER E.H., VENRICK E.L. et MULLIN M.M., 1973.- A study of plankton dynamics and nutrient cycling in the central Gyre of the North Pacific Ocean. Limnol. oceanogr., 18, 534-551.
- EPPLEY R.W., RENGER E.H., HARRISON W.G. et GULLEN J.J., 1979.- Ammonium distribution in southern California coastal waters and its role in the growth of phytoplankton. Limnol. Oceanogr. 24, 495-509.
- FATTORUSSO E. et PIATTELLI M., 1980.- Amino acids from marine algae. In Marine Natural Products-Chemical and Biological Perspectives, III, P.J. SCHEUER ed., Academic Press, New York, 95-140.
- FEUILLET M., 1971.- Relations entre les eaux interstitielles des fonds sédimentaires ostréicoles et le milieu hydrobiologique. Le Bassin des chasses des Sables d'Olonne. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 35 (4), 435-442.
- FEVRIER A., 1976.- Evolution des matières organiques en solution dans l'eau de mer : relations avec l'activité métabolique des organismes marins. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Paris VI, 52 p + annexes.
- FLYNN K.J. et BUTLER I., 1986.- Nitrogen sources for the growth of marine microalgae : role of dissolved free amino-acids. Mar. Ecol. Prog. Ser., 34, 281-304.
- GABBOT P.A et BAYNE B.L., 1973.- Biochemical effects of temperature and nutritive stress on *Mytilus edulis* L.. J. mar. biol. Ass. U.K., 53, 269-286.
- GARSIDE C., 1981.- Nitrate and ammonia uptake in the apex of the New York Bight. Limnol. Oceanogr., 26, 731-739.
- GOULEAU D., 1986.- Etude du rôle des eaux interstitielles des sédiments dans la productivité des sites conchylicoles. GIS Sud-Vilaine. Rapport d'exécution de contrat n°84/7650, juin 1986, 44 pp.

- GRANELI E., 1984.- Algal growth potential and limiting nutrients for phytoplankton production in Orensund water of Baltic and Kattegat origin. Limnologica, 15, 563-569.
- HAFSAOUI M., 1984.- Fertilisation d'un système eutrophe à forte variabilité saisonnière et annuelle (rade de Brest). Mise en évidence des facteurs limitants de la production phyto-planctonique. Assimilation simultanée des différentes formes d'azote inorganique et organique. Thèse 3ème cycle, UBO, Brest, 167 pp.
- HAINES K.C., 1975.- Growth of the carragenan-producing tropical red seaweed *Hypnea musciformis* in surface water, 870 m deep water, effluent from a clam mariculture system, and in deep water enriched with artificial fertilizers or domestic sewage. 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, Sept. 17-23, 1975, Vol. 1, 207-220.
- HAMMEN C.S., MILLER H.F., GEER Jr et GEER Wm. H., 1966.- Nitrogen excretion of *Crassostrea virginica*. Comp. Biochem. Physiol., 17, Pergamon Press Ltd, Great-Britain, 1199-1200.
- HAMMEN C.S., 1968.- Amino transferase activities and amino acid excretion of Bivalve Mollusks and Brachiopods. Comp. Biochem. Physiol., 26, Pergamon Press, Great Britain, 697-705.
- HAMMER K.D., BROCKMANN U.H. et KATTNER G., 1981.- Release of dissolved free amino acids during a bloom of *Thalassiosira rotula*. Kieler Meeresforsch (Sonderh.), 5, 101-109.
- HARGRAVE B.T. et GEEN G.H., 1968.- Phosphorus excretion by zooplankton. Limnol. oceanogr., 13, 332-342.
- HARRIS E., 1959.- The nitrogen cycle in Long Island Sound. Bull. Bingham Oceanogr. Collection, 17, 31-65.
- HARRISON W.G., 1978.- Experimental measurements of nitrogen remineralization in coastal waters. Limnol. oceanogr., 23, 684-694.
- HAYWARD J., 1965.- Studies on the growth of *Phaeodactylum tricor-nutum* (Bohlin). I. The effect of certain organic nitrogenous substances on growth. Physiol. Plant., 18, 201-207.

- HOLLIBAUGH J.T., 1979.- Metabolic adaptation in natural bacterial populations supplemented with selected amino acids. Estuar. cstl. mar. Sci., 9, 215-230.
- HOLLIGAN P.M., WILLIAMS P.J. le B., PURDIE D., HARRIS R.P., 1984.- Photosynthesis, respiration and nitrogen supply of plankton populations in stratified, frontal and tidally mixed shelf waters. Mar. Ecol. Progr. Ser., 17, 201-213.
- JAWED M., 1973.- Ammonia Excretion by zooplankton and its Significance to Primary Productivity during Summer. Mar. Biol., 23, 115-120.
- JORGENSEN N.O.G., 1982.- Heterotrophic assimilation and occurrence of dissolved free amino acids in a shallow estuary. Mar. Ecol. Prog. Ser., 8, 145-159.
- KAMATANI A. et AMANO M., 1984.- Phosphate and silica regeneration from fecal pellets of benthic animals collected from Tokyo Bay. Bull. of Japanese Society of Scientific Fisheries, 50 (6), 999-1003.
- KELLER M.D., MAGUE T.H., BADENHAUSEN M. et GLOVER H.E., 1982.- Seasonal variations in the production and consumption of amino acids by coastal microplankton. Estuar. cstl Shelf Sci, 15, 301-315.
- KOEHN R.K., BAYNE B.L., MOORE M.N. et SIEBENALLER J.F., 1980.- Salinity related physiological and genetic differences between populations of *Mutilus edulis*. Biol. J. Limn. Soc., 14, 319-334.
- KOROLEFF F., 1970.- Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue (revised). Information on technique and methods for sea water analysis. Interlab. Rep. Int. Cons. Explor. Sea, 3, 19-22.
- KUENZLER E.J., 1961.- Phosphorus budget of a Mussel population. Limnol. oceanogr., 6, 400-415.

- LANGTON R.W., HAINES K.C. et LYON R.E., 1977.- Ammonia-nitrogen production by the bivalve mollusc *Tapes japonica* and its recovery by the red seaweed *Hypnea musciformis* in a tropical mariculture system. Helgoländer wiss. Meeresunters., 30, 217-229.
- LEBORGNE R.P., 1973.- Etude de la respiration et de l'excrétion de phosphore des populations zooplanctoniques de l'upwelling mauritanien (Mars-Avril 1972). Mar. Biol., 19, 249-257.
- LINDROTH P., MOPPER K., 1979.- High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with o-phthalaldehyde. Analyt. chem., 51, 1667-1674.
- LINLEY E.A.S., NEWELL R.C. et LUCAS M.I., 1983.- Quantitative relationships between phytoplankton, bacteria and heterotrophic microflagellates in shelf waters. Mar. Ecol. Prog. Ser., 12, 77-89.
- LUND J.W.G., KIPLING C. et LE CREN E.D., 1958.- The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. Hydrobiologia, 11, 143-170.
- Mc CARTHY J.J., 1972.- The uptake of urea by natural populations of marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr., 17, 738-748.
- Mc CARTHY J.J. et EPPLEY R.W., 1972.- A comparison of chemical, isotopic, and enzymatic method for measuring nitrogen assimilation of marine phytoplankton. Limnol. Oceanogr., 17, 371-382.
- Mc CARTHY J.J., TAYLOR W.R. et TAFT J.L., 1977.- Nitrogenous nutrition of the plankton in the Chesapeake Bay. 1 - Nutrient availability and phytoplankton preferences. Limnol. Oceanogr., 22, 996-1011.
- Mc ISAAC J.J., DUGDALE R.C., HUNTSMAN S.A. et CONWAY H.L., 1979.- The effect of sewage on uptake of inorganic nitrogen and carbon by natural populations of marine phytoplankton. J. mar. Res., 37, 51-66.

- MAESTRINI S.Y. et ROBERT J.M., 1979.- Fertilité et teneurs en sels nutritifs des eaux marines. J. Rech. océanogr., 4, 17-25.
- MAESTRINI S.Y. et ROBERT J.M. 1981.- Rendements d'utilisation des sels nutritifs et variations de l'état des cellules de trois Diatomées de claires à huîtres de Vendée. Oceanol. Acta, 4, 13-21.
- MAESTRINI S.Y., ROBERT J.M. et TRUQUET I., 1982.- Simultaneous uptake of ammonium and nitrate by oyster-pond algae. Mar. Biol. Letters, 3, 143-153.
- MAESTRINI S.Y., BONIN D.J. et DROOP M.R., 1984.- Phytoplankton as indicators of sea-water quality : bioassay approach and protocols, in Algae as ecological indicators, SHUBERT L.E. (ed.), 71-132.
- MANN R. et GLOMB S.J., 1978.- The effect of temperature on growth and ammonia excretion of the manila clam *Tapes japonica*. Estuar. Cstl. mar. sci., 6, 335-339.
- MANN R., 1979.- Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. J. mar. biol. Ass. U.K., 59, 95-110.
- MARION A., 1985.- Phytoplancton de la baie de Bourgneuf : fertilité des eaux néritiques. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Nantes, 156 p.
- MARTIN-JEZEQUEL V., 1981.- Succession des populations phytoplanktoniques en relation avec les conditions nutritionnelles dans les eaux littorales de la Manche (Roscoff). Thèse Doct. Spécialité, Univ. Brest, 145 p.
- MAYZAUD P., 1973.- Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. II. Studies of the metabolic characteristics of starved animals. Mar. Biol., 21, 19-28.
- NORTH B.B., 1975.- Primary amines in California coastal waters: utilisation by phytoplankton. Limnol. Oceanogr., 20, 20-27.

- OLSEN Y. et OESTGAARD K., 1985.- Estimating release rates of phosphorus from zooplankton : Model and experimental verification. Limnol. Océanogr., 30 (4), 844-852.
- OLSEN Y., JENSEN A., REINERTSEN H., BOERSHEIM K.Y., HELDAL M. et LANGELAND A., 1986.- Dependence of the rate of release of phosphorus by zooplankton on the P : C ratio in the food supply, as calculated by a recycling model. Limnol. Oceanogr., 31 (1), 34-44.
- OLSON R.J., 1980.- Nitrate and ammonium uptake in antarctic waters. Limnol. Oceanogr., 25, 1064-1074.
- PACKARD T.T et BLASCO D., 1974.- Nitrate reductase activity in upwelling regions. 2. Ammonia and light dependence. Tethys, 6, 269-280.
- PIERCE S.K. et GREENBERG M.J., 1972.- The nature of cellular volume regulation in marine Bivalves. J. exp. Biol., 57, 681-692.
- PIPE R.K. et MOORE M.N., 1985.- Ultrastructure changes in the lysosomal vacuolar system in digestive cells of Mytilus edulis as a response to increased salinity. Mar. Biol., 87, 157-163.
- POMEROY L.R., MATHEWS H.M. et HONG SHIK MIN, 1963.- Excretion of phosphates and soluble organic phosphorus compounds by zooplankton. Limnol. Oceanogr., 8 (1), 50-55.
- POULET S.A. et MARTIN-JEZEQUEL V., 1983.- Relationship between dissolved free amino acids, chemical composition and growth of the marine diatom Chaetoceros debile. Mar. Biol., 77, 93-100.
- POULET S.A., MARTIN-JEZEQUEL V. et DELMAS D., 1985.- Gradient of dissolved free amino acids and phytoplankton in a shallow bay. Hydrobiol., 121, 11-17.
- PRICE N.M., COCHLAN W.P. et HARRISON P.J., 1985.- Time course of uptake of inorganic and organic nitrogen by phytoplankton in the Strait of Georgia : comparison of frontal and stratified communities. Mar. Ecol. Prog. Ser., 27, 39-53.

- RAVAIL B., 1986.- Fertilité des eaux et peuplements en microphytes de claires vouées à l'élevage de la Palourde *Ruditapes philippinarum* (Adams) Reeve : impact des Mollusques sur l'économie des bassins. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Nantes, 165 p.
- REDFIELD A.C., KETCHUM B.H. et RICHARDS F.A., 1965.- The influence of organisms on the composition of sea water. In : The sea, M.N. Hill, New York, London, 2, 26-77.
- RIGLER F.H., 1961.- The uptake and release of inorganic phosphorus by *Daphnia magna* Straus. Limnol. oceanogr., 6, 165-174.
- RINCE Y., 1978.- Intervention des diatomées dans l'écologie des claires ostréicoles de la baie de Bourgneuf. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Nantes, 203 p.
- ROBERT J.M., MAESTRINI S.Y., BAGES M., DRENO J.P. et GONZALEZ-RODRIGUEZ E., 1979.- Estimation, au moyen de tests biologiques, de la fertilité par trois Diatomées des eaux des claires à huîtres de Vendée. Oceanol. Acta, 2, 275-286.
- ROBERT J.M., MAESTRINI S.Y., HERAL M., RINCE Y., DRENO J.P. et BEKER L., 1982 a.- Enrichissement expérimental d'eaux printanières de claires à huîtres en baie de Bourgneuf (Vendée, France) : augmentation de la biomasse et utilisation des éléments nutritifs par les algues unicellulaires. Hydrobiologie, 95, 53-63.
- ROBERT J.M., MAESTRINI S.Y., HERAL M., ZANETTE Y., 1982 b.- Production de micro-algues des claires ostréicoles en relation avec l'azote organique dissous excrété par les Huîtres. Oceanol. Acta, Actes symposium international sur les lagunes côtières, Scor/IABO, UNESCO, Bordeaux 8-14 Septembre 1981, 389-395.
- ROBERT J.M., 1983.- Fertilité des eaux des claires ostréicoles et verdissement : utilisation de l'azote par les Diatomées dominantes. Thèse Doct. d'état, Univ. Nantes, 281 pp. + annexes.

- ROBERT J.M. et MAESTRINI S.Y., 1986.- Absorptions simultanées des ions NO_3^- et NH_4^+ par trois Diatomées de claires à huitres, en culture axénique. Phycologia, 25, 152-159.
- ROBERT J.M., VINCEDEAU M.L., MAESTRINI S.Y. et MARION A., 1986.- Prises simultanées de l'azote minéral et de l'urée par les algues unicellulaires des claires ostréicoles : effet de la source d'azote sur la nature du peuplement. C.R. Acad. Sc. Paris, 303, 167-170.
- ROMAN M.R., 1983.- Nitrogenous nutrition of marine invertebrates in Nitrogen in the marine environment, CARPENTER E.J. et CAPONE D.G. ed. Academic press New-York, 347-383.
- SIEBERS D. et WINKLER A., 1984.- Amino-acid uptake by mussels, *Mytilus edulis*, from natural sea water in a flow-through system. Helgoländer Meeresunters, 38, 189-199.
- SMAYDA T.J., 1971.- Further enrichment experiments using the marine centric diatom *Cyclotella nana* (clone 13-1) as an assay organism. In Fertility of the sea, J.D. COSTLOW ed., Gordon and Breach, N.Y. 2, 309-622.
- SMITH S.L. et WHITLEDGE T.E., 1977.- The role of zooplankton in the regeneration of nitrogen in a coastal upwelling system off north west Africa. Deep sea Res., 24, 49-56.
- SORNIN J.M., 1981 - Processus sédimentaires et biodéposition liés à différents modes de conchyliculture. Baie de Cancale, Anse de l'Aiguillon et Bassin de Marennes-Oléron. Thèse Doct. Spécialité, Univ. Nantes, 188 p.
- SRNA R.F. et BAGGALEY A., 1976.- Rate of Excretion of Ammonia by the hard clam *Mercenaria mercenaria* and the American oyster *Crassostrea virginica*. Mar. Biol., 36, 251-258.
- STRICKLAND J.D.H. et PARSONS T.R., 1972.- A practical handbook of seawater analysis. Bull. Fish. Res. Bd. Canada, 167, 2 nd, 310 p.
- SYRETT P.J., 1981.- Nitrogen metabolism in microalgae. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., 210, 182-210.

- SZWERINSKI H., 1981.- Investigations on nitrification in the water and the sediment. Kieler Meeresforsch, Sonderh, 5, 396-407.
- VINCENDEAU M.L., 1982.- Etude de l'utilisation de NH_4^+ , NO_3^- et de l'urée par les Diatomées de claires ostréicoles, en cultures plurispécifiques ou unialgales. D.E.A. algologie, Univ. Paris VI, 27 p. + annexe.
- VISLIE T., 1980.- Hyper-osmotic cell volume regulation *in vivo* and *in vitro* in Flounder (*Platichthys flesus*) heart ventricles. J. Comp. Physiol., 140, 185-191.
- VISLIE T., 1983.- Cell volume regulation in fish heart ventricle with special reference to taurine. Comp. Biochem. Physiol., 76 A (3), 507-515.
- WEIL J.H., 1979.- Métabolisme des composés azotés. In Biochimie Générale. MASSON ed., Paris, 353-400.
- WHEELER P.A., NORTH B.B. et STEPHENS G.C., 1974.- Amino acid uptake by marine phytoplankters. Limnol. Oceanogr., 19, 249-259.
- WHEELER P.A. et KIRCHMAN D.L., 1986.- Utilization of inorganic and organic nitrogen by bacteria in marine systems. Limnol. Oceanogr., 31 (5), 998-1009.
- WILLIAMS P.J. Le B., BERMAN T. et HOLM-HANSEN O., 1976.- Amino acid uptake and respiration by marine heterotrophs. Mar. Biol., 35, 41-47.
- WORRALL C.M., WIDDOWS J. et LOWE D.M., 1983.- Physiological ecology of three populations of the bivalve *Scrobicularia plana*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 12, 267-279.

ANNEXES

ANNEXE I

Evolution des teneurs en éléments minéraux et organiques dissous dans les bacs expérimentaux au cours des cinq heures de stabulation pour chacune des expériences réalisées de décembre 1983 à octobre 1984.

Les teneurs sont exprimées en $\mu\text{M.l}^{-1}$.

N-NH₄ : ammoniacque ; N-NO₃ : nitrates ; N-NO₂ : nitrites ;
Si-SiO₃ : silicates ; P-PO₄ : phosphates ; DON : azote organique dissous total ; AA : acides aminés ; DOP : phosphore organique dissous total.

DECEMBRE 1983

EAU "FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	30			26,550			24, 825			23,100			21,375		
	témoïn	Huîtres	Palourdes	témoïn	Huîtres	Palourdes	témoïn	Huîtres	Palourdes	témoïn	Huîtres	Palourdes	témoïn	Huîtres	Palourdes
N-NH ₄	0,80	0,87	0,86	1,20	0,90	1,42	0,93	0,99	1,68	0,84	0,93	2,11	0,92	1,10	2,40
N-NO ₃	10,24	10,24	10,13	9,42	10,22	10,21	10,00	10,01	8,53	9,97	9,63	9,85	9,50	9,64	9,96
N-NO ₂	0,35	0,35	0,34	0,34	0,37	0,38	0,33	0,33	0,30	0,37	0,37	0,38	0,29	0,36	0,38
Si-SiO ₃	12,67	12,67	12,60	11,89	12,98	12,98	13,30	13,14	11,11	12,98	12,67	12,83	9,23	12,51	12,98
P-PO ₄	0,47	0,45	0,43	0,39	0,41	0,51	0,49	0,44	0,42	0,49	0,44	0,53	0,40	0,44	0,53
DON	6,36	6,84	8,61	9,24	5,16	6,20	6,92	6,47	7,67	9,52	6,87	6,72	6,58	7,96	7,56
Urée	0,82	1,11	0,51	0,86	0,67	0,47	0,64	0,77	0,38	0,81	0,73	0,67	0,98	0,72	0,59
AA (éq. gly)	0,55	1,05	1,35	1,50	1,00	0,95	0,55	0,95	0,65	1,00	1,05	0,80	0,75	0,55	1,10
DOP	0,83	0,42	0,47	0,88	0,20	0,13	0,51	0,20	0,67	0,60	0,43	0,47	0,50	0,29	0,47

EAU "NON FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	30			26,550			24,575			22,850			21,125		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	1,26	1,39	1,13	1,26	1,33	1,76	1,22	1,05	2,27	1,17	1,36	2,21	1,17	1,59	2,79
N-NO ₃	4,99	3,81	4,16	3,45	3,54	3,34	3,68	3,69	3,45	3,56	3,67	3,36	3,81	3,81	3,25
N-NO ₂	0,24	0,23	0,24	0,24	0,26	0,23	0,24	0,23	0,24	0,24	0,25	0,21	0,23	0,23	0,20
Si-SiO ₃	7,67	7,36	7,36	6,89	6,89	6,58	7,20	7,20	7,05	7,05	7,05	6,26	6,89	6,73	5,95
P-PO ₄	0,43	0,41	0,34	0,32	0,34	0,39	0,34	0,32	0,43	0,29	0,34	0,39	0,36	0,36	0,43
DON	13,72	12,87	13,08	15,37	14,06	13,08	13,94	14,22	12,72	10,69	13,65	14,29	12,62	15,68	14,34
Urée	0,63	-	0,71	0,79	0,54	0,90	1,26	0,74	0,77	0,71	0,70	0,75	0,51	0,78	0,56
AA (éq. gly)	1,00	2,20	1,85	1,00	0,95	1,60	1,60	1,90	1,00	0,85	1,10	0,85	2,00	0,75	1,80
DOP	0,44	0,49	0,40	0,40	0,36	0,49	0,38	0,38	0,45	0,65	0,60	0,37	0,75	0,27	0,60

FEVRIER 1984

EAU "FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (1)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	20			19,580			19,135			18,690			18,245		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	3,61	3,61	3,61	3,70	4,24	2,90	3,55	4,48	4,37	3,95	4,84	4,13	3,37	4,62	4,35
N-NO ₃	11,02	11,02	11,02	11,61	11,44	11,32	11,15	8,45	10,57	11,07	9,22	10,93	10,79	7,98	11,18
N-NO ₂	0,42	0,42	0,42	0,43	0,48	0,48	0,47	0,38	0,47	0,44	0,43	0,46	0,40	0,35	0,48
Si-SiO ₂	16,24	16,24	16,24	16,52	16,36	16,21	16,97	12,73	15,76	16,36	13,33	16,10	15,37	11,04	15,66
P-PO ₄	0,73	0,57	0,57	0,74	0,96	0,75	0,66	0,55	0,72	0,66	0,68	0,79	0,65	0,58	0,83
DON	5,88	5,88	5,88	7,51	3,38	0,18	2,03	12,27	0	7,33	11,09	5,87	8,53	9,75	6,04
Urée	0,74	0,74	0,74	1,28	1,34	1,20	1,11	1,61	2,82	1,03	1,45	0,81	1,11	1,29	1,14
AA (éq.gly)	2,84	3,18	2,13	1,44	1,97	2,10	3,74	3,81	3,28	2,78	1,79	1,69	2,87	3,90	4,09
DOP	0,16	0,16	0,16	0,06	0	0,34	0,02	0,37	0,06	0,02	0,33	0	0,12	0,44	0,22

EAU "NON FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (1)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	20			19,305			18,610			17,915			17,220		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	3,35	3,35	3,35	2,53	2,98	3,09	3,58	3,70	3,88	3,73	3,72	3,92	3,71	3,97	3,89
N-NO ₃	28,36	28,36	28,36	18,81	31,59	25,38	20,33	23,95	28,15	17,93	28,43	25,91	25,91	26,61	18,94
N-NO ₂	0,32	0,32	0,32	0,22	0,38	0,38	0,31	0,30	0,33	0,35	0,42	0,43	0,33	0,38	0,21
Si-SiO ₂	19,46	19,46	19,46	12,38	20,65	16,31	13,72	15,66	19,01	11,63	19,58	16,71	17,32	16,11	12,27
P-PO ₄	0,53	0,53	0,53	0,67	0,65	0,65	0,45	0,45	0,53	0,49	0,75	0,92	0,49	0,70	0,39
DON	10,47	10,47	10,47	6,02	0	0	7,96	0	15,85	17,24	8,18	18,38	11,29	11,14	26,24
Urée	0,87	0,87	0,87	0,95	0,81	0,56	0,89	0,74	0,89	0,88	2,29	0,53	0,88	0,86	0,53
AA (éq.gly)	2,28	2,32	2,94	1,79	1,91	1,79	-	1,01	-	2,44	1,07	0,20	2,44	1,07	1,17
DOP	0,23	0,23	0,23	0	0	0	0	0	0,11	0,10	0	0	0,31	0,04	0,44

EAU "FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	20			20			19,575			19,150			18,725		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	0,98	0,98	0,98	1,60	2,75	2,56	1,88	2,77	2,96	1,69	3,85	3,50	2,07	4,94	3,90
N-NO ₃	15,07	15,07	15,07	15,99	16,39	13,34	14,96	18,79	15,55	16,09	16,07	10,07	11,02	11,48	11,43
N-NO ₂	0,30	0,30	0,30	0,32	0,32	0,27	0,28	0,46	0,35	0,31	0,33	0,20	0,23	0,32	0,23
Si-SiO ₃	8,97	8,97	8,97	9,26	9,11	7,52	8,68	9,69	8,70	8,98	8,70	5,32	6,45	5,74	6,16
P-PO ₄	0,32	0,32	0,32	0,43	0,43	0,27	0,36	0,64	0,35	0,42	0,47	0,18	0,14	0,47	0,26
DON	8,26	8,26	8,26	5,34	1,00	3,83	1,01	0,30	9,51	2,84	9,05	27,62	11,39	10,54	11,59
Urée	0,49	0,49	0,49	1,41	0,70	2,36	1,40	0,90	1,77	1,83	0,70	2,97	1,64	1,36	1,93
AA (éq.gly)	1,45	1,45	1,45	2,75	2,00	2,65	3,05	2,00	2,10	3,30	2,00	1,90	2,40	2,50	4,25
DOP	0,18	0,18	0,18	0,05	0,31	0,21	0,21	-	0,13	0,23	0,10	0,48	0,25	0,13	0,26

EAU "NON FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	20			20			19,825			18,650			17,475		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	4,77	4,77	4,77	5,12	5,74	5,95	5,52	5,88	6,22	4,47	6,04	6,21	3,76	5,36	4,61
N-NO ₃	34,68	34,68	34,68	32,98	50,32	35,17	33,96	44,58	45,64	53,47	28,00	42,22	43,04	42,52	25,89
N-NO ₂	0,37	0,37	0,37	0,35	0,47	0,41	0,43	0,39	0,47	0,41	0,36	0,52	0,48	0,48	0,40
Si-SiO ₃	24,12	24,12	24,12	22,27	26,96	23,83	26,53	23,83	26,36	24,82	18,40	25,52	24,94	24,38	17,00
P-PO ₄	1,07	1,07	1,07	0,99	1,13	1,07	1,18	0,95	1,20	1,08	0,99	1,34	1,06	1,06	0,92
DON	0	4,20	0	23,32	0	0	0	0	0	0	22,93	0,82	0,95	0	16,35
Urée	0,47	0,47	0,47	0,55	0,70	1,20	0,72	1,13	0,76	0,72	0,62	0,73	0,35	0,90	1,01
AA (éq.gly)	1,15	1,15	1,15	2,25	3,10	2,50	2,00	2,90	2,45	2,00	2,05	2,70	3,10	3,44	3,30
DOP	0	0	0	0,07	0	0	0	0	0	0,11	0,11	0	0,10	0	0,16

JUIN 1984

EAU "FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
	20			20			16,675			19,350			19,025		
N-NH ₄	1,97	1,97	1,97	2,50	4,65	5,31	2,50	6,0	7,47	3,02	6,89	9,10	3,18	7,84	8,94
N-NO ₃	2,05	2,05	2,05	2,51	2,59	2,04	1,57	2,07	2,54	2,35	2,87	2,45	2,24	2,62	2,45
N-NO ₂	0,26	0,26	0,26	0,29	0,33	0,27	0,25	0,36	0,26	0,33	0,42	0,32	0,32	0,42	0,35
Si-SiO ₃	4,26	4,26	4,26	5,03	4,45	3,49	3,49	3,88	4,26	4,65	4,65	4,84	4,84	4,45	4,45
P-PO ₄	0,52	0,52	0,52	0,57	0,41	0,41	0,44	0,34	0,54	0,59	0,41	0,52	0,62	0,39	0,54
DON	13,40	13,40	13,40	9,09	6,95	15,35	14,49	11,26	11,06	11,72	7,11	10,59	10,35	10,46	11,43
Urée	0,99	0,99	0,99	0,93	1,10	0,88	0,74	1,01	0,70	0,78	1,00	0,71	0,98	1,04	2,00
AA (éq.gly)	4,20	4,20	4,20	2,75	5,80	4,20	2,80	1,45	3,55	1,85	1,40	3,00	3,82	5,23	3,65
DOP	0,71	0,71	0,71	0,63	0,11	0,38	0,90	0,34	0,22	0,88	0,07	0,13	0,02	0,37	0,22

EAU "NON FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
	20			20			19,525			19,050			18,575		
N-NH ₄	4,04	4,04	4,04	3,11	5,82	11,77	2,66	6,44	15,55	3,60	8,26	19,95	2,88	7,06	21,77
N-NO ₃	0,26	0,26	0,26	0,35	0,35	0,23	0,02	0,22	0,02	0,11	0,47	0,09	0,12	0,19	0
N-NO ₂	0,09	0,09	0,09	0,12	0,12	0,12	0,09	0,13	0,09	0,13	0,13	0,15	0,12	0,16	0,21
Si-SiO ₃	0,85	0,85	0,85	1,45	1,05	1,05	0,85	1,05	0,20	1,05	0,85	0,45	0,25	0,25	0,05
P-PO ₄	0,07	0,07	0,07	0,04	0,09	0,09	0,07	0,11	0,07	0,07	0,09	0,16	0,07	0,11	0,11
DON	13,17	13,17	13,17	9,74	18,78	2,10	10,30	16,75	0	9,35	16,88	0	9,56	9,78	0
Urée	0,76	0,76	0,76	1,16	0,84	3,44	1,14	1,00	0,74	1,19	1,33	1,78	0,81	0,92	0,53
AA (éq.gly)	4,70	4,70	4,70	3,40	1,30	4,20	1,80	2,30	3,20	2,05	1,90	1,05	2,15	2,40	1,45
DOP	0,31	0,31	0,31	0,24	0,34	0,24	0,41	0,32	0,22	0,36	0,41	-	0,21	0,36	0,36

AOUT 1984

EAU "FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	20			20			19,6			19,2			18,8		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	1,96	1,96	1,96	1,40	1,99	3,39	1,48	2,24	4,38	1,54	2,57	5,15	1,61	2,63	5,91
N-NO ₃	3,95	3,95	3,95	3,57	2,85	4,10	3,84	3,96	4,11	3,93	3,93	3,40	3,11	3,59	3,30
N-NO ₂	0,28	0,28	0,28	0,27	0,22	0,25	0,39	0,39	0,37	0,42	0,42	0,31	0,35	0,38	0,28
Si-SiO ₃	10,12	10,12	10,12	9,40	7,50	10,12	10,10	10,10	10,10	9,87	10,10	8,05	8,05	8,74	8,96
P-PO ₄	0,48	0,48	0,48	0,41	0,36	0,48	0,51	0,58	0,61	0,48	0,63	0,51	0,36	0,51	0,46
DON	8,32	8,32	8,32	11,80	11,73	9,43	14,99	14,11	8,43	11,91	14,92	7,55	10,17	11,72	6,61
Urée	0,45	0,45	0,45	1,01	0,89	1,02	1,37	0,98	3,16	0,68	0,75	0,99	0,73	0,68	0,86
AA (éq. gly)	6,60	6,60	6,60	3,65	2,20	3,40	3,55	2,30	1,82	4,40	1,05	1,65	1,60	3,80	0,75
DOP	0,26	0,26	0,26	0,37	0,22	0,24	0,37	0,39	0,08	0,33	0,15	0,14	0,42	0,25	0,28

EAU "NON FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	20			20			19,50			19,00			18,50		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	1,62	1,62	1,62	1,84	2,49	2,95	1,51	2,89	3,56	1,55	2,90	3,63	0,36	0,80	1,39
N-NO ₃	0,62	0,62	0,62	0,60	0,83	0,62	0,50	0,62	0,41	0,69	0,90	0,57	0,66	1,71	0,93
N-NO ₂	0,27	0,27	0,27	0,29	0,32	0,27	0,26	0,27	0,23	0,28	0,31	0,28	0,31	0,36	0,28
Si-SiO ₃	9,83	9,83	9,83	10,57	10,55	9,46	10,78	8,89	8,32	12,10	10,21	10,97	11,53	11,53	11,34
P-PO ₄	0,39	0,39	0,39	0,34	0,41	0,48	0,38	0,43	0,43	0,38	0,50	0,63	0,38	0,68	0,73
DON	8,67	8,67	8,67	7,55	4,09	6,29	5,18	5,33	6,16	7,16	5,36	7,16	7,33	10,23	8,93
Urée	0,62	0,62	0,62	0,80	0,82	0,75	0,88	0,88	0,81	0,81	0,79	0,87	0,62	0,78	0,75
AA (éq. gly)	1,20	1,20	1,20	2,90	3,30	2,65	3,70	1,90	1,00	2,60	1,90	3,10	1,20	1,40	2,05
DOP	0,35	0,35	0,35	0,27	0,07	0,17	0,03	0,13	0,10	0,18	0,04	0,02	0,12	0,10	0,03

OCTOBRE 1984

EAU "FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	20			18,80			18,30			17,80			17,30		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	2,73	2,73	2,73	3,04	4,03	3,77	3,11	3,77	4,19	2,66	4,41	4,63	2,50	5,11	5,04
N-NO ₃	17,13	17,13	17,13	15,22	18,95	12,47	9,16	15,95	16,51	17,27	19,19	13,86	18,70	20,84	17,93
N-NO ₂	1,02	1,02	1,02	0,96	1,31	0,81	0,84	1,02	1,12	1,15	1,29	1,08	1,27	1,32	1,52
Si-SiO ₃	18,68	18,68	18,68	16,28	19,76	13,21	15,20	16,07	17,37	17,81	19,76	14,76	19,22	20,45	12,88
P-PO ₄	0,83	0,83	0,83	0,71	1,15	0,81	0,57	0,88	1,01	0,80	1,16	0,99	0,88	1,23	1,26
DON	7,87	7,87	7,87	14,02	0,31	14,42	13,53	0	0	3,92	4,04	3,52	8,35	12,73	1,81
Urée	0,60	0,60	0,60	1,28	0,88	1,14	1,20	1,53	0,64	1,07	1,61	1,19	0,53	1,12	0,94
AA (éq. gly)	2,30	2,30	2,30	4,70	2,70	2,30	2,50	3,60	2,70	3,20	3,30	2,40	2,50	2,40	3,60
DOP	0,14	0,14	0,14	0,39	0	0,43	0,40	0	0	0	0	0	0,11	0,20	0

EAU "NON FILTREE"

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h			2 h			3 h			4 h			5 h		
	20			20			19,50			19,00			18,50		
	témoïn	Huîtres	Palourdes												
N-NH ₄	3,30	3,30	3,30	3,07	3,68	4,22	2,82	4,25	4,63	3,30	4,53	4,92	3,30	4,88	5,14
N-NO ₃	15,90	15,90	15,90	14,43	18,32	18,79	14,09	21,84	21,47	12,08	21,48	19,94	13,34	23,95	22,26
N-NO ₂	1,75	1,75	1,75	1,54	1,52	1,60	1,50	1,61	2,24	2,09	1,82	2,22	1,35	2,20	2,22
Si-SiO ₃	14,55	14,55	14,55	13,09	16,21	14,13	12,88	19,13	20,11	11,84	11,42	19,13	12,05	20,31	19,30
P-PO ₄	1,04	1,04	1,04	0,90	0,99	0,97	0,88	1,07	1,16	1,07	0,95	1,21	0,59	1,23	1,18
DON	17,13	17,13	17,13	10,88	2,11	23,44	11,38	12,90	10,36	12,32	19,24	0	19,05	7,05	0,43
Urée	0,16	0,16	0,16	0,84	1,04	1,16	0,77	0,94	0,84	0,46	0,53	0,86	0,43	0,72	1,01
AA (éq. gly)	2,80	2,80	2,80	2,70	3,60	3,80	3,70	3,90	3,90	3,90	3,90	6,40	3,10	5,20	7,60
DOP	0,02	0,02	0,02	0,11	0	0,47	0,13	0,08	0	0	0,20	0	0,51	0,15	0

ANNEXE II

Analyse Factorielle des Correspondances : tableau des données.

Teneurs des éléments minéraux et organiques dissous dans les bacs expérimentaux après cinq heures d'incubation pour chacune des expériences réalisées de décembre 1983 à octobre 1984.

Les teneurs sont exprimées en $\mu\text{M.l}^{-1}$.

Variables individus	Substances identificateurs	N-NH ₄	N-NO ₃ + N-NO ₂	Si-SiO ₃	P-PO ₄	azote organique dissous total	Urée	Acides Aminés totaux	Phosphore organique dissous total
		NH ₄	NO ₃	Si	PO ₄	NO	U	AA	PO
décembre "filtrée"	DT	0,92	9,79	9,23	0,40	6,58	0,98	0,75	0,50
	DH	1,10	10,00	12,51	0,44	7,96	0,72	0,55	0,29
	DP	2,40	10,34	12,98	0,53	7,56	0,59	1,10	0,47
décembre "non filtrée"	DTB	1,17	4,04	6,89	0,36	12,62	0,51	2,00	0,75
	DHB	1,59	4,04	6,73	0,36	15,68	0,78	0,75	0,27
	DPB	2,79	3,45	5,95	0,43	14,34	0,56	1,80	0,60
février "filtrée"	FT	3,37	11,19	15,37	0,65	8,53	1,11	2,87	0,12
	FH	4,62	8,33	11,04	0,58	9,75	1,29	3,90	0,44
	FP	4,35	11,66	15,66	0,83	6,04	1,14	4,09	0,22
février "non filtrée"	FTB	3,71	26,24	17,32	0,49	11,29	0,88	2,44	0,31
	FHB	3,97	26,99	16,11	0,70	11,14	0,86	1,07	0,04
	FPB	3,89	19,15	12,27	0,39	26,24	0,53	1,17	0,44
avril "filtrée"	AT	2,07	11,25	6,45	0,14	11,39	1,64	2,40	0,25
	AH	4,94	11,80	5,74	0,47	10,54	1,36	2,50	0,13
	AP	3,90	11,66	6,16	0,26	11,59	1,93	4,25	0,26
avril "non filtrée"	ATB	3,76	43,52	24,94	1,06	0,95	0,35	3,10	0,10
	AHB	5,36	43,00	24,38	1,06	0	0,90	3,44	0
	APB	4,61	26,29	17,00	0,92	16,35	1,01	3,30	0,16
juin "filtrée"	JT	3,18	2,56	4,84	0,62	10,35	0,98	3,82	0,02
	JH	7,84	3,04	4,45	0,39	10,46	1,04	5,23	0,37
	JP	8,94	2,80	4,45	0,54	11,43	2,00	3,65	0,22
juin "non filtrée"	JTB	2,88	0,24	0,25	0,07	9,56	0,81	2,15	0,21
	JHB	7,06	0,35	0,25	0,11	9,78	0,92	2,40	0,36
	JPB	21,77	0,21	0,05	0,11	0	0,53	1,45	0,36
août "filtrée"	UT	1,61	3,46	8,05	0,36	10,17	0,73	1,60	0,42
	UH	2,63	3,97	8,74	0,51	11,72	0,68	3,80	0,25
	UP	5,91	3,58	8,96	0,46	6,61	0,86	0,75	0,28
août "non filtrée"	UTB	0,36	0,97	11,53	0,38	7,33	0,62	1,20	0,12
	UHB	0,80	2,07	11,53	0,68	10,23	0,78	1,40	0,10
	UPB	1,39	1,21	11,34	0,73	8,93	0,75	2,05	0,03
octobre "filtrée"	OT	2,50	19,97	19,22	0,88	8,35	0,53	2,50	0,11
	OH	5,11	22,16	20,45	1,23	12,73	1,12	2,40	0,20
	OP	5,04	19,45	12,88	1,26	1,81	0,94	3,60	0
octobre "non filtrée"	OTB	3,30	14,69	12,05	0,59	19,05	0,43	3,10	0,51
	OHB	4,88	26,15	20,31	1,23	7,05	0,72	5,20	0,15
	OPB	5,14	24,48	19,30	1,18	0,43	1,01	7,60	0

ANNEXE III

Evolution des teneurs en éléments minéraux et organiques dissous dans les bacs expérimentaux au cours des cinq heures de stabulation pour les expériences réalisées en mars 1985 et en mai 1985.

mars 1985 : poids sec du lot d'huîtres = 17,55 g

mai 1985 : poids sec du lot d'huîtres = 18,81 g

MARS 1985

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h		1 h		2 h		3 h		4 h		5 h	
	30		29		28		27,2		26,5		25,8	
	témoïn	Huîtres										
N-NH ₄	9,23	10,46	10,70	13,60	10,40	13,20	11,93	11,26	6,40	11,75	4,80	11,32
N-NO ₃	29,01	26,92	26,96	26,93	26,00	26,66	26,36	26,96	26,35	26,95	26,93	27,18
N-NO ₂	0,86	0,79	0,75	0,78	0,75	0,81	0,75	0,86	0,76	0,88	0,78	0,89
Si-SiO ₃	21,59	18,53	20,16	18,53	18,52	18,32	18,73	18,53	18,93	18,53	18,73	17,92
P-PO ₄	1,54	1,54	1,56	1,74	1,63	1,76	1,63	1,72	1,67	1,74	1,65	1,83
DON	9,35	34,92	12,85	32,17	14,02	21,88	11,10	16,68	17,19	12,81	21,01	15,65
Urée	5,75	10,92	2,66	7,96	5,71	7,59	6,78	9,07	7,77	3,16	7,96	5,53
AA (éq.gly)	1,20	3,60	1,10	4,80	2,20	4,90	3,10	3,20	1,50	3,20	3,40	2,70
DOP	0,43	0,76	0,39	0,33	0,27	0	0,32	0	0,39	0,31	0,34	2,32

MAI 1985

Volume d'eau restant dans les bacs (l)	0 h		1 h		2 h		3 h		4 h		5 h	
	30		29,2		28,7		28,2		27,7		26,9	
	témoïn	Huîtres										
N-NH ₄	1,38	0,96	1,52	1,31	1,07	1,55	1,52	2,40	0,89	1,63	1,27	2,50
N-NO ₃	3,18	5,95	2,57	5,23	5,95	9,05	2,49	1,65	4,52	2,17	4,01	5,94
N-NO ₂	0,23	0,39	0,23	0,25	0,14	0,21	0,19	0,17	0,35	0,26	0,25	0,28
Si-SiO ₃	26,46	35,66	26,47	22,73	30,16	27,24	28,78	25,48	22,73	21,63	22,91	27,02
P-PO ₄	0,33	1,13	0,24	0,47	0,19	0,47	0,26	0,26	0,40	0,67	0,19	0,49
DON	28,54	30,79	37,10	31,72	33,31	23,47	19,60	41,01	20,43	39,74	16,61	39,80
Urée	15,30	23,09	14,01	6,74	13,33	7,88	3,56	7,65	14,92	4,01	6,52	19,52
AA (eq.gly)	4,70	4,70	3,40	2,70	1,00	1,15	1,05	1,20	2,15	1,56	2,86	2,30
DOP	0,27	0,34	0,80	0,41	1,01	0,92	0,10	1,38	0,05	1,31	0,18	2,51

ANNEXE IV

Biomasses maximales produites par les algues-test Haslea ostrearia et Skeletonema costatum au cours des expériences d'enrichissements différentiels réalisés à partir des eaux de décembre 1983. Les biomasses sont exprimées en densités numériques en cellules.

	<i>Haslea ostrearia</i> 10^6 cell.l^{-1}			<i>Skeletonema costatum</i> 10^6 cell.l^{-1}		
	témoin	après stabulation des Huîtres	après stabulation des Palourdes	témoin	après stabulation des Huîtres	après stabulation des Palourdes
EAU "FILTREE"						
R	7,75	9,22	11,50	72,77	92,77	88,88
N	7,32	3,64	10,50	61,66	71,66	108,33
P	6,94	7,48	6,64	112,77	97,22	80,55
Si	9,20	12,16	21,00	116,11	37,22	93,88
Vit	-	-	-	87,77	77,22	92,77
M	-	-	-	87,22	78,33	127,22
EDTA	-	-	-	83,88	57,22	95,00
NP	6,40	7,7	6,52	87,22	79,44	112,77
T	13,88	21,00	17,44	193,88	166,11	199,44
T-N	12,60	15,40	10,00	207,22	126,11	120,55
T-P	9,92	18,90	15,24	103,88	173,88	145,00
T-Si	13,56	12,10	6,20	108,33	136,11	132,77
T-Vit	8,58	11,68	17,60	90,55	160,55	175,00
T-M	culture détériorée	22,20	16,72	153,88	188,33	131,66
T-EDTA	12,28	9,70	9,94	128,33	176,11	167,22
T-NP	11,16	11,66	21,12	69,44	103,88	166,11
EAU "NON FILTREE"						
R	2,94	3,08	4,31	46,11	60,00	66,11
N	4,08	2,52	3,48	55,00	47,22	53,88
P	5,54	2,84	4,02	59,44	41,66	42,22
Si	5,28	7,84	6,28	culture détériorée	51,66	19,44
Vit	-	-	-	40,55	49,44	53,88
M	-	-	-	42,77	63,88	52,77
EDTA	-	-	-	32,77	41,66	59,44
NP	3,30	3,54	3,76	55,00	55,00	60,55
T	11,14	9,56	10,84	143,88	149,44	170,55
T-N	7,84	8,08	7,52	49,44	61,66	93,88
T-P	6,40	10,36	6,24	73,88	69,44	107,22
T-Si	3,22	5,04	3,30	69,44	62,77	56,11
T-Vit	7,44	7,16	12,36	70,55	91,66	111,66
T-M	8,16	7,88	7,00	85,00	65,00	89,44
T-EDTA	7,32	8,32	9,84	98,88	96,11	101,66
T-NP	9,40	10,04	10,12	97,22	57,22	96,11

ANNEXE V

Biomasses maximales produites par les algues-test Haslea ostrearia, Skeletonema costatum et Phaeodactylum tricornutum au cours des expériences d'enrichissements différentiels réalisés à partir des eaux d'avril 1984.

Les biomasses sont exprimées en densités numériques en cellules.

	<i>Haslea ostrearia</i> 10 ⁶ cell.l ⁻¹			<i>Skeletonema costatum</i> 10 ⁶ cell.l ⁻¹			<i>Phaeodactylum tricornutum</i> 10 ⁶ cell.l ⁻¹		
	témoïn	après stabulation des Huîtres	après stabulation des Palourdes	témoïn	après stabulation des Huîtres	après stabulation des Palourdes	témoïn	après stabulation des Huîtres	après stabulation des Palourdes
EAU "FILTREE"									
R	0,58	3,10	7,12	15,55	33,33	23,33	745,00	219,44	303,88
N	3,00	3,62	3,40	54,44	34,44	42,22	316,11	355,00	162,77
P	0,86	1,92	5,04	68,88	208,88	121,00	828,33	551,66	201,66
Si	2,96	9,64	8,00	197,22	333,33	208,88	625,00	868,33	121,66
Vit	0,62	5,16	1,14	30,00	72,22	51,11	745,00	535,00	146,11
M	2,60	2,46	1,44	42,22	104,44	44,44	601,66	245,00	408,33
EDTA	1,32	4,76	6,52	34,44	37,77	70,00	678,33	328,33	188,33
NP	1,32	2,40	3,30	62,22	78,88	128,88	1 113,88	538,33	301,66
T	3,32	18,32	13,84	208,88	425,55	266,66	1 198,33	888,33	975,00
T-N	0,66	3,80	7,32	14,44	216,66	268,88	591,66	873,33	945,00
T-P	0,58	4,46	12,36	25,55	40,00	18,88	78,50	848,33	975,00
T-Si	0,18	1, '6	13,04	165,55	154,44	53,33	908,33	548,33	223,88
T-Vit	1,66	12,68	10,56	54,44	24,44	46,66	1 205,00	745,00	799,99
T-M	0,12	9,52	3,08	83,33	21,11	58,88	958,33	611,66	698,33
T-EDTA	0,30	7,88	3,10	204,44	275,55	171,66	1 008,33	695,00	686,11
T-NP	1,42	10,20	3,20	34,44	24,44	14,44	828,33	261,66	310,55
EAU "NON FILTREE"									
R	0,86	3,32	9,17	76,66	112,22	153,33	365,00	495,00	751,66
N	0,22	1,34	17,12	27,77	36,66	76,66	371,66	505,00	785,00
P	0,98	2,04	9,50	72,22	187,77	231,11	608,33	901,66	995,00
Si	1,68	13,68	1,76	96,66	366,55	377,77	705,00	960,00	1 090,55
Vit	6,30	1,98	2,22	41,11	74,44	87,77	356,11	475,00	601,66
M	5,06	1,94	4,84	81,11	137,77	75,55	560,55	598,33	668,33
EDTA	1,70	1,54	20,36	93,33	267,77	140,00	380,55	568,33	636,11
NP	1,70	4,86	14,32	38,88	396,66	196,66	695,00	1 000,66	1 128,33
T	21,52	25,24	29,12	106,66	375,55	403,33	1 275,00	958,33	1 235,00
T-N	4,88	2,78	2,54	108,88	326,66	351,11	715,00	1 057,22	735,00
T-P	3,92	4,20	8,18	40,00	130,00	144,44	965,00	695,00	728,33
T-Si	4,64	1,44	3,96	117,77	290,00	247,77	965,00	830,55	941,66
T-Vit	3,08	6,04	9,46	68,88	236,66	165,55	831,66	861,66	798,33
T-M	1,14	3,64	2,38	71,11	123,33	78,88	721,66	669,44	1 030,55
T-EDTA	2,74	12,32	7,12	78,88	301,11	22,22	1085,00	781,66	1 185,00
T-NP	3,62	1,64	4,26	44,44	56,66	102,22	635,00	478,33	695,00