



Production des micro-algues des claires ostréicoles en relation avec l'azote organique dissous excrété par les huîtres

Claire à huîtres
Indice de fertilité
Azote organique dissous
Excrétion de l'huître
Photohétérotrophie

Oyster-pond
Yield index
Dissolved organic nitrogen
Excretion by oysters
Photoheterotrophy

J. M. Robert ^a, S. Y. Maestrini ^b, M. Héral ^c, Y. Zanette ^c

^a Laboratoire de Biologie marine, Université de Nantes, 2, Chemin de la Houssinière, 44072 Nantes Cedex, France.

^b Station Marine d'Endoume, Chemin de la Batterie-des-Lions, 13007 Marseille, France.

^c Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes, Laboratoire de cultures marines, Mus de Loup, 17390 La Tremblade, France.

RÉSUMÉ

L'utilisation de tests biologiques dans l'étude de la fertilité des eaux de claires ainsi que l'analyse chimique des réserves en sels nutritifs des mêmes eaux montrent qu'une part importante de la biomasse micro-algale peut être produite dans ces bassins, par assimilation par les cellules de substances organiques dissoutes. Ainsi, pour l'azote, des estimations indirectes aboutissent à des quantités de cet élément assimilé sous forme organique variant entre 0,6 et 30,7 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ selon les modes d'évaluation, les espèces et l'origine des eaux, c'est-à-dire jusqu'à six fois les quantités d'ions minéraux prélevés par les algues. Ces valeurs sont tout à fait en concordance avec les teneurs en azote organique dissous effectivement présentes dans les eaux de claires : entre 10 et 40 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ et jusqu'à 50 à 60 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ dans les bassins où des huîtres sont immergées. On ne peut donc exclure une relation entre ces fortes valeurs en azote organique dissous et les huîtres. D'ailleurs, il est démontré que l'huître *Crassostrea gigas* peut excréter 77 à 93 % de rejets azotés sous forme organique, l'ammoniaque n'en représentant que 10 à 33 % et la quantité d'urée excrétée atteignant jusqu'à trois fois celle d'ammoniaque. L'utilisation de ces formes organiques de l'azote par les algues des claires varie avec les espèces ; *Navicula ostrearia* semble être la mieux adaptée à ce type d'assimilation.

Oceanol. Acta, 1982. Actes Symposium International sur les lagunes côtières, SCOR/IABO/UNESCO, Bordeaux, 8-14 septembre 1981, 389-395.

ABSTRACT

Oyster-pond microalgal production and its relationships with the dissolved organic nitrogen excreted by the oysters.

Estimations of algal growth potential (AGP) of oyster-pond waters have been made by the use of bioassays and nutrient analysis. Data obtained demonstrated that nitrogen is the nutrient limiting AGP and that an important part of algal biomass is supported by organic nutrients. Such an uptake ranges from 0.6 to 30.7 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ nitrogen ; which represents up to six times the total amount of inorganic nitrogen taken up. U.V oxydation and subsequent chemical analysis shown DON concentrations in oyster-pond waters varied with oyster presence or absence : values recorded were 10-40 $\mu\text{g-at N.l}^{-1}$ when oysters were not present, and up to 50-60 $\mu\text{g-at N.l}^{-1}$ when oysters were covering the bottom of the pond. The oyster *Crassostrea gigas* was demonstrated to excrete 77-93 % DON, versus 10-33 % N-NH_4 ; urea excretion often represented three folds the NH_4 excretion. The capability to take up organic nutrients varies with algal species ; the diatom *Navicula ostrearia* appeared to be the most efficient one.

Oceanol. Acta, 1982. Proceedings International Symposium on coastal lagoons, SCOR/IABO/UNESCO, Bordeaux, France, 8-14 September 1981, 389-395.

INTRODUCTION

Le long du littoral atlantique français, entre Vilaine et Gironde, les ostréiculteurs pratiquent une opération particulière consistant à faire séjourner les huîtres dans des claires. Celles-ci sont des bassins de dimensions réduites (superficie de 300 à 400 m² et profondeur de 40 à 60 cm) creusés dans des marais naturels, dans des polders ou réaménagés dans d'anciens marais salants. Écosystèmes naturels présentant un sol d'origine sédimentaire et soumis, pour leur alimentation, au rythme des marées en eau de mer, les claires ont pour principale utilité de favoriser l'engraissement des huîtres et leur verdissement. L'engraissement est sous la dépendance de la grande richesse de ces milieux en phytoplancton et microphytobenthos (Rincé, 1979); le verdissement résulte de la prolifération de la diatomée pennée *Navicula ostrearia* Bory qui présente la particularité de synthétiser et de libérer un pigment bleu-vert hydrosoluble, la marenine.

De prime abord, il apparaît donc qu'une étroite relation existe entre les huîtres et les micro-algues de ces milieux lagunaires semi-confinés. Gaillon fit implicitement ce rapprochement en nommant en 1820 la diatomée bleue, *Vibrio ostrearius*. Ranson (1927) pressentit véritablement cette relation en attribuant la vivacité de *N. ostrearia* et sa pigmentation caractéristique à la présence de sucres provenant de la dégradation du mucus des huîtres: ainsi, au sujet des diatomées des claires, il posait déjà d'une manière implicite le problème de l'assimilation hétérotrophe connue depuis longtemps chez des algues d'eaux douces (Charpentier, 1903; Chick, 1903). C'est sur la base de ces observations de Ranson que Neuville et Daste (1974) ont testé expérimentalement l'aptitude à la nutrition hétérotrophe de 8 genres et 3 espèces de diatomées isolées des claires de Marennes-Oléron: les substrats carbonés (substances complexes, glucides, acides organiques, amino-acides) utilisés étaient fournis aux algues à l'abri de la lumière. Dans ces conditions, ces auteurs observèrent qu'une seule espèce pouvait croître à l'obscurité sur certaines substances complexes, ce qui représente une faible proportion par rapport à celles mentionnées par Lewin (1963) et Admiraal et Peletier (1979) à partir d'eaux saumâtres: ceux-ci mentionnent en effet qu'environ 50% des espèces isolées présentent des potentialités hétérotrophes à l'obscurité. C'est au cours de travaux d'écophysiologie sur la fertilité potentielle des eaux de claires pour des diatomées dominantes de ces milieux (Robert *et al.*, 1979; Maestrini, Robert, 1981) que nous avons été amenés à envisager la possibilité de photo-assimilation par ces algues, de composés organiques dissous, de formes organiques de l'azote plus particulièrement. Nous avons ainsi entrepris de rechercher ces potentialités d'assimilation par diverses méthodes, tout en montrant que les concentrations *in situ* des eaux de claires en ces composés sont à mettre en étroite relation avec les quantités d'azote organique pouvant être excrété par les huîtres.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les tests de fertilité

Les eaux étudiées proviennent d'un canal d'alimentation et de trois claires expérimentales dont deux sont contiguës (claire 1 et claire 2).

Les échantillons d'eau sont filtrés (1,2 µm) immédiatement après leur prélèvement, puis conservés à -20 °C. Après décongélation, les teneurs en N-NO₃, N-NO₂, N-NH₄ sont déterminées. Trois diatomées en culture unispécifique sont utilisées pour les tests: *Navicula ostrearia* Bory, *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin et *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. Les cellules sont inoculées après épuisement préalable de leurs réserves pendant 2 jours dans une eau très pauvre en sels nutritifs. Les cultures expérimentales sont maintenues à température constante, sous un éclairage

de $5,2 \times 10^{15}$ quanta.s⁻¹.cm⁻², à des alternances jour-nuit de 12 h-12 h, jusqu'à la fin des divisions cellulaires. Pour chacune des cultures, les teneurs en N-NO₃ et N-NO₂ sont à nouveau déterminées, après filtration sur filtre en fibres de verre Whatman GFC (porosité équivalente: 0,45 µm). Pour des détails supplémentaires, voir Robert *et al.* (1979). Les biomasses sont estimées en nombres cellulaires et par mesure des teneurs en chlorophylle-*a* (chl *a*). Les densités cellulaires sont mesurées au moyen de cellules hématimétriques de type Neubauer ou Nageotte selon la taille de chaque espèce. La méthode fluorimétrique de Yentsch et Menzel (1963) est utilisée pour l'estimation des teneurs en chl *a*.

Excrétion azotée de l'huître « creuse » *Crassostrea gigas* Thunberg

Des huîtres ont été prélevées sur différentes zones de parcs du bassin de Marennes-Oléron. Des lots de 10 individus de taille homogène (poids sec moyen = 1,4 g) sont constitués. Chaque lot est placé dans un bac contenant 30 litres d'eau de mer filtrée sur des membranes de porosité 1 µm. Avant d'être immergés, les mollusques ont subi un jeûne de 36 heures dans une eau de mer également filtrée sur le même type de membrane. L'eau de chaque bac est homogénéisée par un système de pompes et sa température régulée à 17 °C; un film paraffiné est placé à sa surface afin d'éviter tout échange avec l'air. L'expérience ne débute véritablement que 2 heures après l'immersion des huîtres dans les bacs; cette durée est jugée nécessaire pour que les mollusques retrouvent un « comportement » normal. Des prélèvements d'eau sont effectués toutes les 30 minutes par siphonnage. Les expériences durent 5 heures. Les teneurs en N-NH₄, N-NO₂ et N-NO₃ sont déterminées selon les mêmes méthodes que celles employées lors des tests de fertilité. La technique de Armstrong et Tibbitts (1968) est appliquée pour le dosage de l'azote organique dissous: après filtration, l'échantillon d'eau est soumis à une irradiation de 900 W, de longueur d'onde inférieure à 2 500 Å, pendant 8 heures, 2 gouttes d'H₂O₂ étant ajoutées pour favoriser l'oxydation par excès d'oxygène. Cette même méthode a été utilisée pour les dosages d'azote organique dissous dans les eaux naturelles.

Détermination des substances pouvant être utilisées comme sources d'azote par les algues unicellulaires de claires

Des échantillons aliquotes d'eau de claire ont été traités sur charbon actif préalablement lavé, puis enrichis avec le mélange d'Antia et Cheng (1970) dilué de moitié et ne contenant pas d'azote. Les différentes sources d'azote ont été ajoutées de manière à donner une concentration de 100 µg-at N.l⁻¹. Les cultures, réalisées en double, ont été incubées à 17 °C, avec un éclairage de 14 heures par jour, de $10,4 \times 10^{15}$ quanta.s⁻¹.cm⁻² environ. La croissance des cultures a été suivie par estimation journalière de la densité en cellules, au moyen d'une cellule de comptage Neubauer; les résultats sont exprimés par le rapport: nombre maximal de cellules obtenu, diminué de celui donné par les deux cultures témoins / la valeur obtenue avec NO₃.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Utilisation de l'azote minéral par les algues-tests

Des essais biologiques fondés sur l'estimation d'une biomasse maximale pouvant être supportée par une eau donnée et les quantités réelles de nutriments absorbés (*i.e.* « tests » de fertilité) ont permis de mettre en évidence l'évolution dans le temps de la fertilité d'une eau de claire (Robert *et al.*, 1979).

Dans ces conditions expérimentales, la réserve des eaux en formes minérales de l'azote, comme celles du phosphore et du silicium, n'est jamais totalement épuisée alors qu'il n'y a plus croissance de la population algale. L'azote, élément le

Tableau 1

Proportions moyennes (en pourcentage des valeurs initiales) de l'azote [$\sum N = N(NO_3 + NO_2 + NH_4)$] des eaux du canal et des trois claires, consommé par les trois algues-tests, *Navicula ostrearia*, *Phaeodactylum tricornutum* et *Skeletonema costatum*, au cours de l'incubation *in vitro*. Les eaux du canal et des claires ont été récoltées entre janvier 1977 et mars 1978. s, écart type.

Average relative quantities (percentage of initial contents) of nitrogen [$\sum N = N(NO_3 + NO_2 + NH_4)$] in the waters of the input channel and of the three "claires" occupied by the three test-algae during *in vitro* growth.

Station	<i>Navicula ostrearia</i>		<i>Phaeodactylum tricornutum</i>		<i>Skeletonema costatum</i>	
	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)
Canal	86	(11)	72	(20)	75	(25)
Claire 1	85	(13)	68	(13)	76	(16)
Claire 2	82	(17)	67	(17)	77	(16)
Claire 3	78	(22)	55	(17)	67	(20)

Tableau 2

Biomasse produite par microgramme-atome d'azote [$\sum N = N(NO_3 + NO_2 + NH_4)$] prélevé par les trois algues-tests *Navicula ostrearia*, *Phaeodactylum tricornutum* et *Skeletonema costatum* cultivées, *in vitro*, sur les eaux du canal et des trois claires. Les eaux ont été récoltées : 1) le 1^{er} janvier 1977 et mars 1978 et 2) entre avril 1978 et décembre 1978. La biomasse est exprimée par la densité cellulaire moyenne (10^4 cellules. μg at $^{-1}$) et la teneur moyenne en chlorophylle *a* ($chl a = \mu g$ chlorophylle *a*. μg at $^{-1}$). Les moyennes sont calculées sur 22 à 24 valeurs numériques en 1 et 13 à 14 valeurs numériques en 2. s, écart type.

Biomass produced per μg -atom (yield index) of nitrogen [$\sum N = N(NO_3 + NO_2 + NH_4)$] by the three test-algae *Navicula ostrearia*, *Phaeodactylum tricornutum* and *Skeletonema costatum* grown, *in vitro*, in the waters of the input channel and of the three "claires". The biomass is expressed by average cell density (10^4 cells- μg -at $^{-1}$) and the chlorophyll *a* produced (μg . μg -at $^{-1}$). Average values are calculated from 22 to 24 data in 1 and from 13 to 14 data in 2. s, standard deviation.

Station	<i>Navicula ostrearia</i>		<i>Phaeodactylum tricornutum</i>		<i>Skeletonema costatum</i>							
	10^4 cellules x(s)	μg -chl <i>a</i> x(s)	10^4 cellules x(s)	μg -chl <i>a</i> x(s)	10^4 cellules x(s)	μg -chl <i>a</i> x(s)						
Canal	1) 67	(39)	1,9	(0,8)	2 140	(1 190)	1,1	(0,7)	940	(710)	1,4	(1,0)
	2) 147	(71)	4,8	(2,4)	—	—	—	—	—	—	—	—
Claire 1	1) 171	(107)	3,9	(2,6)	6 700	(5 200)	2,4	(1,5)	2 300	(1 920)	3,0	(2,5)
	2) 174	(84)	6,8	(4,0)	—	—	—	—	—	—	—	—
Claire 2	1) 173	(108)	4,0	(2,7)	7 900	(5 800)	2,5	(2,0)	2 700	(2 500)	3,2	(3,0)
	2) 157	(125)	6,9	(4,0)	—	—	—	—	—	—	—	—
Claire 3	1) 145	(73)	4,6	(2,0)	5 300	(3 400)	2,9	(2,2)	1 900	(1 800)	3,1	(2,4)
	2) —	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

plus absorbé, n'est prélevé par *N. ostrearia* que pour 78 à 85 % de la réserve initiale et pour 55 à 77 % par les deux autres diatomées (tab. 1). Pour chacune des algues-tests, ces pourcentages sont du même ordre de grandeur dans les eaux du canal et des claires 1 et 2, mais plus faibles dans la claire 3. Cette première observation laisse supposer que dans les eaux étudiées, des formes chimiques assimilables de l'azote non prises en compte par les analyses effectuées sont présentes en quantités suffisantes pour supporter, par absorption directe ou après reminéralisation, une part importante de la biomasse, rendant limitant un autre facteur nutritionnel comme, par exemple, certains oligo-éléments. Si, en rapportant la biomasse des algues-tests au nombre d'atomes d'azote assimilés, on calcule le rendement de l'utilisation de cet élément par les trois espèces de diatomées, on constate que la biomasse produite par microgramme-atome d'azote consommé est nettement moins importante dans les eaux qui alimentent les claires que dans les eaux des claires elles-mêmes (tab. 2). Pour la diatomée *N. ostrearia*, cette même différence se retrouve à deux reprises, bien qu'entre les deux expériences les teneurs en chlorophylle *a* et les nombres cellulaires ne soient pas du même ordre de grandeur, très certainement à cause de conditions d'incubation différentes. De plus, les écarts liés à l'origine des eaux sont nettement plus importants que ceux imputables à la nature des espèces puisque, par exemple, les valeurs de l'indice de rendement sont les mêmes pour une

algue de grande taille comme *N. ostrearia* et une algue de petite taille comme *S. costatum* (tab. 2).

Au vu de ces résultats, nous avons pensé que l'azote organique présent dans le milieu devait avoir un rôle prépondérant dans la nutrition des algues de claires. Pour expliquer les phénomènes observés, nous avons donc estimé les quantités d'azote organique qui doivent être prélevées par les algues tests, puis nous avons vérifié si les concentrations réellement présentes *in situ* étaient compatibles avec les résultats obtenus.

Estimation indirecte des teneurs en azote organique devant être prélevées par les algues-tests, pour justifier les biomasses algales obtenues

En traçant les droites de régression de la biomasse produite par les algues-tests en fonction des quantités de N ($NO_3 + NO_2 + NH_4$) prélevées dans les eaux étudiées, nous constatons que ces droites ne passent généralement pas par l'origine et coupent l'axe des ordonnées. L'ordonnée à l'origine représente ainsi la biomasse algale produite en dehors de toute assimilation des formes analysées de cet

élément et l'intersection de ces droites avec l'axe des abscisses donne une estimation des quantités utilisées sous

Tableau 3

Estimation des quantités (μg -at. l^{-1}) d'azote assimilées par les diatomées *Navicula ostrearia*, *Phaeodactylum tricornutum* et *Skeletonema costatum* sous des formes chimiques non prises en compte par les analyses. L'estimation a été faite au moyen des droites de régression des quantités de chlorophylle *a* (1) et de cellules (2) produites en fonction des quantités d'ions minéraux prélevés dans les eaux. n.e = valeur non estimable.

Estimated quantities (μg -at. l^{-1}) of chemical forms of nitrogen not analysed but taken up by the diatoms *Navicula ostrearia*, *Phaeodactylum tricornutum* and *Skeletonema costatum*. Estimations are obtained from regression lines of chlorophyll *a* (1) or number of cells produced (2) versus number of atoms taken up in the waters. n.e = unestimable value.

Station	<i>Navicula ostrearia</i>		<i>Phaeodactylum tricornutum</i>		<i>Skeletonema costatum</i>	
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
Canal	3,1	24,9	7,8	12,4	0,6	3,8
Claire 1	17,0	n.e	n.e	n.e	n.e	n.e
Claire 2 (huîtres)	9,0	30,7	7,5	n.e	6,2	n.e
Claire 3	n.e	n.e	n.e	n.e	0,9	0,0

des formes chimiques autres que celles analysées (Maestrini, Robert, 1981).

L'ensemble des résultats obtenus pour les trois algues (tab. 3) montre que ces quantités représentent de 0,6 à 30,7 $\mu\text{g-at N.l}^{-1}$ selon les modes d'évaluation, les espèces et l'origine des eaux. Elles sont jusqu'à six fois supérieures au nombre d'atomes d'azote absorbés sous la forme d'ions minéraux. *N. ostrearia* est capable d'en puiser les plus grandes quantités, surtout si on la compare à *S. costatum*. De plus, pour les trois algues-tests, les eaux de claire ayant contenu des huîtres (claire 2) permettraient le prélèvement de quantités d'azote accrues ; les bivalves contribueraient donc de manière décisive à la libération de substances utilisables par les algues, probablement sous la forme d'urée et d'acides aminés que bon nombre d'algues sont susceptibles de prélever directement comme source d'azote (Antia *et al.*, 1975). Ainsi, dans la claire 2, les valeurs extrêmes varient entre 6,2 et 30,7 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ alors qu'elles sont comprises entre 0,6 et 24,9 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ avec les eaux du canal d'alimentation. Ces quantités sont étonnamment fortes et posent ainsi le problème de leur existence réelle *in situ*. Bien que la méthode d'évaluation indirecte que nous avons utilisée n'apparaisse pas comme étant très précise si on lui applique les tests statistiques (Maestrini, Robert, 1981), en nous fondant sur des concentrations mentionnées par d'autres auteurs pour différentes aires marines littorales et sur les résultats d'analyses que nous avons nous-mêmes effectuées avec différentes eaux de claires, il nous semble que nous pouvons retenir ce type d'estimation.

Concentrations en azote organique dissous de quelques eaux littorales et des eaux « ostréicoles » (analyse chimique directe)

Les eaux ostréicoles alimentant les claires contiennent en moyenne de 16,3 à 29,3 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ d'azote organique en baie de Bourgneuf (tab. 4) et environ 14 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ dans le bassin

Tableau 4

Teneurs moyennes en azote organique dissous ($\mu\text{g-at.l}^{-1}$) des eaux du canal et des claires 1 et 2 en baie de Bourgneuf, au cours de l'année 1978.

Average quantities of dissolved organic nitrogen ($\mu\text{g-at.l}^{-1}$) in the waters of the input channel and of the "claires" 1 and 2 in the Bay of Bourgneuf, during 1978.

Station	Printemps-été		Hiver	
	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)
Canal	29,3	(10,1)	16,3	(3,4)
Clair 1	38,2	(8,6)	18,9	(5,5)
Clair 2	39,5	(15,2)	20,4	(7,0)

de Marennes-Oléron (tab. 5). Dans les deux régions, ces valeurs sont nettement supérieures dans les eaux de claires

Tableau 6

Teneurs en azote organique dissous (N orga. dissous) en $\mu\text{g-at.l}^{-1}$, de quelques eaux néritiques. * Valeurs calculées à partir de teneurs en urée en utilisant un rapport moyen (urée)/(azote organique dissous) de 0,14.

*Dissolved organic nitrogen quantities (N orga. dissous) expressed in $\mu\text{g-at.l}^{-1}$, of some neritic waters. * Values calculated from urea quantities by utilizing the average quotient: urea/dissolved organic nitrogen = 0,14.*

Aire	N orga. dissous ($\mu\text{g-at.l}^{-1}$)	Référence
Cône amazonien	23,5 (amines primaires)	Daumas <i>et al.</i> (1979)
Côte de Géorgie	63*	Remsen <i>et al.</i> (1972)
Estuaires de quelques fleuves et rivières des États-Unis	19,5 à 40,0*	Remsen <i>et al.</i> (1974)
Vellar estuary (Inde)	2,4 à 44,1 en surface } 5,0 à 51,1 sur le fond }	Venugopalan et Rajendran (1975)
Baie de Mikawa (Japon)	3,3 à 49,2	Mitamura et Saijo (1975)
Côtes françaises de Bretagne-Sud	3,9 à 10,3	Le Corre <i>et al.</i> (1972)
Baie de Morlaix (Bretagne-Nord)	10,0 à 50,0	Wafar (1981)
Rade de Brest	1,4 à 20,0*	Le Jehan et Tréguer (1979-1980)

Tableau 5

Teneurs moyennes en azote organique dissous ($\mu\text{g-at N.l}^{-1}$) des eaux ostréicoles de Marennes-Oléron et de 3 claires expérimentales contenant, pour 2 d'entre elles, des huîtres à des densités différentes. Les valeurs correspondent à la période comprise entre juin et décembre 1980.

Average quantities of dissolved organic nitrogen ($\mu\text{g-at N.l}^{-1}$) in the oyster waters of Marennes-Oléron and of three experimental "claires" containing, for two of them, oysters at different densities. The values correspond to the period from June to December 1980.

Station	Eau de surface		Eau interstitielle	
	\bar{x}	(s)	\bar{x}	(s)
Bassin de Marennes-Oléron	14,2	(3,6)	—	—
Clair A (sans huîtres)	30,8	(6,7)	22,4	(11,5)
Clair B (4 huîtres.m ⁻²)	28,2	(6,1)	41,3	(10,9)
Clair C (22 huîtres.m ⁻²)	34,3	(8,5)	37,3	(14,2)

puisqu'elles atteignent jusqu'à près de 40 $\mu\text{g-at. N.l}^{-1}$. Ces teneurs sont moins fortes en hiver (tab. 4), sans doute à cause de la diminution d'activité des huîtres, alors qu'elles sont maximales au printemps et en été, surtout dans les claires contenant de fortes densités de ces mollusques (tab. 4 et 5). Dans des bassins de stockage où les charges en huîtres sont les plus fortes, il n'est pas rare de trouver jusqu'à 65 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ d'azote organique dissous. Ainsi, l'ensemble des résultats tend à montrer que dans les eaux baignant les parcs ostréicoles, les valeurs se répartissent entre 14 et 30 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$. Ainsi, toutes ces valeurs restent nettement supérieures à celles que nous avons estimées comme ayant dû être assimilées par *N. ostrearia*, *S. costatum* et *P. tricornutum* pour justifier les résultats obtenus avec les tests biologiques. Ces valeurs calculées correspondent également à des concentrations déjà mentionnées pour d'autres régions de l'océan mondial en zones littorales réduites (tab. 6). Ainsi, Mitamura et Saijo (1975) font état de concentrations très fortes en urée comprises entre 1,3 et 5,9 $\mu\text{g-at. N.l}^{-1}$ dans la baie de Mikawa. Selon ces auteurs, l'urée représentant 12 à 40 % de la matière organique dissoute, on peut estimer les valeurs extrêmes en azote organique à 3,3 et 49,2 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$, soit 2 à 5 fois les concentrations en ions nitrate. Dans la baie de Morlaix, Wafar (1981) signale des valeurs de 50 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ alors qu'à 3 milles au large de Roscoff où l'influence des apports détritiques de la rivière de Morlaix ne se fait plus sentir, les teneurs maximales ne sont que de 10 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$, valeurs identiques à celles estimées par Le Corre *et al.* (1972) sur les côtes françaises en Bretagne sud. De même, dans les rades et estuaires, les teneurs en azote organique dissous sont du même ordre de grandeur (cf. tab. 6).

Tableau 7

Teneurs en azote organique dissous ($\mu\text{g-at.l}^{-1}$) de quelques eaux océaniques de surface.*Dissolved organic quantities in some oceanic surface waters.*

Aire	N organique dissous ($\mu\text{g-at N.l}^{-1}$)	Référence
Trois Océans	3,5 à 7,5	Williams (1975)
Mer Méditerranée		
Mer Noire	10,0 à 19,0	Butler <i>et al.</i> (1979)
English Channel		
Eaux du Pérou (Sud de Pisco)	15,0 (moyenne)	Remsen (1971)
Mer des Sargasses		
Plateau continental entre les Caps Cod et May (USA)		
	15,0 (moyenne)	
	21,0 (moyenne)	

En mer ouverte, la fraction organique dissoute reste importante (cf. tab. 7), quoique les valeurs soient environ deux fois inférieures à celles évaluées en zones littorales. Néanmoins, elles peuvent atteindre $20 \mu\text{g-at. N.l}^{-1}$, ces concentrations demeurant d'ailleurs dans de plus grandes proportions que celles des ions minéraux présents.

En définitive, la plupart des valeurs calculées se rapportant à l'azote assimilé par les algues sous des formes autres que ioniques sont loin de dépasser les teneurs des substances organiques dissoutes relevées dans diverses aires marines. Il meure en outre que les eaux de claires contiennent toujours plus d'azote organique dissous que les eaux néritiques qui les alimentent, surtout en présence d'huîtres. Il convenait donc de vérifier si les bivalves sont susceptibles d'excréter des quantités de substances compatibles avec les valeurs mentionnées ci-dessus. C'est dans ce but qu'une première expérimentation a été réalisée pour déterminer la nature et estimer les quantités des différentes formes chimiques minérales et organiques de l'azote excrété par l'huître *Crassostrea gigas* Thunberg.

Importance de l'excrétion azotée de l'huître *Crassostrea gigas*

L'analyse expérimentale des différentes formes chimiques azotées excrétées par l'huître « creuse » en été montre que, après deux à trois heures d'expérience, ces organismes ont rejeté environ 50 à 60 $\mu\text{g-at}$ d'azote organique par gramme de matière sèche c'est-à-dire de 17 à 30 $\mu\text{g-at.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ en moyenne. Cette forme chimique représente de 77 à 93 % des rejets azotés du mollusque, alors que N-NH_4 n'en représente que 10 à 33 %. L'urée est la principale substance excrétée ; son taux d'excrétion relatif, qui varie de 30 à 80 % du total des rejets, est jusqu'à trois fois environ plus élevé que celui de l'ammoniaque. Ces valeurs, qui ont été obtenues avec des individus ne recevant aucune nourriture, correspondent au métabolisme de base ; on peut donc les considérer comme étant des valeurs minimales en été. Néanmoins, ces résultats montrent clairement que l'ammoniaque n'est pas, pour l'huître « creuse », la principale forme chimique d'excrétion de l'azote en période estivale. En cela, nos premières observations s'opposent à celles réalisées sur divers bivalves par plusieurs auteurs et dont les travaux ont été recensés par Bayne *et al.* (1976). Si l'on rapporte les taux d'excrétion estimés *in vitro* aux populations d'huîtres de claire, en prenant pour base les normes moyennes de 4 et 22 individus par m^2 utilisées par les ostréiculteurs pour l'affinage des huîtres (poids secs totaux = 6 et 31 g.m^{-2} de chair sèche), on peut obtenir une valeur approchée du taux d'excrétion en azote de 130 à 710 $\mu\text{g-at.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$, c'est-à-dire 0,35 à 1,80 $\mu\text{g-at.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$, en considérant que la hauteur moyenne de l'eau des claires est de 40 cm. Cela conduirait à une concentration journalière maximale de 8 à 40 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ environ, si on admettait que l'excrétion de l'huître est permanente et constante, ce qui n'est très certainement pas le cas. Sachant que les eaux de claire ne sont pas renouvelées pendant huit jours environ, on pourrait supposer qu'avant chaque alimentation en eau, se sont accumulés de 60 à 340 $\mu\text{g-at.l}^{-1}$ d'azote organique provenant de l'excrétion des huîtres. Cette estimation est

loin d'être précise, puisqu'elle ne tient pas compte du rythme d'activité métabolique de l'huître et des phénomènes d'adsorption, d'absorption par certains animaux, de minéralisation bactérienne, d'oxydation et de consommation. De plus, le taux d'excrétion est sous la dépendance de facteurs internes ou externes, comme l'ont montré Bayne *et al.* (1976) et Srna et Baggaley (1976) chez l'huître *Crassostrea virginica*. Dans l'attente de résultats plus précis, nous pouvons considérer les valeurs théoriques données ci-dessus comme étant grossièrement représentatives du rôle joué par l'huître de claire.

Ainsi, arrivés à ce stade de nos recherches, trois résultats peuvent être considérés comme acquis :

- 1) la production de biomasse algale dans les eaux de claire ne peut être expliquée par la seule assimilation des ions minéraux de l'azote qui est le nutriment limitant. Une autre source doit donc intervenir, c'est l'azote organique dissous ;
 - 2) les concentrations en azote organique des eaux sont compatibles avec les quantités nécessaires pour expliquer la production observée ;
 - 3) les huîtres participent activement, par leur excrétion, au maintien de concentrations élevées en azote organique.
- En revanche, nous n'avons pas encore la preuve expérimentale de l'aptitude que nous prêtons aux algues de claire d'assimiler l'azote organique dissous excrété par les huîtres. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons entrepris de déterminer l'éventail des substances pouvant servir comme source d'azote aux principales espèces d'algues de claire.

Éventail des substances pouvant être utilisées comme sources d'azote par les algues unicellulaires de claire

La détermination des substances pouvant servir comme seule source d'azote pour des algues unicellulaires, passe obligatoirement par l'obtention de souches en culture axénique. Aucune collection d'algues de claire n'étant actuellement disponible, nous avons procédé à l'isolement du matériel indispensable. Ainsi, une quinzaine d'espèces a déjà été mise en culture ; parmi celles-ci, la diatomée de très petite taille *Nitzschia* sp., cf. *ovalis* Arnott, maintenue en culture uni-algale abactérienne, nous a permis d'obtenir les premiers résultats.

Ainsi, il ressort que la diatomée étudiée utilise cinq substances organiques sur sept et que, pour deux d'entre elles, la croissance est très nettement supérieure à celle obtenue en présence des seuls ions NO_3 ou NH_4 (tab. 8). Cette algue constitue un premier test significatif d'utilisation de l'azote organique par la voie photohétérotrophe, d'autant plus qu'elle est fréquente dans les eaux des claires sans toutefois dominer dans les peuplements micro-algaux. Néanmoins, nous nous garderons de toute généralisation hâtive avant de faire état d'une opinion définitive, et une série d'expérimentations avec plusieurs espèces d'algues sera réalisée en prenant pour modèles les contributions de Guillard (1963), Wheeler *et al.* (1974) et Antia *et al.* (1975). La diatomée *N. ostrearia*, espèce caractéristique des claires, retient plus particulièrement notre attention. Il paraît en effet important de savoir si une capacité plus grande de cette espèce à assimiler les substrats organiques n'est pas à

Tableau 8

Croissance de la diatomée *Nitzschia sp. cf ovalis*, en fonction de la nature de la source d'azote. * : croissance (= biomasse maximale obtenue) avec NO_3 (C_{NO_3}); ** = 1,25 C_{NO_3} ; *** = 1,5 C_{NO_3} ; **** = > 1,5 C_{NO_3} ; — = pas de croissance.

Growth of the diatom *Nitzschia sp. cf ovalis*, cultivated on different sources of nitrogen. * : growth (= maximal biomass obtained) with NO_3 (C_{NO_3}); ** = 1,25 C_{NO_3} ; *** = 1,5 C_{NO_3} ; **** = > 1,5 C_{NO_3} ; — = no growth.

Élément ou substance	Croissance
NO_3	*
NH_4	**
Urée	**
Acide glutamique	**
Hypoxanthine	**
Glycine	***
Glucosamine	****
Créatine	—
Taurine	—

l'origine des multiplications intensives qui la caractérisent dans les claires, alors qu'elle n'apparaît que très discrètement dans les eaux néritiques. Des recherches sont en cours de réalisation pour vérifier cette hypothèse.

CONCLUSION

Les claires à huîtres constituent des milieux biologiquement très riches, où les producteurs primaires présentent toujours une biomasse très dense. La matière organique dissoute y prend également une importance accrue par rapport aux eaux océaniques, étant donné les grandes densités de mollusques susceptibles d'être immergées dans ces bassins semi-confinés.

RÉFÉRENCES

- Admiraal W., Peletier H., 1979. Influence of organic compounds and light limitation on the growth rate of estuarine benthic diatoms, *Br. Phycol. J.*, **14**, 197-206.
- Antia N. J., Cheng J. Y., 1970. The survival of axenic cultures of marine phytoplanktonic algae from prolonged exposure to darkness at 20 °C, *Phycologia*, **9**, 179-183.
- Antia N. J., Berland B. R., Bonin D. J., Maestrini S. Y., 1975. Comparative evolution of certain organic sources of nitrogen for phototrophic growth of marine microalgae, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **55**, 519-539.
- Armstrong F. A., Tibbitts S., 1968. Photochemical combustion of organic matter in sea water, for nitrogen, phosphorus and carbon determination, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **48**, 143-152.
- Bayne B. L., Widdows J., Thompson R. J., 1976. Physiology, 2, in : *Marine mussels, their ecology and physiology*, edited by B. L. Bayne, Cambridge University Press, Cambridge, 224-247.
- Butler E. I., Knox S., Liddicoat M. I., 1979. The relationship between inorganic and organic nutrients in sea water, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **59**, 239-250.
- Charpentier P. G., 1903. Alimentation azotée d'une algue, le « *Cystococcus humicola* », *Ann. Inst. Pasteur*, **17**, 321-334.
- Chick H., 1903. A study of a unicellular green alga, occurring in polluted water, with especial reference to its nitrogenous metabolism, *Proc. R. Soc. London*, **71**, 458-476.
- Daumas R., Laborde P., Paul R., Romano J. C., Sautriot D., 1979. Les mécanismes de transformation de la matière organique en Atlantique intertropical. Étude de la minéralisation et de la diagénèse dans les sédiments superficiels, in : *Géochimie organique des sédiments marins profonds*, Orgon II, Atlantique NE Brésil, octobre 1975, édité par A. Combaz et R. Pelet, CNRS, Paris, 43-86.

Ainsi, une part non négligeable des biomasses phytoplanktonique et microphytobenthique est produite à partir des formes organiques des éléments biogènes. L'origine de ces substances est à rechercher dans la minéralisation des nombreuses particules sestoniques apportées par les eaux d'alimentation ou produites sur place. Les huîtres participent activement à ce processus, mais leurs produits d'excrétion ne profitent pas uniformément à toutes les espèces d'algues de claires. En l'état actuel de nos connaissances, nous avons montré expérimentalement qu'une espèce, parmi les diatomées de claire, était capable d'assimiler diverses substances organiques avec, parfois, plus d'efficacité qu'en présence de formes minérales de l'azote. En outre, à partir des résultats obtenus, on peut supposer que l'aptitude plus grande de certaines espèces comme *N. ostrearia* à absorber des formes organiques de l'azote, leur confère un avantage concrétisé par une domination permanente ou épisodique dans les eaux de claires, alors que ces mêmes espèces sont très discrètes dans les eaux néritiques. L'analyse de ces substances contenues dans les eaux naturelles, puis la comparaison des différentes sources potentielles d'azote pouvant être utilisées par les algues avec celles présentes *in situ* devrait nous apporter la confirmation de ces premiers résultats.

Dans leur ensemble, les claires constituent un site d'expérimentations privilégié où l'intrication de différents processus chimiques et biologiques peut être en partie démêlée. Air ces résultats permettent d'espérer une meilleure compréhension du cycle et du bilan de l'azote dans l'écosystème lagunaire que constitue la claire.

Remerciements

L'aide financière du Centre National pour l'Exploitation des Océans (CNEXO ; contrats 79-2128, 80-2278 et 80-2248) a permis la réalisation de ce travail.

Gaillon B., 1820. Des huîtres vertes et des causes de cette coloration, *J. Phys. Chim. Hist. Nat. Arts*, **91**, 222-225.

Guillard R. R. L., 1963. Organic sources of nitrogen for marine centric diatoms, in : *Symposium on marine microbiology*, edited by C. H. Oppenheimer, Springfield, Illinois, C. C. Thomas, 93-117.

Le Corre P., Tréguer P., Courtot P., 1972. Évaluation de la matière organique dissoute dans les eaux côtières de la Bretagne méridionale en avril 1970, *Cah. Biol. Mar.*, **13**, 443-445.

Le Jehan S., Tréguer P., 1979-80. Évolution de la concentration en urée dans les eaux de la rade de Brest et en Manche occidentale, *Océanis*, **5**, 627-635.

Lewin J. C., 1963. Heterotrophy in marine diatoms, in : *Symposium on marine microbiology*, edited by C. H. Oppenheimer, Springfield, Illinois, C. H. Thomas, 229-235.

Maestrini S. Y., 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**, 1, 13-21.

Mitamura O., Saijo Y., 1975. Decomposition of urea associated with photosynthesis of phytoplankton in coastal waters, *Mar. Biol.*, **30**, 67-72.

Neuville D., Daste Ph., 1974. L'hétérotrophie chez les diatomées des claires ostéocoles, *Rev. Gén. Bot.*, **81**, 299-313.

Ranson G., 1927. L'absorption des matières organiques dissoutes par la surface extérieure du corps chez les animaux aquatiques, *Ann. Inst. Océanogr. Paris*, **4**, 49-174.

Remsen C. C., 1971. The distribution of urea in coastal and oceanic waters, *Limnol. Oceanogr.*, **16**, 5, 732-740.

Remsen C. C., Carpenter E. J., Schroeder B. W., 1972. Competition for urea among estuarine microorganisms, *Ecology*, **53**, 921-926.

Remsen C. C., Carpenter E. J., Schroeder B. W., 1974. The role of urea in marine microbial ecology, in : *Effect of the ocean environment on microbial activities*, edited by R. R. Colwell and R. Y. Morita, Univ. Park Press, Baltimore, 286-304.

Rincé Y., 1979. Cycle saisonnier des peuplements phytoplanctonique et microphytobenthique des claires ostréicoles de la baie de Bourgneuf, *Rev. Algol., N. S.*, **14**, 4, 297-313.

Robert J. M., Maestrini S. Y., Bagès M., Dréno J. P., Gonzalez-Rodriguez E., 1979. Estimation, au moyen de tests biologiques, de la fertilité pour trois diatomées des eaux des claires à huîtres de Vendée, *Oceanol. Acta*, **2**, 3, 275-286.

Srna R. F., 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.

Venugopalan V. K., Rajendran A., 1975. Dissolved and particulate

nitrogen in Vellar estuary, *Bull. Dept. Mar. Sci. Univ. Cochin*, **7**, 4, 885-897.

Wafar M. V. M., 1981. Nutrients, primary production and dissolved and particulate organic matter in well-mixed temperate coastal waters (Bay of Morlaix-western English Channel), *Thèse Doct. 3^e cycle, Univ. Paris*, 226 p.

Wheeler P. A., North B. B., Stephens G. C., 1974. Amino acid uptake by marine phytoplankters, *Limnol. Oceanogr.*, **19**, 249-259.

Williams P. J. le B., 1975. Biological and chemical aspects of dissolved organic material in sea water, in : *Chemical oceanography*, 2nd ed., edited by J. P. Riley and G. Skirrow, Acad. Press, London, 301-363.

Yentsch C. S., Menzel D. W., 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and pheophytin by fluorescence, *Deep-Sea Res.*, **10**, 221-231.