

**MESURE DE LA RETENTION DE *SKELETONEMA COSTATUM* PAR  
*RUDITAPES PHILIPPINARUM* (MOLLUSQUE, BIVALVE) EN FONCTION DE  
LA LONGUEUR DES COLONIES ALGALES : PRINCIPES  
METHODOLOGIQUES**

SAURIAU P.G.<sup>1</sup> et BAUD J.P.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Laboratoire de Biologie Marine, 2, rue de la Houssinière, 44072 NANTES Cédex 03

<sup>2</sup> IFREMER, Polder des champs, 85230 BOUIN

**RESUME :** La détermination de l'influence du polymorphisme en longueur de la diatomée coloniale *Skeletonema costatum* sur les capacités écophysiologicals du mollusque bivalve *Ruditapes philippinarum* a nécessité une transformation des données habituellement obtenues par les compteurs électroniques de particules. Les résultats volumétriques obtenus lors des comptages peuvent être convertis en résultats métriques sous trois conditions : stabilité du diamètre valvaire intrachaîne algale, indépendance entre la longueur des colonies algales et leur diamètre valvaire, taux de coïncidence du comptage des particules voisin de zéro. Après vérification expérimentale de ces trois conditions, la longueur moyenne (l) d'une chaîne de *S.costatum* est reliée au diamètre valvaire moyen (d) des colonies et au diamètre sphérique (D) propre à chaque canal du compteur de particules. La formulation est :  $l = 4 D^3 / 6 d^2$ . L'application de cette méthode de calcul est discutée.

**Mots clés :** diatomée coloniale, *Skeletonema costatum*, nutrition, *Ruditapes philippinarum*

**DETERMINATION OF RETENTION EFFICIENCY OF *SKELETONEMA COSTATUM* BY *RUDITAPES PHILIPPINARUM* (MOLLUSCA, BIVALVIA) RELATED TO THE SIZE OF THE DIATOM ALGAE : METHODOLOGICAL ASPECTS**

**ABSTRACT :** Based on Coulter Counter data, a new method is proposed to study the influence of the polymorphous variability in size as well as in shape of the diatom species *Skeletonema costatum* on the physiological performances of the Manila clam *Ruditapes philippinarum*. Three conditions are required in order to convert volumetric data determined with the Coulter Counter into metric data, i.e. (1) stability of the perivalvar diameter of the diatom chains, (2) statistical independence between length and perivalvar diameter of the diatom chains, and (3) negligible level of coincident passages through the aperture orifice. Under these three conditions, the mean length (l) of a *S.costatum* chain can be related to the mean perivalvar diameter (d) of diatom chains and to the spherical diameter (D) of each channel of the Coulter Counter. The mean length (l) of a *S.costatum* chain is then estimated by  $l = 4 D^3 / 6 d^2$ . Application of this analytic method is discussed.

**Keywords :** size, diatom, *Skeletonema costatum*, feeding, *Ruditapes philippinarum*

## INTRODUCTION

La présence d'eau salée souterraine de composition minérale constante et à faible profondeur dans le sous-sol des marais de l'Ouest de la France a permis de promouvoir dans les Pays de Loire l'aquaculture intensive de la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* (Adams et Reeve) à partir d'une nourriture phytoplanctonique mono-spécifique de *Skeletonema costatum* Greville (Baud et Dréno, 1987; Baud et Haure, 1989). Après la maîtrise des techniques permettant d'effectuer le prégrossissement (Baud et Bacher, 1990) et le demi-élevage de *R. philippinarum* (Baud et Haure, 1989), la mise au point de l'élevage intensif jusqu'à une taille commerciale a nécessité la quantification des effets de nombreux paramètres. Outre l'optimisation des divers paramètres aquacoles permettant de minimiser les coûts de production tout en maximisant les performances de croissance de *R. philippinarum* (Baud et al., 1990) il est apparu nécessaire de déterminer l'éventuelle influence de la variabilité morphologique de la nourriture monospécifique utilisée. En effet, *Skeletonema costatum* est une diatomée coloniale qui forme des chaînes de longueur et de diamètre valvaire variables (Berland et al., 1973; Hasle, 1973; Paasche, 1973). Cette forte variabilité morphologique peut alors avoir deux conséquences majeures. La première concerne une possible répartition spatiale non homogène de l'algue aussi bien verticalement qu'horizontalement dans la colonne d'eau du système d'élevage, du fait d'une vitesse de sédimentation corrélée à la longueur des colonies (Smayda et Boleyn, 1966). La seconde conséquence consiste en une non-équiprobabilité de rétention de toutes les classes de tailles algales par le filtre branchial de la palourde japonaise (Bernard, 1983; Gouletquer et al., 1989). La résolution de ces deux questions passe alors par la prise en compte de la variable "longueur de chaîne algale" lors des études de cinétique de sédimentation algale et des études écophysiologicals de rétention de *Skeletonema costatum* par le mollusque. Or les moyens analytiques classiquement utilisés pour ce faire, c'est-à-dire un compteur de particule, ne permettent pas de tenir compte directement de cette variable.

Le but du présent travail est d'exposer la méthode de calcul qui permet de transformer les résultats volumétriques obtenus par le compteur de particule en résultats métriques de façon à recomposer la structure de fréquences de longueur de la population algale analysée.

## METHODOLOGIE

Le principe méthodologique est le suivant :

- le compteur de particules fournit des résultats exprimés en unité de volume d'une particule supposée sphérique (Samain et al., 1985).

Soit  $V_{sp}$  le volume et  $D$  le diamètre de la particule fictive :

$$V_{sp} = \pi D^3 / 6 \quad (\text{formule 1})$$

- une chaîne de *Skeletonema costatum* peut être assimilée à un cylindre de diamètre  $d$  et de longueur  $l$  (Ricard, 1987; Round et al., 1990).

Soit  $V_c$  le volume cylindrique de cette particule :

$$V_c = \pi d^2 l / 4 \quad (\text{formule 2})$$

Trois conditions sont requises pour pouvoir poser l'égalité des formules 1 et 2. Ces hypothèses sont :

### 1. Diamètre valvaire intrachaine constant

Bien qu'il puisse exister des exceptions, principalement démontrées expérimentalement (Round et al., 1990), les divisions cellulaires nécessaires au mode de reproduction végétatif des diatomées

s'accompagne généralement d'une diminution du diamètre valvaire de la cellule algale (Round, 1972). Ce phénomène n'est cependant pas illimité car lorsque la diminution du diamètre valvaire atteint 60 à 80% de la valeur initiale, il y a induction d'une reproduction sexuée (Drebes, 1977). Ces phénomènes de reproduction sexuée peuvent aussi être induits par des facteurs de l'environnement et ils aboutissent alors à la formation d'auxospores : c'est l'auxosporulation. Le diamètre valvaire reprend alors sa valeur maximale (Drebes, 1977).

Toute population naturelle de *Skeletonema costatum* est ainsi constituée d'un mélange de colonies de diamètre très variable. Dans le cas de la culture de *S. costatum* sur eau de forage, le diamètre valvaire prend des valeurs extrêmes allant de 2,5  $\mu\text{m}$  à 10  $\mu\text{m}$  pour une moyenne de l'ordre de 4 à 5  $\mu\text{m}$  (Fig. 1). Le polymorphisme se traduit aussi en longueur avec un nombre de cellules par colonie variant de 2 à 20 pour une valeur modale de 6 cellules par colonies, ce qui correspond à une taille de 50  $\mu\text{m}$ . Il est rarement observé dans ce milieu de culture des chaînes de plus de 20 cellules (taille supérieure à 160  $\mu\text{m}$ ).

Au sein d'une même chaîne de *Skeletonema costatum*, les divisions cellulaires successives induisent une diminution de diamètre valvaire entre la cellule mère et les cellules filles formées. Cette diminution dépend, en théorie, d'une part du nombre de divisions cellulaires et, d'autre part, de l'épaisseur de la paroi des valves siliceuses. L'hypothèse d'une invariance du diamètre valvaire intrachaine est testée à partir des photographies prises en microscopie électronique à balayage et estimation de l'épaisseur des valves siliceuses.

## 2. Type de relation entre la longueur de la chaîne et le diamètre valvaire.

Une observation rapide de la morphologie des chaînes de *Skeletonema costatum* (Fig. 1 et 2) laisse supposer l'existence d'une

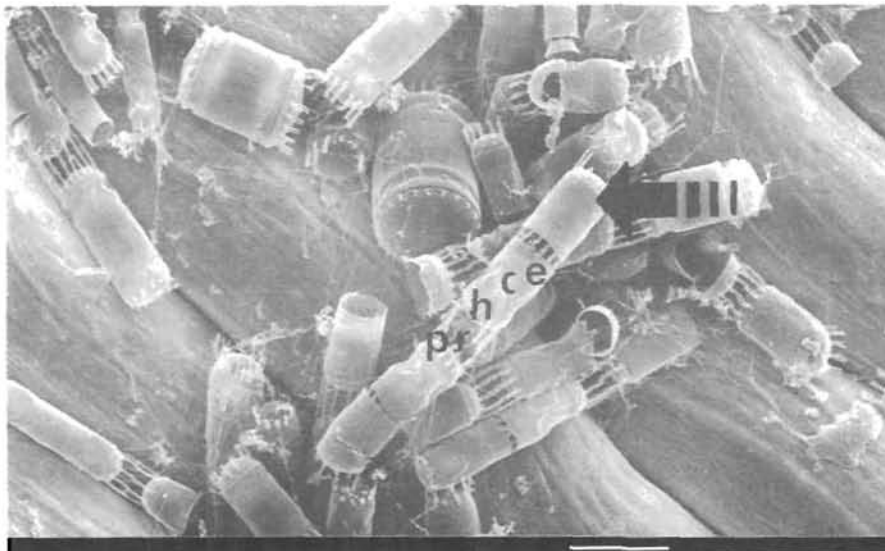


Fig. 1. Photographie prise en microscopie électronique à balayage d'un échantillon de colonies de *Skeletonema costatum* cultivée sur eau de forage. Mise en évidence du polymorphisme du diamètre valvaire. Echelle de 10  $\mu\text{m}$ . Selon la terminologie de Anonymous (1975) : e = épivalve, h = hypovalve, pr = processus renforcés et c = cingulum. Flèche : colonie de 4 cellules.

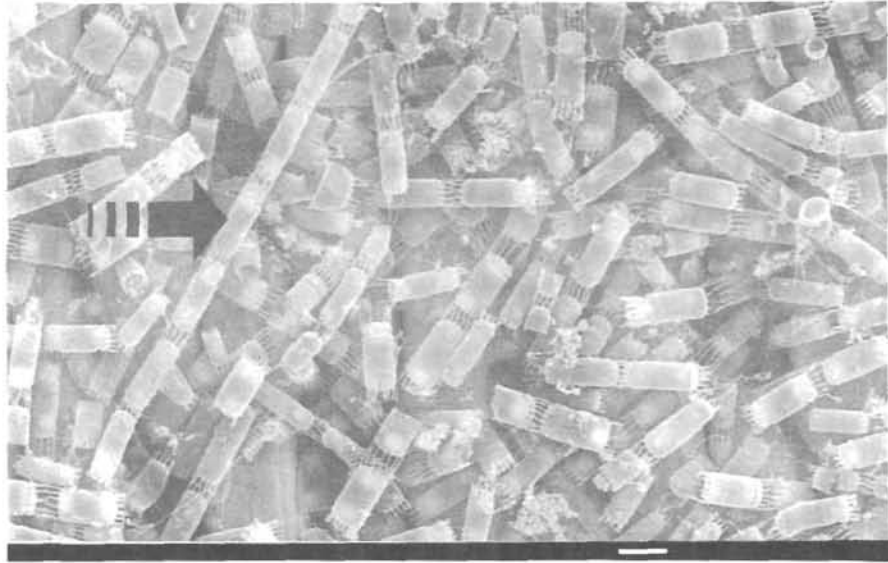


Fig. 2. Photographie prise en microscopie électronique à balayage d'un échantillon de colonies de *Skeletonema costatum* cultivée sur eau de forage. Mise en évidence du polymorphisme en longueur. Echelle de 10  $\mu\text{m}$ . Flèche : colonie de 12 cellules.

relation entre la longueur de la chaîne et son diamètre valvaire. Il apparaît en effet de longues colonies de diamètre cellulaire petit à moyen et de courtes colonies voire des cellules isolées de fort diamètre. De manière à préciser cette relation et en évitant un possible artefact dû aux préparations nécessaires à l'observation en microscopie électronique à balayage, 200 chaînes algales ont été observées *in vivo* en microscopie optique. Les mensurations ont été effectuées au micromètre avec une précision de 0,5  $\mu\text{m}$ .

### 3. Taux de coïncidence particulière voisin de zéro

Lors du fonctionnement du compteur de particules TA II, le passage simultané de plusieurs particules dans l'orifice de la sonde permet de définir le taux de coïncidence. Il est possible de diminuer ce taux de coïncidence soit en augmentant le diamètre de la sonde (pour le cas de *Skeletonema costatum* une sonde de diamètre 100  $\mu\text{m}$  a été retenue), soit en diminuant la concentration de la suspension algale mesurée. C'est la solution qui a été adoptée. La suspension algale utilisée expérimentalement contient 200 cellules par  $\mu\text{l}$ . Une dilution au 1/5 permet de se rapprocher des conditions optimales de mesure au compteur de particules avec un taux de coïncidence variant de 0 à 5%.

Dans le cas contraire, lorsque le taux de coïncidence dépasse 5%, cela équivaut à mesurer plusieurs particules simultanément et à introduire un biais qui a pour conséquence de surestimer la proportion de chaînes algales de grand volume et donc de grande taille.

## RESULTATS

### Hypothèse de stabilité du diamètre valvaire intrachaîne

D'après Hasle (1973) l'épaisseur des valves de *Skeletonema costatum* peut être estimée à environ  $220 \cdot 10^{-3} \mu\text{m}$ , valeur confirmée par nos

propres observations en microscopie électronique à balayage. Ainsi pour une chaîne de 8 cellules formée après 3 divisions successives et d'un diamètre moyen de 5 µm, la perte de diamètre entre la cellule mère et la plus petite cellule doit atteindre 1,32 µm soit 26,4% du diamètre initial : le calcul est  $3 \times (0,220 \times 2) / 5$ . Or, l'observation d'échantillons de *Skeletonema costatum* en microscopie électronique à balayage montre qu'à l'échelle d'une colonie la diminution de diamètre valvaire est négligeable. Il apparaît par exemple sur la figure 2 une colonie de 12 cellules dont le diamètre valvaire reste voisin de 5 µm. Cette colonie possède bien 12 cellules car l'observation de l'échantillon a été effectuée à un stade de division cellulaire pour lequel les processus renforcés qui unissent deux cellules filles sont encore enveloppés du *cingulum* (le *cingulum* est formé de pièces siliceuses qui unissent l'épivalve et l'hypovalve de chaque cellule algale). Il apparaît, pour preuve, au centre de la figure 2 une colonie de 4 cellules à un stade de division ultérieur pour lequel le *cingulum* commence à se déchirer et laisse apparaître les processus renforcés unissant deux cellules filles.

Cette divergence de résultat a été analysé par Round (1972). Il indique alors que pour de nombreuses espèces de diatomées la morphologie particulière du *cingulum* permet de compenser tout ou partie de la réduction de taille des valves imposée par la division cellulaire.

En définitive, l'hypothèse d'une stabilité du diamètre valvaire dans une chaîne algale de *Skeletonema costatum* n'est pas rejetée : le biais introduit par les diminutions successives de ce diamètre au cours des divisions cellulaires dans une même colonie peut être négligé au vu de la longueur moyenne de ces colonies dans le milieu de culture utilisé. Round et al. (1990) indiquent que ce n'est qu'au bout de très nombreuses divisions cellulaires que la diminution du diamètre valvaire chez les diatomées est sensible.

#### Relation entre la longueur et le diamètre valvaire

Le graphe de dispersion entre la longueur d'une colonie et son diamètre valvaire est représenté sur la figure 3. Bien que la dispersion du diamètre apparaissent plus élevée pour les chaînes de longueurs réduites, les résultats de la régression linéaire du diamètre à la longueur d'une colonie indiquent qu'au seuil usuel de 5% (Tableau I) :

- le coefficient de corrélation linéaire n'est pas significatif,
- la pente de la droite de régression n'est pas significativement différente de 0,
- l'hypothèse de dépendance linéaire entre le diamètre cellulaire et la longueur de la colonie de *Skeletonema costatum* est rejetée,
- l'estimation du diamètre valvaire moyen d'une colonie est  $d = 4,66 \pm 0,16 \mu\text{m}$  (n=200).

En définitive, l'hypothèse d'une indépendance linéaire entre le diamètre valvaire et la longueur de la colonie n'est pas rejetée.

#### Validation de la formulation

Les trois hypothèses précédentes étant validées, l'égalité des formules 1 et 2 donne la valeur de la longueur de la chaîne de *Skeletonema costatum* (l) en fonction du diamètre valvaire moyen (d) et du diamètre (D) du canal du compteur de particule. La formule (3) est la suivante :

$$V_{sp} = V_c \Rightarrow l = 4 D^3 / 6 d^2$$

La détermination de d est expérimentale. Elle dépend de la population cultivée et des conditions de culture. La détermination de D dépend du type de compteur de particules utilisé, du nombre de canaux disponibles, de l'étalonnage effectué et du type de sonde utilisée dont le diamètre de l'orifice doit être adapté à la taille des particules mesurées.

## Régression du diamètre à la longueur

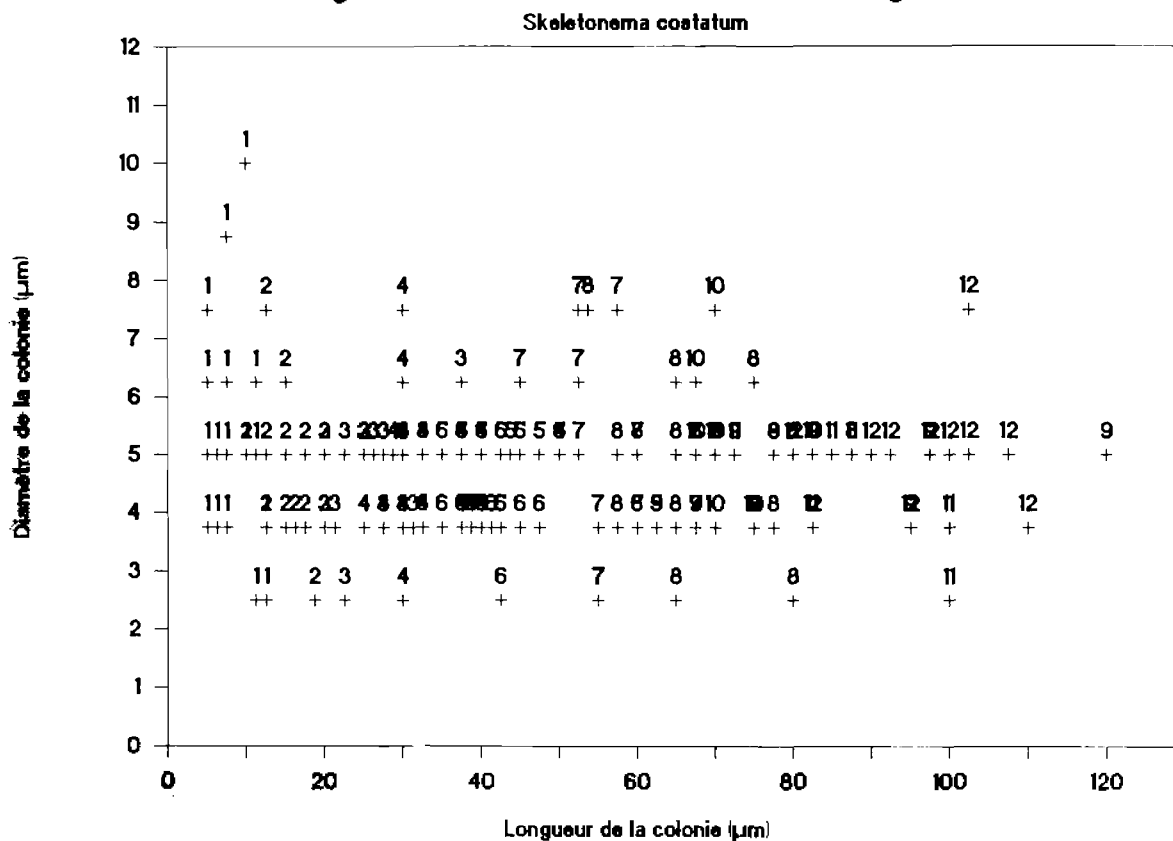


Fig. 3. Graphe de dispersion de la longueur au diamètre valvaire de *Skeletonema costatum*. Le chiffre au-dessus de chaque croix indique le nombre de cellules par chaîne algale.

Paramètre	Estimation	Ecart type	T	Proba.
Ordonnée	4,75	0,16	29,6	$< 10^{-5}$
Pente	$-2,05 \cdot 10^{-3}$	$2,92 \cdot 10^{-3}$	-0,7	0,48
Coefficient de corrélation R :			-0,05	
Pourcentage de variance extrait $R^2$ :			$2,50 \cdot 10^{-3}$	
Nombre d'observations n :			200	

Tableau I : Résultats de la régression linéaire du diamètre à la longueur des colonies de *Skeletonema costatum*.

### Conversion des résultats bruts en longueur de chaîne algale

L'utilisation d'un compteur de particule de type TA II avec une sonde de diamètre 100  $\mu\text{m}$  et d'un étalonnage du canal 11-12 à l'aide de particules sphériques de 18,6  $\mu\text{m}$  permet par application de la formule (3) de sélectionner les canaux du compteur de particules susceptibles de comptabiliser les chaînes de *Skeletonema costatum* (Tableau II).

Seuls les résultats numériques obtenus pour ces canaux sélectionnés seront utilisés par la suite dans le calcul des différents taux définis en écophysiologie (Anonymes, 1988).

Compteur de particules canal	Diamètre sphérique ( $\mu\text{m}$ )	<i>Skeletonema costatum</i> Longueur ( $\mu\text{m}$ )	Sélection des canaux	Facteur de conversion
1- 2	1,85	0,2	non	0
2- 3	2,33	0,4	non	0
3- 4	2,93	0,8	non	0
4- 5	3,69	1,5	non	0
5- 6	4,65	3,1	oui	1
6- 7	5,86	6,2	oui	1,07
7- 8	7,38	12,3	oui	2,19
8- 9	9,30	24,7	oui	4,62
9-10	11,72	49,4	oui	8,75
10-11	14,76	98,7	oui	11,04
11-12	18,60	197	non	0
12-13	23,43	395	non	0
13-14	29,53	790	non	0
14-15	37,20	1580	non	0
15-16	46,87	3161	non	0

Tableau II : Correspondance entre le diamètre sphérique du compteur de particule type TA II et la longueur des chaînes de *Skeletonema costatum* (diamètre  $4,66 \pm 2,23 \mu\text{m}$ ). Les canaux sélectionnés sont ceux où peuvent apparaître une colonie de *S. costatum*.

### Conversion des longueurs en nombre de cellules algales

Les résultats précédents doivent subir une seconde conversion. En effet, pour *Skeletonema costatum*, les concentrations algales dans le milieu de culture sont exprimées en nombre de cellules algales par unité de volume et non en nombre de colonies par unité de volume. Ce nombre est habituellement déterminé par observations en microscopie optique et numérations des colonies sur cellule de Malassez (Baud et Haure, données non publiées). L'expression des résultats en écophysiologie se faisant sous une forme standard en équivalent énergétique (Anonymes, 1988), les teneurs énergétiques de la nourriture phytoplanctonique sont exprimées en Joules mais toujours par rapport à ce nombre de cellules algales par unité de volume de culture.



De ce fait, il est nécessaire d'appliquer aux données issues du compteur de particules et qui sont déjà transformées en longueur de chaîne algale, un facteur de conversion moyen permettant d'exprimer les résultats en nombre de cellules algales. Les résultats de la régression linéaire du nombre de cellules à la longueur d'une chaîne de *Skeletonema costatum* fournissent la base du calcul de ce facteur de conversion (Fig. 5 et Tableau III).

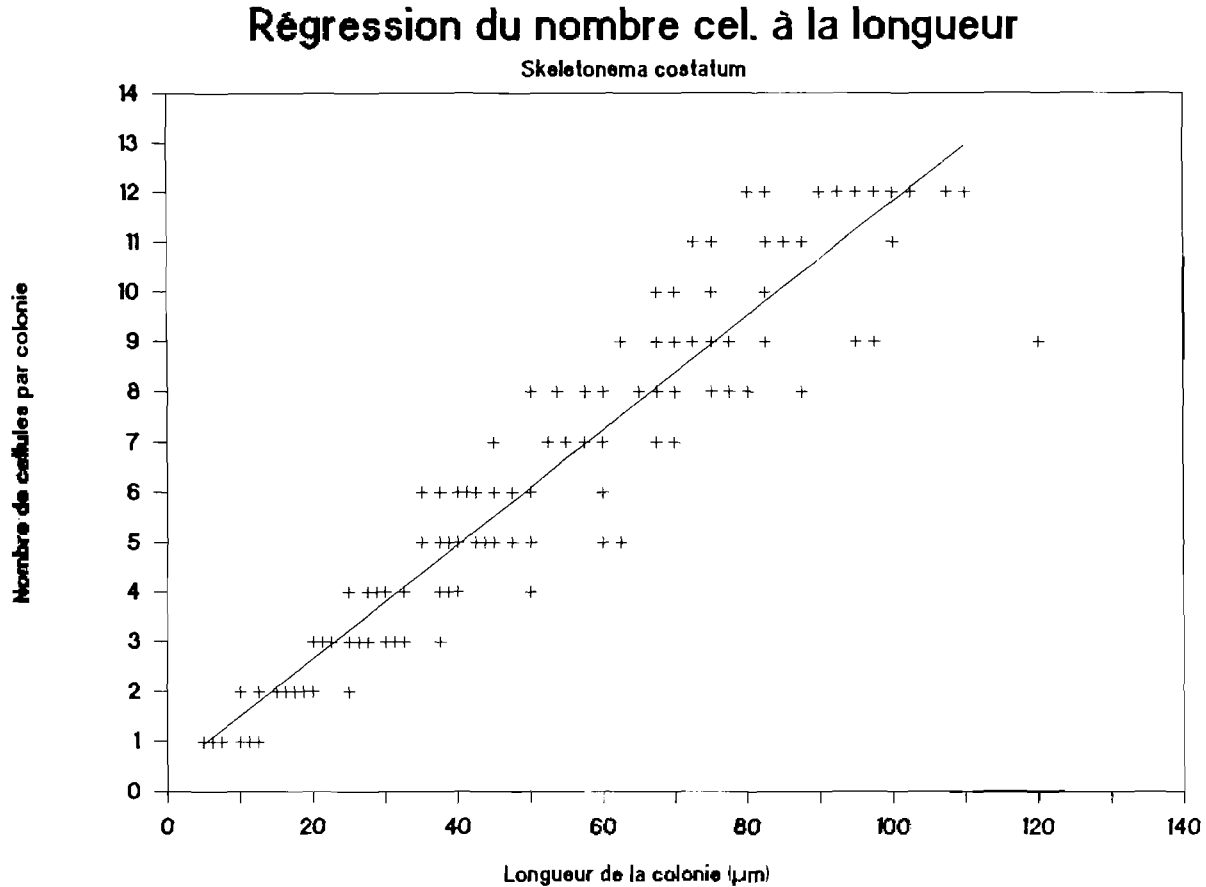


Fig. 5. Graphe de dispersion de la longueur au nombre de cellules algales constituant une chaîne de *Skeletonema costatum*. La droite de régression linéaire est figurée.

Paramètre	Estimation	Ecart type	T	Proba.
Ordonnée	0,381	0,141	2,70	0,007
Pente	0,114	0,002	44,65	$< 10^{-5}$
Coefficient de corrélation R			0,95	
Pourcentage de variance extrait $R^2$			0,91	
Nombre d'observations n			200	

Tableau III : Résultats de la régression linéaire de la longueur au nombre de cellules des colonies de *Skeletonema costatum*.



Ainsi chaque canal du compteur de particules est affecté d'un facteur de conversion qui tient compte de la distribution de fréquences de longueur des colonies de *Skeletonema costatum* dans la classe de longueur affecté à ce canal. Par exemple, pour le modèle TA II, le canal 8-9 représente une longueur de chaîne algale comprise entre 24 et 48  $\mu\text{m}$  (Tableau II) ce qui correspond à des colonies de 3 à 6 cellules. Le facteur de conversion moyen affecté à ce canal est déterminé expérimentalement et a pour valeur 4,62 (Tableau II).

Il faut cependant noter que les valeurs de ces facteurs de conversion n'ont rien d'absolu. Ils dépendent étroitement de la structure de fréquences de longueur des colonies de *Skeletonema costatum* utilisée ainsi que de la classe de longueur algale affectée à chaque canal du compteur de particules.

#### Loi de distribution du diamètre valvaire

A l'échelle de la culture de *Skeletonema costatum*, les effets de la diminution du diamètre valvaire au cours des divisions cellulaires étant de nature multiplicative, la loi de distribution du diamètre valvaire doit *a priori* être représentée par une loi lognormale. Cependant la comparaison par un test du Chi-2 de la distribution du diamètre valvaire mesuré en microscopie optique avec une distribution lognormale indique qu'au seuil de 5% l'écart est significatif ( $\chi^2$  calculé = 39,3 et pour 2 degrés de liberté  $\chi^2$  tabulé = 5,99). Cet écart s'explique pour l'essentiel par une trop forte proportion de colonies de diamètre 4,50 à 5,75  $\mu\text{m}$  (Fig. 4A). Ce résultat laisse supposer la présence d'une erreur systématique liée aux approximations des mesures lors de l'observation en microscopie optique.

Un nouveau jeu de mesures est alors réalisé à partir des photographies prises en M.E.B., permettant un changement de précision des mesures (Fig. 4B). La comparaison par un test du Chi-2 entre les deux distributions indique qu'au seuil de 5% l'hypothèse d'une loi de

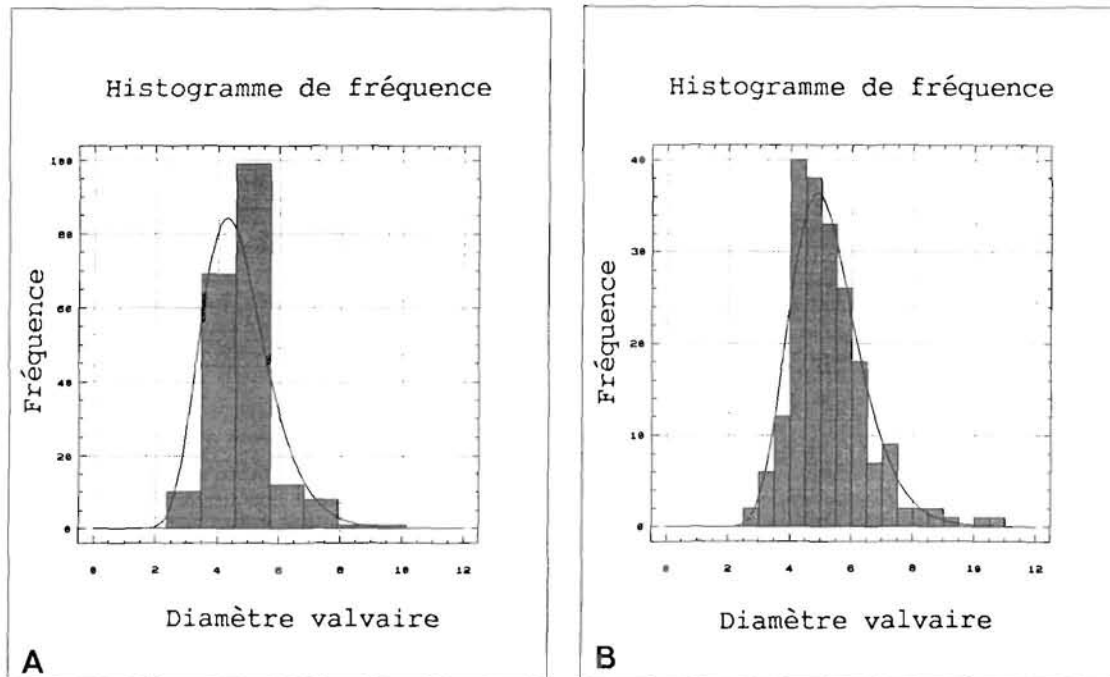


Fig. 4. Histogramme de fréquence du diamètre valvaire de *Skeletonema costatum*. A : mesures en microscopie optique (précision 0,75  $\mu\text{m}$ , intervalle de classe 1,25  $\mu\text{m}$ , n=200 : hypothèse de lognormalité rejetée). B : mesures sur photographies en M.E.B. (précision 0,2  $\mu\text{m}$ , intervalle de classe 0,5  $\mu\text{m}$ , n=200 : hypothèse de lognormalité acceptée).

distribution lognormale du diamètre valvaire ne peut être rejetée :  $\chi^2$  calculé = 8,6 et pour 7 degrés de liberté  $\chi^2$  tabulé = 14,1.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

### Conditions d'application de la formule

L'application de la formule proposée à une population de *Skeletonema costatum* cultivée sur un milieu de culture différent ou provenant des eaux marines côtières ne doit se faire qu'après détermination du diamètre moyen ( $d$ ) des colonies. En effet la morphologie de *S. costatum* est très plastique et dépend étroitement des conditions de l'environnement rencontrées au cours de la croissance algale (Hasle, 1973; Paasche, 1973; 1980); il en est d'ailleurs de même de sa composition biochimique pour les calculs des teneurs énergétiques (Gallagher *et al.*, 1984).

Pour les mêmes raisons, la nature de la relation entre le diamètre valvaire et la longueur de la colonie doit être établie pour toute autre population algale. En effet, la longueur d'une colonie dépend non seulement de la longueur des cellules mais aussi de la taille des processus renforcés qui lient deux cellules entre elles. Harrison *et al.* (1977) ont montré que le développement de ces processus est sous l'étroite influence de la teneur en silice du milieu de culture : en cas de déficit en silice, la longueur des processus renforcés diminue.

### Précision des mesures

Les erreurs commises par l'approximation du volume d'une colonie de *Skeletonema costatum* par une formulation cylindrique semblent négligeables vis-à-vis des erreurs commises lors des comptages particuliers d'autant plus que le nombre moyen de cellules par colonie est proche de 6. Kajihara (1986) précise que le coefficient de variation (rapport de l'écart type à la moyenne) d'un comptage de 200 à 300 particules est l'ordre de 5% alors qu'une valeur de 1% peut être obtenue par un comptage de 5000 particules.

Une estimation de la variance de la longueur moyenne de la colonie ( $l$ ) reliée à la variance du diamètre valvaire ( $d$ ) peut être réalisée. Le fait que ces deux variables soient indépendantes permet d'annuler le terme de covariance. Si la loi de distribution de diamètre valvaire ( $d$ ) suivait une loi normale, les calculs classiques de variance paramétrique seraient utilisables. Dans le cas présent, la loi de distribution du diamètre valvaire étant lognormale, les méthodes d'estimation non paramétriques de la variance sont recommandées (Efron, 1979; Hall, 1987).

### Intérêt de la méthode

Le compteur de particule est classiquement utilisé en planctologie lors des suivis de croissance des espèces unicellulaires de forme sphérique (Maloney *et al.*, 1962; Robert, 1987). Il permet d'apprécier les modifications du volume cellulaire moyen au cours de la croissance algale ainsi que de déterminer les densités algales des cultures, ceci sous certaines conditions de calibration (Robert, 1987) et uniquement pour certaines espèces unicellulaires (Maloney *et al.*, 1962; Robert *et al.*, 1987). En effet certains biais apparaissent, la principale source de biais entre les comptages au compteur de particules et les comptages optiques sur hématimètre (cellule de Malassez par exemple) ayant pour origine la présence de débris cellulaires dans le milieu de culture (Robert, 1987).

La mise au point de la détermination des densités d'algues coloniales de type *Skeletonema costatum* par compteur de particules semble envisageable mais n'a pas été pour le moment testée. Elle repose pour

l'essentiel sur le principe méthodologique ici exposé avec en complément la détermination du nombre moyen de cellules par unité de longueur de colonie algale. Ceci permet alors d'apporter un facteur multiplicatif à chaque canal du compteur de particules et d'en convertir les résultats bruts en nombre de cellules algales par unité de volume du milieu de culture. Cependant, comme le souligne Robert (1987), la présence de débris cellulaires peut biaiser ce résultat. Inversement, l'utilisation d'un compteur de particules avec un pouvoir de résolution élevé (nombre élevé de canaux) permettrait de mieux séparer deux colonies dont le nombre de cellules algales diffère d'une unité.

Le compteur de particule est aussi classiquement utilisé en écophysiologie pour déterminer le spectre de rétention des particules nutritives selon leur taille (Bernard, 1983; Anonymes, 1988). Généralement, lorsqu'ils sont exprimés en fonction de la taille des particules, les résultats se fondent sur l'utilisation directe du diamètre d'une particule imaginaire de taille sphérique, chaque classe de diamètre sphérique correspondant à un canal du compteur de particules (Bernard, 1983; Gouletquer et al., 1989). Cette démarche s'avère valide et réaliste lorsque l'expérimentateur n'a aucune connaissance *a priori* sur la morphologie précise des particules de nourriture consommée, nourriture le plus souvent de nature très hétérogène (particules minérales, détritiques organiques, bactéries, mélange d'algues de plusieurs espèces). Cette démarche s'avère cependant inappropriée dans les études expérimentales de nutrition dès lors que la source de nourriture algale est monospécifique, d'une morphologie s'éloignant de beaucoup d'une sphère et dont le volume peut être déterminé par un modèle géométrique simple. Il en est ainsi de la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen utilisée par Barillé et al. (sous presse) pour l'étude expérimentale du tri et de la rétention particulaire chez *Crassostrea gigas* Thunberg et dont le volume cellulaire peut être décrit par un modèle géométrique proche du tonneau (Moreau, 1989).

L'exemple de *Skeletonema costatum* traité ici tente ainsi d'illustrer une démarche qui prend en compte le polymorphisme (diamètre et longueur) d'une nourriture mono-spécifique utilisée pour l'élevage intensif de *Ruditapes philippinarum*, polymorphisme qui n'est pas sans influencer les capacités de rétention du filtre branchial de ce mollusque (Bernard, 1983). La suite logique de cette démarche est d'analyser en détail cette influence avec en particulier la mise en évidence de l'impact du polymorphisme en longueur de *S. costatum* sur les taux de capture et d'assimilation du mollusque bivalve *R. philippinarum*. L'utilisation du principe méthodologique ici exposé permet maintenant d'aborder cette analyse.

---

ANONYMOUS, 1975. Proposals for a standardization of diatoms terminology and diagnoses. *Nova Hedwigia Beihefte*, 53 : 323-354.

ANONYMES, 1988. Bilan énergétique chez les mollusques bivalves : terminologie et méthodologie. *Vie Marine H.S.* : 68 p.

BARILLE, L., BOUGRIER, S., ROUILLARD, I., GEAIRON, P., ROBERT, J.-M., BARILLE, A.-L. et HERAL, M.,. Etude expérimentale de la rétention et du tri de particules de grande taille chez *Crassostrea gigas*. *Haliotis*, 22 (sous presse)

BAUD, J.-P. et BACHER, C., 1990. Use of ground saline water for intensive rearing of *Ruditapes philippinarum* juveniles in a nursery system. *Aquaculture*, 88 : 157-178.

- BAUD, J.-P. et DRENO, J.-P., 1987. The use of saline, ground water for winter nursery of bivalve molluscs. *Poster Aquaculture Europe 1987 (European Aquaculture Society)*, 2 to 5 June 1987.
- BAUD, J.-P. et HAURE, J., 1989. Intensive rearing of Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) in ponds. *Poster, European Aquaculture Society*, Bordeaux 2 au 4 octobre 1989.
- BAUD, J.-P., HAURE, J. et GARNIER, J., 1990. Effets de l'apport de phytoplancton (*Skeletonema costatum*) sur la croissance et les variations de la composition biochimique de la palourde japonaise, *Ruditapes philippinarum* cultivée en marais. *Oceanis* (sous presse).
- BERLAND, F.R., BONIN, D.J., MAESTRINI, S.Y. et POINTIER, J.P., 1973. Etude de la fertilité des eaux marines au moyen de tests biologiques effectués avec des cultures d'algues. III. Réponses de la diatomée *Skeletonema costatum* à différentes concentrations d'éléments nutritifs. *Int. Revue Ges. Hydrobiol.*, 58 (3) : 401-406.
- BERNARD, F.R., 1983. Physiology and the mariculture of some northeastern pacific bivalve molluscs. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 63 : 24 p.
- DREBES, G., 1977. Sexuality. In : The biology of diatoms. Werner D. (ed.). Botanical Monographs Vol. 13, Blackwell Scientific Publications, Oxford, : 250-283.
- EFRON, B., 1979. Bootstrap methods: another look at the jack-knife. *Ann. Statist.* 7 : 1-26.
- GALLAGHER, J.C., WOOD, A.M. et ALBERTE, R.S., 1984. Ecotypic differentiation in the marine diatom *Skeletonema costatum*: influence of light intensity on the photosynthetic apparatus. *Mar. Biol.*, 82 : 121-134.
- GOULLETQUER, P., HERAL, M., DESLOUS-PAOLI, J.M., PROU, J., GARNIER J., RAZET, D. et BOROMTHANARAT, W., 1989. Ecophysiologie et bilan énergétique de la palourde japonaise d'élevage *Ruditapes philippinarum*. *J. Exp. Mar. Ecol.*, 132 : 85-108.
- HALL, P., 1987. On the bootstrap and likelihood-based confidence regions. *Biometrika* 74 : 481-573.
- HARRISON, P.J., CONWAY, H.L., HOLMES, R.W. et DAVIS, C.O., 1977. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. III. Cellular chemical composition and morphology of *Chaetoceros debilis*, *Skeletonema costatum*, and *Thalassiosira gravida*. *Mar. Biol.* 43 : 19-31.
- HASLE, G.R., 1973. Morphology and taxonomy of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *Norw. J. Bot.* 20 : 109-137.
- KAJIHARA, M., 1986. Distribution of fragile particles in the sea determined by measurements by the Coulter Counter. *La mer* 24 : 11-20.
- MALONEY, T.E., DONOVAN, E.J., et ROBINSON, E.L., 1962. Determination of numbers and sizes of algal cells with an electronic particle counter. *Phycologia* 2 (1) : 1-8.
- MOREAU, C., 1989. Méthode des enrichissements différentiels adaptée à l'étude de l'action de métaux traces sur la croissance et le bleuissement de la diatomée *Haslea ostrearia* Simonsen en culture. Rap. D.E.A. Océanologie, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI : 27 p.
- PAASCHE, E., 1973. The influence of cell size on growth rate, silica content, and some other properties of four marine diatoms species. *Norw. J. Bot.*, 20 : 1978-204.
- PAASCHE, E., 1980. Silicon. In : The physiological ecology of phytoplankton. Morris I. (ed.). Studies in ecology Volume 7. Blackwell scientific publications, Oxford : 259-284.
- RICARD, M., 1987. Atlas du phytoplancton marin. Volume 2. Diatomophycées. Editions du CNRS, Paris : 297 p.

- ROBERT, R., 1987. Intérêt du compteur de particules ZB-ZBI et de l'analyseur C1000 pour la numération des algues unicellulaires de culture. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.* 49 (3 et 4) : 155-163.
- ROBERT, R. et HIS, E., 1987. Croissance et spectre de tailles de six algues utilisées pour la nutrition de larves de bivalves en éclosérie, en culture non renouvelée. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 49 (3 et 4) : 165-173.
- ROUND, F.E., 1972. The problem of reduction of cell size during diatom cell division. *Nova Hedwigia*, 23 : 291-303.
- ROUND, F.E., CRAWFORD, R.M. et MANN, D.G., 1990. The diatoms. Biology & morphology of the genera. Cambridge University Press, Cambridge : 747 p.
- SAMAIN, J.-F., HIS, E., LOEILLET, C., MOAL, J., POULET, S. et ROBERT, R., 1985. Table ronde. Utilisation du compteur Coulteur en milieu marin. Informations pratiques. *Oceanis*, 11 (5) : 481-485.
- SMAYDA, T.J. et BOLEYN, B.J., 1966. Experimental observations on the flotation of marine diatoms. II. *Skeletonema costatum* and *Rhizosolenia setigera*. *Limnol. Oceanogr.* 10 : 499-509.

#### REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier Y. Rincé et J.-M. Robert pour leurs conseils et critiques ainsi que R. Hamon pour les tirages photographiques. Les photographies en microscopie électronique à balayage ont été réalisées à l'Université de Nantes (M.E.B. type JEOL 100 Cx) sous la direction de A. Barreau et Y. Rincé.