

ÉCOLOGIE BACTÉRIENNE DANS LES BACS D'ÉLEVAGE LARVAIRE DE COQUILLES SAINT-JACQUES (*PECTEN MAXIMUS*)

JACQ E.¹, MOAL J.², SAMAIN J.F.², CORRE S.¹, DANIEL J.Y.², NICOLAS J.L.², COCHARD J.C.² et FERA P.¹

¹MICROMER, Z.I. du Vernis 29200 BREST

²IFREMER, BP 70, 29280 PLOUZANE

RESUME : Les élevages ont été réalisés dans deux types d'eau : une eau marine et la même eau stabulée dans un vivier. Les eaux d'origine sont caractérisées par la diversité des peuplements et par le faible volume des cellules. Seul un faible pourcentage de bactéries (de l'ordre de 1%) est cultivable sur le milieu de culture 2216E. L'addition d'antibiotiques, la présence des larves et des algues modifient profondément l'environnement des bactéries, ce qui se traduit par une évolution des peuplements : diversité réduite, augmentation de leur volume cellulaire, changement de métabolisme, résistance au chloramphénicol. L'analyse taxonomique ne fait pas apparaître de souches caractéristiques de l'une ou l'autre des eaux, ni à l'origine ni au cours de l'élevage. Cependant des différences dans les potentialités de réponse à l'addition de substrat organique et de productivité sont identifiées selon l'origine des eaux. Ces différentes études ont permis de mettre au point un modèle qui illustre l'influence de la productivité propre à chacune des deux eaux, des densités bactériennes initiales, des apports de matière organique et des phénomènes de grazing.

Mots clés : bactéries marines, productivité, élevage larvaire

BACTERIAL ECOLOGY IN PRODUCTION TANKS DURING LARVAL SCALLOP REARING (*PECTEN MAXIMUS*)

ABSTRACT : Larval rearings were performed with seawater either freshly pumped or after storage in a pond. Concerning bacterial populations these waters were characterized by a high diversity, little sized bacteria whose few of them (1%) were cultivable on Zobell medium. In the tanks, the bacterial ecosystem was modified by the presence of antibiotics, larvae and algae : the diversity was lowered, the cellular volume was increased by a factor 2 to 5, 100% bacteria were cultivable and chloramphenicol resistant, and their metabolism changed. Taxonomic screening showed no differences among the two waters neither at the beginning nor at the end of the rearings. However depending on the water (stored or not) differences were identified for bacterial physiology and productivity : bacteria from the pond were more organic matter dependent. From these results we have developed a mathematical model which take into account the influence of the respective productivity of both waters, the initial bacterial concentration, the organic matter content (seawater content and larval excretion) and the bacterial grazing by the larvae.

Keywords : marine bacteria, productivity, larval rearing

INTRODUCTION

Depuis les travaux de Loosanoff et Davis (1963), la mise en place de programmes de repeuplement et d'aquaculture extensive a accéléré le développement des écloseries et nurseries de bivalves marins. L'élevage larvaire d'un certain nombre d'espèces est relativement bien maîtrisé (huîtres, palourdes, coquilles Saint-Jacques) quand des conditions rigoureuses de gestion sanitaires sont observées.

En effet, bien qu'on n'ait pas pu démontrer l'existence de bactéries strictement pathogènes pour les larves en dehors du genre *vibrio* (Brown, 1981), les échecs des élevages par mortalité massive sont souvent attribués à des problèmes de proliférations bactériennes. Ces proliférations sont favorisées par les conditions dans lesquelles sont réalisés les élevages: température élevée pour accélérer la croissance larvaire, nourriture abondante, densités élevées de larves.

Le renouvellement périodique de l'eau d'élevage, la filtration, et l'emploi d'antibiotiques sont les principales techniques couramment utilisées pour limiter les développements bactériens.

Ces aspects négatifs des développements bactériens ne doit pas faire oublier les relations bénéfiques possibles entre les bactéries et les bivalves, en particulier au niveau nutritionnel et du déclenchement de la métamorphose (Mengus, 1978, Mc Henery et Birkbeck, 1985, Prieur et al., 1990). Des effets protecteurs de certaines bactéries marines contre le développement de *vibrio* ont aussi été signalés (Nicolas, com. pers.).

A l'écloserie d'Argenton, la présence d'un facteur positif sur la croissance larvaire de *Pecten maximus* liée à la fraction particulaire présente dans l'eau (0,2-1 μm) a été observée. Ce phénomène permanent décrit par Samain et al., 1987 se développe au cours de la stabulation de l'eau dans un vivier. La taille des bactéries marines présentes dans l'eau de ce vivier est tout à fait compatible avec la taille de cette fraction particulaire (Jeanthon et al., 1988).

Une description comparative pluriannuelle des populations bactériennes qui se développent au cours de l'élevage larvaire dans l'eau du vivier et l'eau de mer environnante a donc été entreprise aussi bien d'un point de vue qualitatif que descriptif. Un effort particulier a été porté sur l'aspect dynamique du développement bactérien que nous avons tenté de modéliser, afin d'en extraire les éléments primordiaux qui régissent l'équilibre bactérien dans les bacs d'élevage.

MATERIEL ET METHODES

Elevages larvaires

Les élevages larvaires de coquilles Saint-Jacques (*Pecten maximus*) ont été menés selon les techniques décrites par Buestel et al., (1982) et Samain et al. (1987). Les larves sont élevées à une densité de 10 à 12 larves par ml en bacs cylindroconiques de 400 litres, vidangés toutes les 48 heures. La nourriture, composée d'un mélange à parts égales de *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* (clone *T. Iso*), et *Chaetoceros calcitrans* est distribuée chaque jour à raison de 60 cellules par μl . La prolifération bactérienne est limitée par adjonction de chloramphénicol à raison de 8 mg. l^{-1} .

Deux types d'eau ont été utilisés pour réaliser les élevages: soit une eau côtière pompée à marée haute (eau extérieure), soit l'eau d'un vivier alimenté par de l'eau côtière laissée en stabulation. Le traitement de filtration est identique pour les deux eaux et réalisé en deux étapes: une filtration sur filtre à sable, puis une filtration à 1 μm par deux cartouches filtrantes de polypropylène montées en série (AMF.CUNO.DPPPY). Tous les élevages ont été réalisés en eau thermorégulée à 18°C. Des comparaisons de la croissance larvaire selon le type d'eau ainsi que des suivis bactériologiques ont été réalisés en juin 1986, mars 1987, juin 1988, 1989 et 1990.

Numérations bactériennes

* Microflore bactérienne totale

Les échantillons sont fixés au formaldéhyde puis colorés à l'acridine orange (concentration finale 0,01%) avant d'être filtrés sur filtres Nuclepore de porosité 0,2 μm préalablement noircis au noir Irgalan (Hobbie et al., 1977). Les numérations se font en microscopie à épifluorescence (Olympus BH2) par dénombrement sur 20 champs pris au hasard, à un grossissement x1000

* microflore bactérienne hétérotrophe cultivable

Le nombre de bactéries viables est déterminé à partir de l'échantillon frais, par étalement sur le milieu gélosé 2216E d'Oppenheimer et Zobell (1952). Les étalements sont dupliqués et les dénombrements sont réalisés après 8 jours d'incubation à 20°C.

Analyses bactériologiques qualitatives

La description qualitative des souches bactériennes isolées à partir du milieu 2216E est réalisée à l'aide de 32 tests écologiques et biochimiques. Ainsi outre la mobilité, le Gram et la morphologie, des tests de thermo et d'halotolérance sont effectués sur chacun des isolats.

Les caractéristiques biochimiques sont déterminés sur galeries API 20B alors que la possibilité de fermenter le glucose en condition d'anaerobiose est recherchée sur le milieu de Hugh et Leifson (1953).

Le traitement informatique des données est basé sur le calcul du coefficient de similitude établi par Sokal et Michener (1958) et qui tient compte des similitudes positives et négatives. Ceci permet un regroupement des souches selon la variance. Pour chaque série de souches bactériennes (issues d'un même échantillon), sont calculés un indice moyen d'activité (à partir des pourcentages de réponses positives) et un indice de régularité fonctionnelle, basé sur la fréquence d'apparition relative de chaque caractère (Trousselier et Legendre, 1981).

Analyses des potentialités de production des bactéries

*** Evaluation expérimentale de la production (% de div. cellulaire)**

Des expérimentations en bouteille d'incubation sont réalisées en présence de différentes concentrations en matière organique. Ceci permet d'estimer des Fréquences de Division Cellulaires (F.D.C.) et des taux de croissance sous différentes conditions environnementales (Hagstrom et al., 1979 et Newell et Christian, 1981). Ces études ont été réalisées sur les eaux des bacs d'élevage en fin de cycle, afin d'étudier le comportement des souches sélectionnées par l'antibiotique. Afin d'analyser l'impact des larves sur la production bactérienne, les expérimentations ont été effectuées sur les eaux extérieure et vivier brutes (en présence des larves) ou filtrées sur 1 µm (en absence des larves). Les évolutions des paramètres; densités bactériennes totales, viables et F.D.C. sont suivies sur une période de 30 heures.

*** Productivité par incorporation de substrats marqués**

Des échantillons d'eaux de mer extérieure et vivier (préfiltrées sur 1 µm) sont isolés dans des sacs à dialyse et placés dans les bacs d'élevage. Après un temps de séjour de 48 heures, 20 ml de ces deux eaux sont placés dans des flacons de 100ml en présence de thymidine tritiée (méthyl ³H thymidine, CEA) à des concentration de 2,5 à 8 nm puis incubés de 0,5 à 4 heures, dans des conditions de température et de lumière identiques à celles des bacs d'élevage. Les échantillons sont alors traités selon la méthode décrite par Fuhrman et Azam (1982). Le comptage est effectué sur un compteur à scintillation liquide, après établissement des courbes de quenching. Le nombre de molécules de thymidine incorporées est estimé à partir de l'équation:

$$N \text{ moles} = \frac{\text{dpm}}{\text{AS}} \times 4,5 \cdot 10^{-13} \text{ ou } \text{As est l'activité spécifique de la solution de thymidine en Ci/môle et } 4,5 \cdot 10^{-13} \text{ est le nombre de curies par dpm.}$$

Afin de cerner l'influence de la nourriture et des larves, ces incubations ont été réalisées soit en situation standard, soit en absence des larves et en présence ou non du milieu de culture des algues. Les conditions d'incubation (courte durée, faible concentration en marqueur) sont choisies afin de favoriser presque exclusivement le métabolisme bactérien en évitant l'incorporation par les microalgues (Moriarty, 1986; Rivkin, 1986).

Les taux de division bactériens ont été calculés en appliquant soit le facteur de conversion de 2×10^{18} bactéries produites par môle de thymidine incorporée, fréquemment utilisé pour les eaux océaniques (Fuhrman et Azam, 1982; Moriarty, 1986), soit un facteur déterminé expérimentalement sur les eaux considérées. Ce dernier a été estimé en réalisant des marquages successifs durant la phase de croissance des bactéries en présence de 0,1 et 5 mg/l d'extraits de levure, sur des eaux prélevées en fin de cycle d'élevage larvaire de coquilles Saint-Jacques. Le facteur ainsi obtenu est $0,3 \times 10^{18}$ bactéries produites par mole de thymidine incorporée.

Ces différentes études ont été réalisées de 1986 à 1989 et les suivis effectués annuellement sont présentés dans le tableau 1.

Modélisation de la croissance bactérienne dans les deux eaux

Un modèle mathématique a été établi afin d'estimer la possible influence des bactéries sur les larves en tant qu'apport nutritionnel quantitatif. Il doit permettre d'estimer l'importance relative des paramètres; substrat, biomasse bactérienne et taux de division. Ce modèle est obtenu par intégration des données par microordinateur selon Kutta-Runge et est basé sur les équations suivantes:

Biomasse bactérienne:	$B \frac{dB}{dt} = \mu \cdot B - r \cdot L \cdot B$	r: taux de prédation par les larves
		L: Nombre de larves
Matière organique:	$S \frac{dS}{dt} = -a \cdot \mu \cdot B + k \cdot L$	a: Rendement de transformation (subst-bact)
		k: Coefficient d'excretion larvaire
Taux de croissance:	$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S}$	K _s :
Affinité des bactéries pour le substrat		

Ces équations ont permis d'ajuster le modèle aux données expérimentales et ainsi d'estimer les possibilités nutritives que représentent les bactéries pour les larves de coquilles Saint-Jacques, dans le cas des eaux de mer extérieure et vivier.

RESULTATS

Ecologie des peuplements bactériens dans les eaux d'élevage

Les figures 1 et 2 présentent les évolutions quantitatives (totales et viables) et qualitatives (taxonomie numérique) des peuplements bactériens au cours du temps pendant un cycle d'élevage. Elles permettent d'illustrer plusieurs phénomènes rencontrés régulièrement au cours de nos études, quelque soit le type d'eau étudié (vivier ou extérieure).

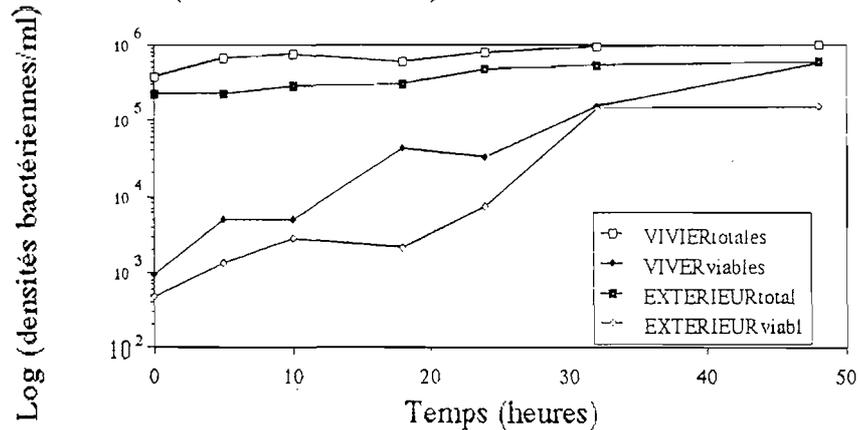
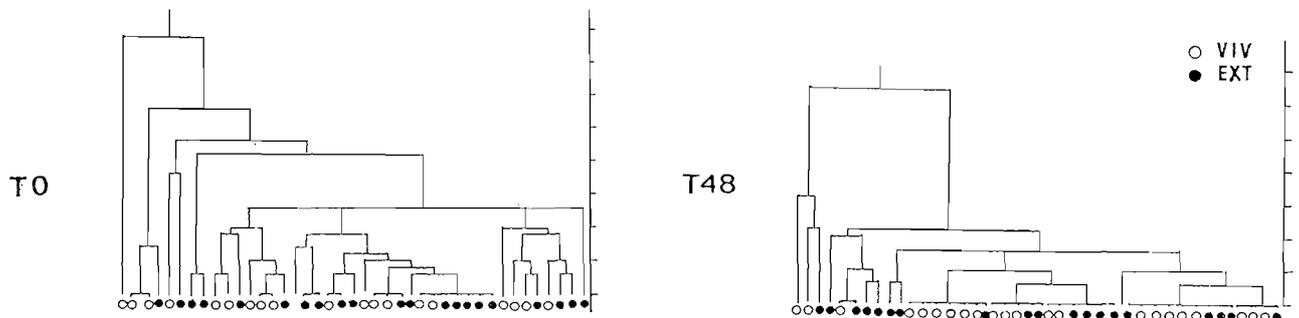


Figure 1: Evolutions des densités bactériennes totales et viables au cours des 48 heures d'un cycle d'élevage (Nombre de bactéries par ml)(1990)



	Ind Régularité fonctionnelle		Indice moyen d'activité	
	T0h	T48h	T0h	T48h
Vivier	0,38	0,24	3,5	3,05
Extérieure	0,31	0,23	2,66	3,10

Figure 2: Dendrogrammes des analyses taxonomiques réalisées sur les isolats des eaux extérieures et vivier en début et en fin de cycle d'élevage (1988)

Au temps initial, les bactéries cultivables sur milieu de culture ne représentent qu'une faible fraction des peuplements totaux, inférieure à 5%. Puis à partir de la cinquième heure de contact entre les larves, les algues et l'eau de mer il se produit un développement bactérien avec importance croissante des bactéries viables sur milieu de culture. Ce temps de latence de 5 heures avant la croissance bactérienne dans ce milieu enrichi en larves et en algues correspond probablement au stress lié à l'addition d'antibiotique. Si les différences de densité initiales sont peu différentes entre l'eau extérieure et l'eau du vivier, il existe en règle générale un facteur proche de 2 entre les densités observées dans l'eau de mer côtière et celle ayant stabilisée en vivier (tableau 1).

ANNEE	Techniques	VIVIER		EXTERIEUR	
		T0	T48	T0	T48
Densités totales Densités viables Analyse qualitative Production	(1) $2,6 \times 10^5$		$0,4 \times 10^5$		
	Densités viables (2)	$1,1 \times 10^3$		$3,6 \times 10^3$	
	Analyse qualitative	**	**	**	**
	Production	**	**	**	**
Densités totales Densités viables Analyse qualitative Production					
	Densités viables				
	Analyse qualitative	**	**	**	**
	Production	**	**	**	**
Densités totales Densités viables Analyse qualitative Production	$3,7 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$	
	Densités viables	$6,4 \times 10^2$	$1,6 \times 10^5$	$1,9 \times 10^3$	$2,8 \times 10^5$
	Analyse qualitative				
	Production	**	**	**	**
Densités totales Densités viables Analyse qualitative Production	$3,8 \times 10^5$	$9,9 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^5$	
	Densités viables	$4,5 \times 10^2$	$2,0 \times 10^5$	$4,4 \times 10^2$	$1,5 \times 10^5$
	Analyse qualitative				
	Production	**	**	**	**

Tableau 1: Série d'expérimentations réalisées au cours des 4 années d'études
densités totales exprimées en nombre de cellules par ml
densités viables exprimées en UFC par ml

En fin de cycle, les bactéries viables peuvent représenter de 60 à 100% des bactéries totales, ceci quelque soit l'eau analysée. Cette forte augmentation relative de la fraction cultivable est associée à deux phénomènes; l'augmentation de la taille des cellules et la sélection de souches adaptées. En effet, en début de cycle les cellules bactériennes sont dans leur majorité de petite taille et ce n'est qu'après 10 heures d'élevage que des cellules présentant un volume supérieure à $1 \mu\text{m}^3$ apparaissent pour devenir prédominantes après 30 heures de contact.

Si ce pourcentage de bactéries viables ne diffère pas entre les deux en fin de cycle, par contre la cinétique de croissance est fonction de l'origine de l'eau. En effet, un délai de 24 heures est nécessaire pour que les valeurs observées dans l'eau extérieure atteignent celles du vivier.

La sélection de bactéries résistantes à l'antibiotique et adaptées aux nouvelles conditions de l'environnement est illustrée sur les dendrogrammes de la figure 2. Au temps initial, il existe une forte diversité des bactéries au niveau des deux eaux (les indices de régularité fonctionnelle indicateur de la diversité des peuplements sont en effet de 0,31 (Ext) et 0,305 (Viv) alors qu'en fin de cycle ces coefficients sont de 0,24 et 0,23. Ainsi 5 taxons seulement représentent 80% des isolats.

Au temps initial l'indice moyen d'activité (qui peut évoluer de 0 à 100) met en évidence de faibles valeurs, mais toujours en faveur de l'eau du vivier. Le tracé (figure 3) présentant le pourcentage de souches positives vis à vis de l'utilisation des carbohydrates et polyols présents dans les galeries API20B permet d'illustrer des potentialités de dégradation plus élevées dans l'eau du vivier, surtout en début d'élevage.

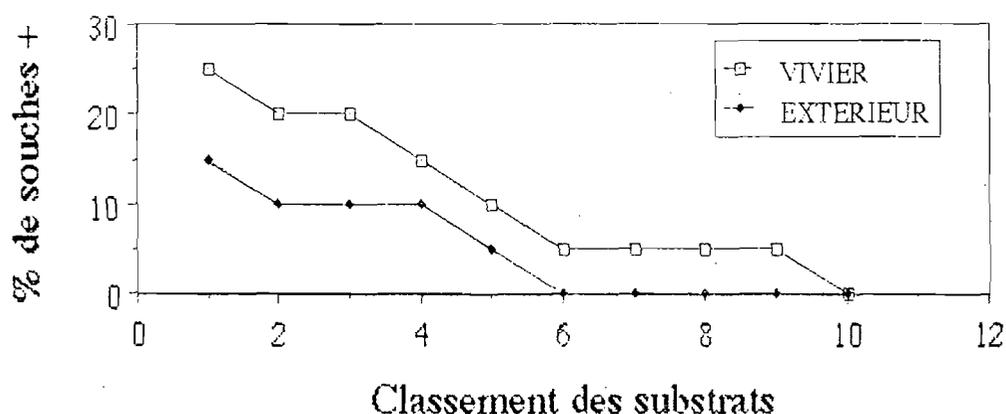


Figure 3: Profils métaboliques des peuplements isolés des deux eaux vis à vis des carbohydrates et polyols.

ordonnées: % de souches hydrolysant les différents substrats

abscisses: Classement selon les % d'hydrolyse décroissants des substrats de 1 à 12.

Si en 1986, une souche dominante caractéristique de l'eau du vivier a été isolée (Jeanthon et al., 1988), ce phénomène n'a pu être reproduit au cours des années suivantes.

Potentialités de production bactérienne

Les mesures de production par incorporation ont toujours été réalisées en sac à dialyse en absence de prédateurs et il s'agit donc de productivité potentielle maximale. Les valeurs d'incorporation de thymidine au temps initial (en moles $l^{-1}.h^{-1}$) sont présentées dans le tableau 2, elles se caractérisent par une grande variabilité des phénomènes observés.

ANNEE	VIVIER		EXTERIEUR	
	T0	T48	T0	T48
1986	2,4	3,2	2,7	
1987	5,6	10,0	4,5	9,3
1988	8,85	45,0	1,24	24,5
1989	1,4	0,9	0,5	8,7

Tableau 2: Résultats des mesures d'incorporation de thymidine tritiée par les bactéries dans les eaux d'élevages aux temps initial et final (moles/ml/h)

Les valeurs pour l'eau du vivier sont toutefois systématiquement plus élevées (de 0,5 à $4,5.10^{-11}$ moles de TdR. $l^{-1}.h^{-1}$ pour l'eau extérieure contre 1,4 à $8,8.10^{-11}$ TdR $l^{-1}.h^{-1}$ pour l'eau du vivier). Ce résultat rejoint les observations faites au niveau des densités bactériennes.

Selon les années et le type d'eau dans lequel est réalisé l'élevage, la productivité bactérienne, mesurée par cette méthode, est favorisée (1987, 1988) ou au contraire ralenti (1986) après 48 heures d'élevage. Il est toutefois important de préciser qu'en 1986, la mesure s'est effectuée en absence de larves. En 1989, la productivité bactérienne dans les bacs d'élevage larvaire évolue différemment selon l'origine de l'eau; diminution de la productivité dans l'eau du vivier et accroissement dans l'eau extérieure.

Si des analyses sont réalisées après 24 heures d'élevage, les productivités bactériennes dans les deux eaux sont alors très réduites (figure 4).

L'addition d'antibiotique se traduit donc par un arrêt de la productivité exprimée en incorporation de thymidine. Sur ce tracé est également présentée l'influence de l'apport algal. En effet, en leur absence, la productivité reste proche de 0, même après 48 heures d'élevage. L'apport organique lié aux algues "fourrage" est donc indispensable au développement bactérien dans les eaux d'élevage.

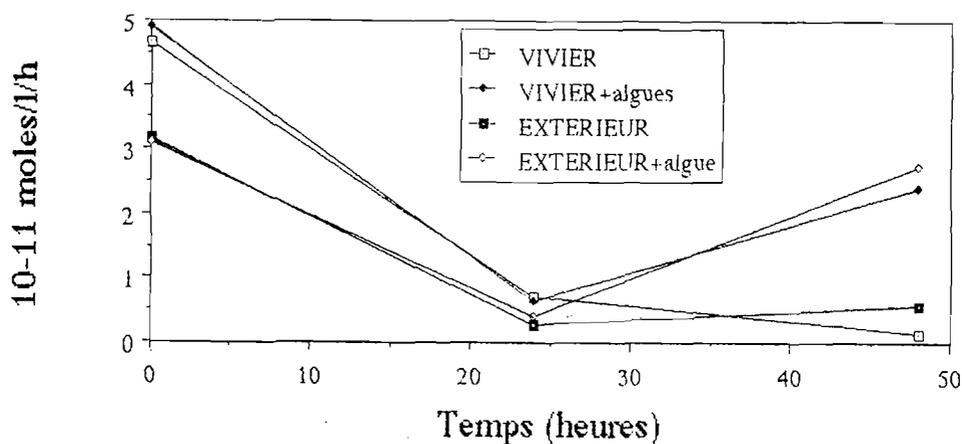


Figure 4: Evolutions des productivités bactériennes mesurées par incorporation de thymidine tritiée durant un cycle d'élevage (1986).

L'addition de substrat carboné dans les eaux d'élevage âgées de 48 heures doit permettre de tester les potentialités de réaction des bactéries. La figure 5 présente l'évolution des peuplements bactériens dans les deux eaux après addition de 0 et de 5 mg d'extraits de levure. Les paramètres analysés sont les densités bactériennes totales (5a) et les pourcentages de divisions cellulaires (5b).

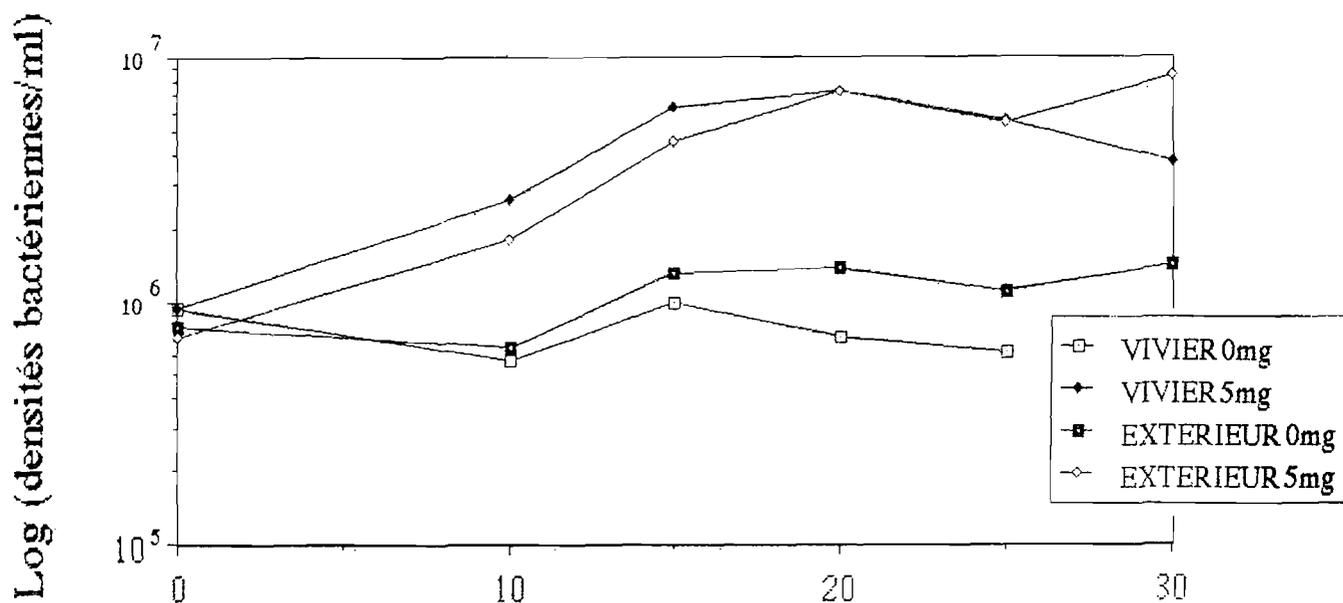


Figure 5a : Evolutions des densités bactériennes totales lors des expérimentations d'addition de substrat carboné (0 et 5 mg d'extrait de levure) sur des eaux non filtrées.

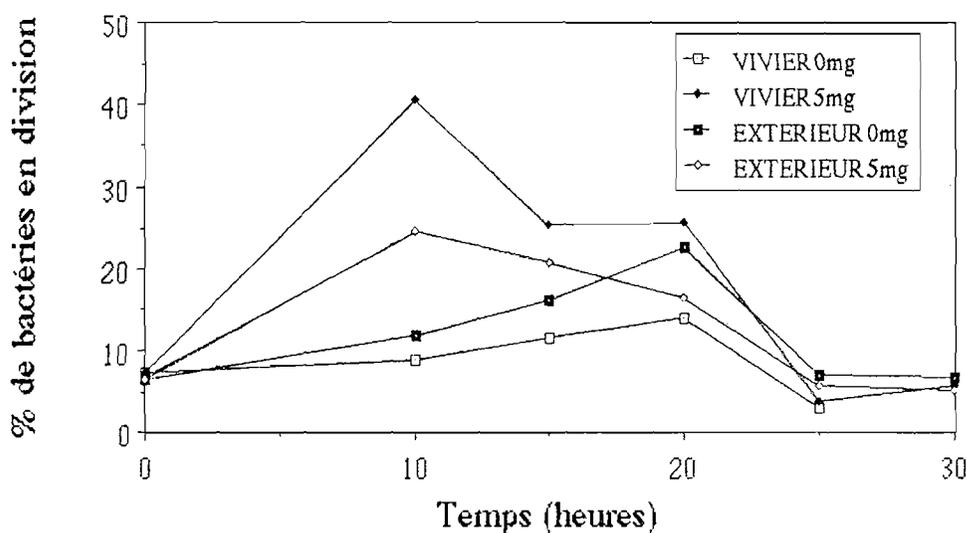


Figure 5b : Evolutions des pourcentages de divisions cellulaires lors des expérimentations d'addition de substrat carboné (0 et 5 mg d'extrait de levure) sur des eaux non filtrées.

En absence d'ajout organique, l'évolution des peuplements est réduite et le maximum de division est noté après un phase de latence de 20 heures. Les bactéries présentes dans l'eau extérieure réagissent de façon plus importante que celles présentes dans l'eau du vivier. Si l'on ajoute 5 mg d'extrait de levure par litre, la réaction des bactéries exprimée en pourcentage de cellules en division est plus rapide ($t=10$ heures) et beaucoup plus intense. En effet, alors que les données ne dépassent pas 20% de cellules en division dans les conditions témoins, des valeurs de 50% pour les bactéries issues du vivier et de 25% pour celles de l'eau extérieure sont observées.

Si les maxima de cellules en division sont observés au même moment dans les deux eaux, par contre la dominance est inversée selon que l'on se situe ou non en présence d'apports organiques, les bactéries présentes dans l'eau du vivier réagissant plus favorablement à la présence d'extrait de levure.

Modélisation

A partir des données enregistrées dans l'étude quantitative et lors des mesures de productivité de 1987, une modélisation des phénomènes a été réalisée. Ce modèle permet de prendre en compte l'influence du substrat, de la biomasse bactérienne initiale, et de la productivité des peuplements. Ainsi, le modèle est établi à partir d'une concentration en substrat organique de $2,2 \text{ mg.l}^{-1}$ dans l'eau extérieure contre une concentration de $3,4 \text{ mg.l}^{-1}$ dans l'eau du vivier (Samain et al., 1987). De même, le facteur moyen de 2 déterminé entre les densités bactériennes initiales de l'eau du vivier et de l'eau extérieure est également enregistré. A partir de ces conditions initiales, un ajustement

correct est obtenu en prenant en compte les différences de productivité, mesurées par incorporation de thymidine, obtenues entre les deux eaux en 1987 (figure 5).

DISCUSSION

Comme l'ont déjà signalé Jeanthon et al., 1986, la double filtration (sable et filtre 1 μ m) permet d'obtenir une homogénéité des densités bactériennes présentes en entrée de l'écloserie (de l'ordre de 10⁵ bactéries totales par ml et d'environ 10³ cellules cultivables). Au temps initial, les peuplements présents dans les deux eaux se caractérisent par une faible viabilité sur milieu de culture. Les techniques de culture ne permettent généralement pas la croissance de l'ensemble du peuplement bactérien. En effet, seules les cellules dont le métabolisme leur permet de survivre au stress lié au passage d'un milieu liquide à un milieu solide mais aussi à la présence dans le milieu de culture de matière organique peuvent s'exprimer. Ainsi, la fraction cultivable varie d'un échantillon à l'autre en fonction de l'état des cellules et de ses caractéristiques physiologiques. Par exemple, Ward et al., 1990, estime à 80% les bactéries marines naturelles incapables de se développer en culture. Des comptages réalisés en autoradiographie (données non publiées) indiquent que l'ensemble du peuplement bactérien, comparativement aux dénombrements totaux, des eaux Extérieure et Vivier est capable d'incorporer un mélange d'acides aminés marqués.

L'addition d'antibiotiques se traduit par un arrêt de la productivité exprimée en incorporation de thymidine. Il semble y avoir un décalage entre l'influence de l'antibiotique sur l'incorporation de thymidine (paramètre marqueur de la division cellulaire) et son rôle sur le développement relatif des cellules cultivables (paramètre indicateur de "l'état" des peuplements bactériens). En effet, les bactéries cultivables sont en augmentation dès la 10^{ème} heure de contact (temps nécessaire à leur adaptation vis à vis de l'antibiotique) alors que l'incorporation de thymidine est encore négligeable au temps 24 heures.

Le développement bactérien observé sur milieu de culture correspondrait donc à deux étapes; adaption initiale et progressive des bactéries au stress lié à l'antibiotique puis secondairement phénomène de division cellulaire (Figure 1, phase 1 de 0 à 24 heures et phase 2 de 24 à 48 heures). Toutefois, il est nécessaire de rappeler que la mesure de productivité ne reflète pas totalement le peuplement bactérien placé dans les conditions in situ. En effet, cette productivité est mesurée en sac à dialyse, donc en absence de prédateurs mais aussi sans tenir compte des apports particuliers (y compris bactérien) liés aux algues fourrage. Ces dernières peuvent représenter 10⁴ à 10⁵ bactéries viables par ml.

Comparativement à l'eau de mer, l'eau de l'élevage larvaire favorise l'apparition de bactéries mieux adaptées à la croissance sur un milieu enrichi tel que le milieu 2216E. Ainsi, au cours de l'élevage

les bactéries cultivables qui ne représentent que quelques pourcents des cellules au temps initial se trouvent favorisées et finissent par représenter jusqu'à 100% des peuplements après 48 heures. Le pourcentage de bactéries cultivables, en fin de cycle, est assez variable d'une année à l'autre (de 60 à 100%) et pourrait refléter la variabilité des souches sélectionnées. Ces phénomènes de sélectivité des souches en cours d'élevage mais aussi de variabilités des taxons sélectionnés d'une année à l'autre se trouvent confirmés par l'analyse taxonomique et les dendrogrammes qui en sont issus. Parallèlement aux modifications dans la structure des peuplements bactériens il est observé un accroissement du volume des bactéries présentes dans l'eau et des phénomènes d'aggrégation.

Bien que les peuplements bactériens qui se développent dans les deux eaux n'ont pu être différenciés ni d'un point de vue quantitatif ni d'un point de vue qualitatif, il apparaît des différences dans la cinétique de croissance des bactéries et dans l'intensité des potentialités de réponses vis à vis de la matière organique. Cette réponse différente des populations bactériennes présentes dans l'eau du vivier, générées par la stabulation et mises en évidence par les conditions d'élevage, se traduit par une rapidité et une plus grande intensité de réaction aux apports organiques, que constituent les apports larvaires et algaux. A l'opposé, les bactéries présentes dans l'eau extérieure réagissent mieux à l'absence de substrat organique, comme l'ont démontré les essais expérimentaux avec addition d'extraits de levure.

L'hypothèse d'une adaptation à un environnement enrichi pour les peuplements bactériens du vivier (la concentration organique y est deux fois plus élevée en période estivale) peut être avancée. Cette présélection (ou préadaptation) permettrait aux bactéries de réagir après une phase de latence réduite aux conditions du cycle d'élevage.

Le facteur de conversion entre l'incorporation de thymidine et le nombre de bactéries produites que nous avons obtenu à partir de conditions in situ est nettement plus faible que celui habituellement rencontré dans la littérature; $2 \text{ à } 4 \cdot 10^{18}$ bactéries par mole de thymidine (Fuhrman et Azam, 198; Moriarty, 1986) contre $0,3 \cdot 10^{18}$ bactéries/mole TdR estimé dans notre étude. Cette valeur faible peut s'expliquer par le volume cellulaire élevé des bactéries présentes dans les eaux d'élevage. En effet, ce volume cellulaire moyen plus élevé que dans le cas des bactéries marines pourrait être associé à un génome plus important.

Si l'on se réfère au modèle mathématique qui prend en compte la biomasse initiale des bactéries, le taux de division et la disponibilité en substrat organique, un ajustement aux données expérimentales est possible si l'on considère les taux de multiplication obtenus par incorporation de thymidine. Ce modèle met en évidence que la concentration bactérienne finale n'est que peu sensible au broutage larvaire mais par contre est fortement influencée par la concentration en substrat disponible et par la

concentration bactérienne initiale. Si nous appliquons au modèle les données caractéristiques des deux eaux et les taux de croissance maxima observés en juin 1987, il est possible d'estimer le broutage optimal par les larves de *Pecten maximus*. Les valeurs calculées pour les deux eaux sont respectivement de 2.10^3 et 5.10^5 bactéries par 24 heures et par litre. Dans ce dernier cas pour lequel toutes les conditions optimales sont remplies, l'apport que pourrait représenter l'ingestion bactérienne par les larves de *Pecten maximus* serait équivalente à 20% de l'apport algal en carbone.

Les données disponibles sur l'apport que peuvent représenter les bactéries varient d'un auteur à l'autre. ainsi Stuart et al., 1982 suggèrent que les bactéries ne peuvent pas constituer un apport carboné conséquent pour les animaux marins en raison de leur faible efficacité de conversion des substrats carbonés. En parallèle, Seiderer et Newell (1985) pensent qu'elles pourraient mieux répondre aux besoins azotés des bivalves que ne le font les algues (le rapport C/N est en effet, dans ce cas plus favorable; de 6,6 pour les algues il n'est que de 3,5 pour les bactéries). Cette possibilité de rétention des bactéries, considérées en tant que particules de petite taille, est plus élevée chez la larve de bivalves qu'elle ne l'est chez l'adulte (Wilson, 1980).

Samain et al., 1987 ont relié l'optimisation de la croissance larvaire de *Pecten maximus* élevé dans l'eau de mer stabulée en vivier à la présence de particules de petite taille, comprises entre 0,22 et 1 μm . Il semble difficile d'assurer que cet apport soit uniquement d'ordre bactérien, d'autant que les essais concernant les élevages de larves de bivalves en conditions axéniques ont donné des résultats contradictoires.

En supplément à cet apport direct, le rôle des bactéries en tant que source de facteurs de croissance est également à envisager. En effet, elles sont susceptibles de rejeter dans le milieu des substances dissoutes telles que acides aminés, carbohydrates, et vitamines (Kurata, 1986).

CONCLUSION

Ces études ont montré que les bactéries présentes dans une eau de mer mise en stabulation présentent des potentialités de réponses plus élevées que celles de l'eau de mer d'origine. Le maintien de cette eau en système clos pourrait correspondre à une maturation des peuplements bactériens. Toutefois l'extrême variabilité des données de productivité conduit à penser qu'un apport quantitatif ne peut être seul responsable du phénomène. La recherche d'un effet probiotique est rendu difficile par l'absence d'une souche dominante identique d'un cycle à l'autre.

- Brown C., 1981-A study of two shellfish-pathogenic *Vibrio* strains isolated from a long island hatchery during a recent outbreak of disease. *J. Shellfish Res.*,1: 83-87
- Buestel D., Cochard J.C., Dao J.C. et Gerard A., 1982 - Production artificielle de naissain de coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus*; premiers résultats en rade de Brest. , 4: 24-28
- Fuhrman J.A. et Azam F., 1982 - Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: Evaluation and field results. *Mar. Biol.*, 66: 109-120
- Hagstrom A., Azam F., Andersson A., Wikner J. et Rassoulzadegan F., 1988 - Microbila loop in a oligotrophic pelagic marine ecosystem/possible roles of cyanobacteria and nanoflagellates in the organic fluxes.
- Hobbie J.E., Daley R.J. et Jasper S., 1977 - Use of nuclepore filters for counting bacteria by epifluorescence microscopy. *Appl. Envir. Microbiol.*, 33:1225-1228
- Jeanthon C., Prieur D. et Cochard J.C., 1988 - Bacteriological survey of antibiotic-treated sea waters in a *Pecten maximus* hatchery. *Aquaculture*, 71:1-8
- Kurata A., 1986 - Production and consumption of B group vitamins *in situ*. In, *Act. de Coll. N° 3, 2nd Coll Int. Bact. Mar. (Brest) 1984*), edited by GERBAM, IFREMER, CNRS : 169-174
- Loosanoff V.L. et Davis H.C., 1963 - Rearing of bivalve mollusks. In: F.S. Russel (Ed), *Advances in Mar. Biol., Vol 1, Academic Press,London* :pp1-136
- Mc Henery J.G. et Birkbeck T.H., 1985 - Uptake and processing of cultured microorganisms by bivalves. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 90: 145-163
- Mengus B., 1978 - Rôle des bactéries dans l'alimentation de larves de mollusques bivalves marins en élevages expérimentaux. *Thèse de 3ème cycle Oceanog. Biol.*, Aix-Marseille, 11: 135p
- Moriarty D.J.W., 1986 - Measurements of bacterial growth rates in aquatic systems from rates of nucleic acid synthesis. In advances in Microbiol ecology *Marshall K.C. Ed*). *Vol 9, Plenum Press*: pp245-292
- Newell S.Y. et Christian R.R., 1981 - Frequency of dividing cells as an estimator of bacterial productivity. *Appl. Envir. Microbiol.* 42 (1): 23-31
- Oppenheimer C.H. et Zobell C.E., 1952 - The growth and viability of sixty three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *Mar. Res.*, 11: 10-18
- Prieur D., Mevel G., Nicolas J.L., Plusquellec A. et Vigneulle M., 1990 - Interactions between bivalve molluscs and bacteria in the marine environment. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 28: 277-352

- Rivkin R.B., 1986 - Incorporation of tritiated thymidine by eucaryotic microalgae. *J. Phycol.*, 22: 193-198
- Samain J.F., Cochard J.C., Chevolut L., Daniel J.Y., Jeanthon C., Le Coz J.R., Marty Y., Moal J., Prieur D. et Salaun M., 1987 - Effet de la qualité de l'eau sur la croissance larvaire de *Pecten maximus* en ecloserie: Observations préliminaires. *Haliotis*, 16: 363-381
- Seiderer L.J. et Newell R.C., 1985 - Relative significance of phytoplankton, bacteria and plant detritus as carbon and nitrogen resources for the kelp bed filter-feeder *Choromytilus meridionalis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 22 : 127-139
- Simon M. et Azam F., 1989 - Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 51: 201-213
- Sokal D.M. et Michener C.D., 1958 - A statistical method for evaluating systematic relationship. *Univ Kansas Sci. Bull.*, 38: 1409-1438
- Trousselier M. et Legendre P., 1981 - A functional evenness index for microbial ecology. *Microb. Ecol.*, 7: 283-295
- Ward, Weller, Bateson, 1990 - 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Letters to nature. Nature* (345) : 63-65
- Wilson J.H., 1980 - Particle retention and selection by larvae and spat of *Ostrea edulis* in algal suspension. *Mar. Biol.*, 57 : 135-145