

Direction des Ressources Vivantes
Département des Ressources Aquacoles
Laboratoire de Physiologie des Invertébrés Marins
DRV/RST/RALPI/ 2004-05

René ROBERT, Marie-Josèphe CHRETIENNOT-DINET, Raymond KAAS
Véronique MARTIN-JEZEQUEL, Jeanne MOAL, Jean-René LE COZ,
Jean-Louis NICOLAS, Eudes BERNARD, Jean-Paul CONNAN,
Loïc LE DEAN, Gaëtane LE GOURRIEREC, Bertrand LEROY, Claudie QUERE

Octobre 2004

ifremer

Amélioration des productions phytoplanctoniques en éclosérie de mollusques : caractérisation des microalgues fourrage



Numéro d'identification du rapport : DRV/RA/RST/LPI/2004-05 Diffusion : libre <input checked="" type="checkbox"/> restreinte <input type="checkbox"/> interdite <input type="checkbox"/> Validé par : J. Barret Version du document :		date de publication nombre de pages : 144p bibliographie (Oui) illustration(s) (Oui) langue du rapport : français
Titre et sous-titre du rapport : Amélioration des productions phytoplanctoniques en éclosérie de mollusques : caractérisation des microalgues fourrage Titre traduit :Improvement of phytoplankton culture in mollusc hatcheries : characterisation of microalgae used as aquaculture feeds.		
Auteur(s) principal(aux) : Robert, René		Organisme / Direction / Service, laboratoire Ifremer/DRV/RA/LPI Argenton
Collaborateur(s) : Connan, Jean Paul ; Leroy, Bertrand Chrétiennot-Dinet, Marie Josèphe Le Coz, Jean René ; Moal, Jeanne ; Quéré, Claudie Martin-Jézéquel, Véronique ; Le Gourrierc, Gaëtane Nicolas, Jean Louis ; Bernard, Eudes Kaas, Raymond ; Le Déan, Loïc		Organisme / Direction / Service, laboratoire Ifremer/DRV/RA/LPI Argenton CNRS, Laboratoire Arago UMR 7621, Ifremer/DRV/RA/LPI Brest CNRS, LEMAR, UMR 6539 Ifremer/DRV/RA/LPI Brest Ifremer/DRV/VP/LPBA Nantes
Travaux universitaires : diplôme : _____ discipline : _____ établissement de soutenance : _____ année de soutenance : _____		
Titre du contrat de recherche :		n° de contrat IFREMER
Organisme commanditaire : nom développé, sigle, adresse Organisme(s) réalisateur(s) : nom(s) développé(s), sigle(s), adresse(s) Responsable scientifique :		
Cadre de la recherche : Programme : _____ Convention : _____ Projet : _____ Autres (préciser) : _____ Campagne océanographique : (nom de campagne, année, nom du navire)		

Résumé :

La caractérisation des microalgues fourrage constituait l'un des points perfectibles au regard de ce qui est appliquée en microbiologie. Nous avons alors cherché à définir, pour les espèces les plus utilisées en éclosionerie, leurs profils de croissance et de taille, leur caractéristiques cytomorphologique, cytofluorimétrique, biochimique et biomoléculaire, et enfin, précisé leur aptitude au développement sous des conditions extrêmes de température et de salinité (écotolérance). Ce travail avait pour but de vérifier, d'une part, la conformité des souches utilisées à l'éclosionerie d'Argenton (auprès de laquelle se fournissent la plupart des éclosioneries commerciales françaises) en comparant les espèces utilisées à celles issues d'une collection référencée. Un premier balayage avait été réalisé avant la mise en place de cette étude puisque sur les 45 espèces et clones détenus originellement, Argenton ne possédait plus que 15 espèces. La plupart de ces dernières ayant leur équivalent en collection référencée notre souchier est désormais parfaitement identifiée. D'autre part, la confrontation de plusieurs approches, caractéristique de la croissance et de taille, description cytomorphologique, établissement des profils biochimique et biomoléculaire, écotolérance, signature cytofluorimétrique, pour discriminer les différentes espèces de microalgues fourrage a été globalement couronnée de succès. Seule cette dernière technique n'a pas permis de caractériser les espèces entre elles, les paramètres mesurés en cytométrie de flux étant particulièrement sensibles à l'état physiologique des microalgues, très variable d'un échantillon à un autre. Nous disposons dorénavant d'une méthode d'identification qu'il serait souhaitable de transférer, au niveau national voire international, auprès des organismes en charge des collections. De plus, nous disposons dorénavant de données pertinentes pour établir pour chacune des microalgues d'intérêt aquacole une véritable carte d'identité.

Abstract :

The characterisation of microalgae constitutes a critical prerequisite for phytoplankton management in mollusc hatcheries. Consequently, we assessed the most commonly used species to establish their growth and size profiles, their cytomorphological, biochemical, biomolecular identification as well as their cytometer signs, and also their ability to grow under extreme conditions of temperature and salinity.

This work aimed at matching the conformity of the strains used in Argenton (dispatched to most of the French commercial hatcheries) to those of a referenced culture collection. A previous screening preceded this study, because of the 45 species and/or clones held originally, Argenton kept no more than 15 species. As most of the latter are also represented in referenced collection, our strains are therefore correctly identified. On the other hand, the combination of several approaches (characteristic of growth and size, cytomorphological description, establishment of biochemical and biomolecular profiles) to discriminate the different species was broadly successful. Nevertheless, flow cytometer measurements were extremely variable from sample to sample, due to their high sensitivity to the microalga's physiological state.

Accordingly, we have developed a method of identification which could be transferred at a national or international level, to the Institutions in charge of microalgae collections. Furthermore, we achieved relevant data to establish an identity card for each of the microalgae suitable for mollusc hatcheries.

Mots-clés : Eclosionerie, mollusques, phytoplankton, cytomorphologie, composition biochimique, cytométrie en flux, profil biomoléculaire, écotolérance.

Keywords : Hatchery, mollusc, phytoplankton, cytomorphology, biochemical composition, flow cytometry, biomolecular profile, ecological limits.

Sommaire

Amélioration des productions phytoplanctoniques en éclosérie : caractérisation des microalgues fourrage

Introduction générale	4
I. Caractérisation de la croissance et de la taille des microalgues fourrage	6
1.1. Matériels et méthodes	7
1.2. Résultats	9
1.2.1. Croissance	9
1.2.2. Taille	16
II. Caractérisation cytomorphologique de microalgues fourrage	21
2.1. Matériels et méthodes	22
2.2. Résultats	23
2.2.1. Classe des Prasinophyceae	23
2.2.2. Classe des Prymnesiophyceae	25
2.2.3. Classe des Pavlovophyceae	26
2.2.4. Classe des Cryptophyceae	26
2.2.5. Classe des Bacillariophyceae	27
III. Caractérisation biochimique de microalgues fourrage	38
3.1. Matériels et méthodes	39
3.2. Résultats	42
3.2.1. Aspects qualitatifs de la composition	42
3.2.1.1. Stérols des diatomées	42
3.2.1.2. Acides gras des diatomées	44
3.2.1.3. Stérols des flagellés	45
3.2.1.4. Acides gras des flagellés	47
3.2.1.5. Comparaison lipides neutres/lipides polaires	49
3.2.2. Aspects quantitatifs de la composition	50
3.2.2.1. Poids sec	50
3.2.2.2. Quantité d'acide gras	51
3.2.2.3. Quantité de stérols	51
IV. Caractérisation cytofluorimétrique de microalgues fourrage	53
4.1. Matériels et méthodes	54
4.2. Résultats	58
V. Caractérisation biomoléculaire de microalgue fourrage	64
5.1. Matériels et méthodes	65
5.2. Résultats	67
5.2.1. Amplification et PCR	67
5.2.2. Caractérisation des amplicons par ARDRA	71
VI. Ecotolérance des microalgues fourrage	75
6.1. Matériels et méthodes	76
6.2. Résultats	77
Conclusion générale	81
Références bibliographiques	82
Annexes	85

Amélioration des productions phytoplanctoniques en éclosionerie : caractérisation des microalgues fourrage

Introduction générale

L'importance des productions phytoplanctoniques pour les éclosioneries de mollusques a été largement démontrée (Coutteau et Sorgeloos, 1992 ; Robert et Trintignac, 1997) mais n'a pas été suffisamment intégrée à ce jour dans les programmes de recherche. Les quantités produites sont pourtant importantes (jusqu'à 100 m³/jour dans certaines éclosioneries commerciales : Donaldson, 1991) et la qualité reste cruciale essentiellement en phase larvaire. Comme toutes les techniques d'éclosionerie ces productions phytoplanctoniques se sont développées selon une approche empirique et il serait souhaitable de les structurer. Pour améliorer ces productions trois questions préalables peuvent être posées :

- que cultive-t-on ?
- comment le cultive-t-on ?
- comment utilise-t-on la biomasse à des fins de nutrition ?

Le travail développé ici s'est intéressé à la première question.

Sur la cinquantaine d'espèces testées (Chrétiennot-Dinet *et al.*, 1986) seule une douzaine présente un réel intérêt et est fréquemment employée en éclosionerie-nurserie de bivalves (Tableau 1).

Tableau 1 : Espèces de microalgues fourrage utilisées en éclosionerie de mollusques.

Espèce	Stades préférentiels d'utilisation	Utilisation en éclosionerie
<i>Isochrysis aff. galbana</i> (T. Iso)	larves, post-larves	+++
<i>Isochrysis galbana</i>	larves, post-larves	+
<i>Pavlova lutheri</i>	larves	++
<i>Chaetoceros calcitrans</i> forma <i>pumilus</i>	larves	+
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	géniteurs, larves, post-larves, juvéniles	+++
<i>Chaetoceros gracilis</i>	géniteurs, larves, post-larves, juvéniles	++
<i>Thalassiosira pseudonana</i> (clone 3H)	larves, post-larves	++
<i>Skeletonema costatum</i>	géniteurs, post-larves, juvéniles	+++
<i>Rhodomonas salina</i>	Larves, post-larves	+
<i>Tetraselmis suecica</i>	géniteurs, post-larves, juvéniles	+
<i>Tetraselmis chui</i>	géniteurs, post-larves, juvéniles	+
<i>Tetraselmis striata</i>	géniteurs, post-larves, juvéniles	+

Malgré ce nombre restreint l'analyse de la situation actuelle a révélé des insuffisances comme des incertitudes sur l'identification des espèces cultivées (exemple : *Chaetoceros gracilis* et *Chaetoceros calcitrans*; *Isochrysis galbana* et *Isochrysis aff. galbana*) et une absence fréquente de contrôle qualité (contamination par d'autres microalgues par exemple).

Il devenait donc nécessaire :

- de clarifier la position taxonomique des espèces cultivées
- de fournir un outil descriptif de ces espèces cultivées aux opérateurs ainsi que des procédures de contrôle aisément réalisables permettant de vérifier les caractéristiques attendues des microalgues qu'ils cultivent.

La caractérisation d'une espèce doit reposer sur un ensemble de faits concordants, permettant une détermination sans équivoque. Soumis à des conditions de culture différentes, le phytoplancton présente des comportements variés en terme de taux de croissance, de capacité de photosynthèse, de productions de métabolites, de composition biochimique..... Il devient par conséquent intéressant d'essayer de déterminer si ces paramètres sont susceptibles d'être utilisés pour caractériser une microalgue donnée.

Actuellement la taxonomie des micro-algues est essentiellement fondée sur la cytomorphologie, selon des règles adoptées au niveau international par la communauté scientifique mais sans organisme central de contrôle (à l'instar du Comité International de Systématique Bactérienne). Les données complémentaires obligatoires pour les publications descriptives de microbiologie, telles que conditions optimales et extrêmes de croissance, caractéristiques biochimiques, données de taxonomie moléculaire, sont rares et généralement absentes des publications descriptives de micro-algues. Ceci est très insuffisant s'agissant d'algues cultivées à des fins nutritionnelles.

Par conséquent, l'amélioration de la situation actuelle suppose de regrouper les données nécessaires à la description complète des micro-algues cultivées. Ceci suppose de collecter les données bibliographiques disponibles et de produire les données manquantes sur les points suivants, croissance et taille, morphologie, cytofluorimétrie (taille, granulosité et caractéristique pigmentaire), profils biochimique (acides gras, stérols) et biomoléculaire, écotolérance (optimums et extremums de température, pH, salinité, lumière).

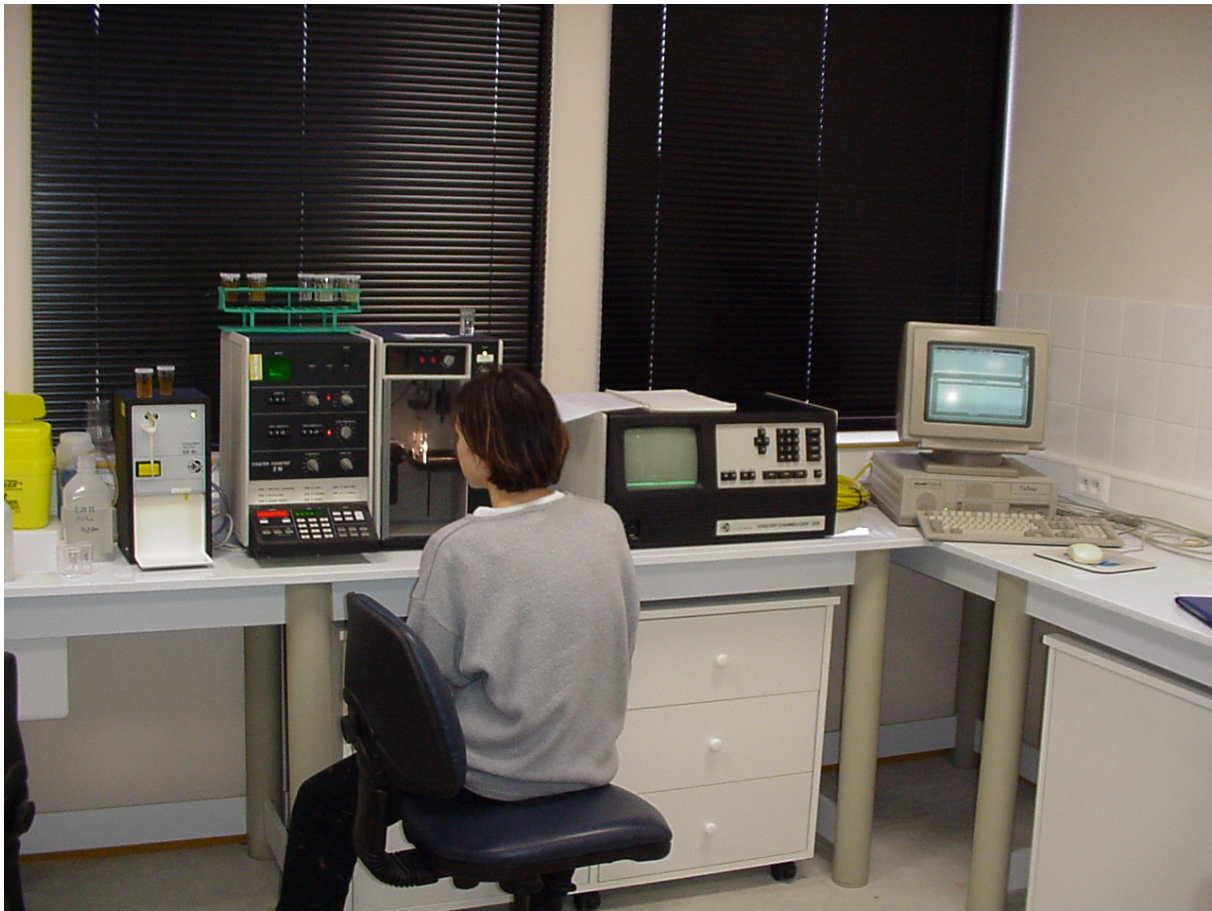
Les microalgues listées dans le tableau 1 sont en collection dans le laboratoire Physiologie des Invertébrés. Dans la mesure où, d'une part, la vérification de leur valeur alimentaire est régulièrement opérée sur des larves de bivalves et que la plupart des écloséries commerciales françaises font souvent appel à nos cultures, il a été convenu de cibler dans un premier temps cette étude sur ce souchier puis de confronter ces résultats avec ceux d'une collection internationale référencée.

Cette caractérisation a donc été entreprise selon les différentes approches avec le partenariat suivant :

- laboratoire Ifremer de Physiologie des Invertébrés Marins, (Brest/Argenton) : LPI.
- laboratoire Ifremer de Production et de Biotechnologie des Algues (Nantes) : LPBA.
- laboratoire des Sciences et de l'Environnement Marin (Université de Brest) : LEMAR.
- laboratoire Arago, Observatoire Océanologique (CNRS Banyuls-sur-Mer) : OOB.

I. Caractérisation de la croissance et de la taille des microalgues fourrage

R. Robert, J.P. Connan et B. Leroy
Ifremer LPI Argenton



Compteur de particules (Coulter Counter ZM) équipé d'un Channelyser (C256), Laboratoire Physiologie des Invertébrés d'Argenton : photo R. Robert.

1.1. Matériels et méthodes

En 2001, treize microalgues (six diatomées et sept flagellés, originaires pour la plupart du souchier d'Argenton) utilisées en éclosérie de mollusques, ont été cultivées sur milieu de Conway (Walne, 1966 : annexe 1) pendant 8-10 j, en ballon de 2L, sous conditions contrôlées correspondant à des conditions standard d'Argenton : éclairage continu de 205 $\mu\text{moles photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, température de 22-23°C ($22,6 \pm 0,6$), salinité de 28 ppm pour les diatomées (excepté *Skeletonema costatum*) et 34,5 ppm pour les flagellés (Fig. 1). Un bullage permanent était assuré pour homogénéiser les cultures et permettre un apport de CO₂ (3 % de l'apport d'air pour le maintien du pH). Ces conditions ont été rigoureusement contrôlées tout au long des expérimentations afin d'autoriser une bonne reproductibilité des paramètres de culture.



Fig. 1 : Dispositif expérimental pour l'étude de la caractérisation des microalgues fourrage (ballons de 2L, station d'Argenton).

Afin de confronter ces résultats à des références internationales et de ne conserver à terme que les souches d'intérêt, un exercice similaire a été conduit en 2002 sur neuf microalgues issues de la collection du CCAP « Culture collection of Algae and Protozoa » (G.B) parfaitement référencées (cf n° de la souche). Parmi les cinq espèces que nous n'avons pas commandées au CCAP, deux ont été isolées par Ifremer (*Chaetoceros* sp.), deux étaient issues d'un laboratoire américain (*Tetraselmis*) et ne présentaient pas de grand intérêt pour l'alimentation de *Crassostrea gigas* (Ponis *et al.*, 2002) et une n'a pas trouvé son équivalent dans cette collection référencée (Tableau 2) :

Tableau 2 : Liste et origine des espèces concernée par la présente étude.

Espèce	Classe	Origine	Références Algothèque
<i>Isochrysis aff. galbana</i> (<i>T. Iso</i>)	Haptophycée	Argenton	CCAP 927/14
<i>Isochrysis galbana</i>	Haptophycée	Argenton	CCAP 927/1
<i>Pavlova lutheri</i>	Haptophycée	Argenton	CCAP 931/1
<i>Chaetoceros calcitrans</i> forma <i>pumilum</i>	Bacillariophycée	Argenton	CCAP 1010/05
<i>Chaetoceros sp.</i> 'minus'	Bacillariophycée	Argenton	-----
<i>Chaetoceros sp.</i> « <i>tenuissimus like</i> »	Bacillariophycée	Argenton	-----
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Bacillariophycée	Argenton	-----
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Bacillariophycée	Argenton	CCAP 1010/3 (<i>C. muelleri</i>)
<i>Thalassiosira pseudonana</i> (clone 3H)	Bacillariophycée	Argenton	CCAP 1085/3
<i>Skeletonema costatum</i>	Bacillariophycée	Argenton	CCAP 1077/3
<i>Rhodomonas salina</i>	Cryptophycée	Argenton	CCAP 978/24
<i>Tetraselmis suecica</i>	Prasinophycée	Argenton	CCAP 66/4
<i>Tetraselmis chui</i>	Prasinophycée	USA 2000 (Milford)	-----
<i>Tetraselmis striata</i>	Prasinophycée	USA 2000 (Milford)	-----

Dans ces conditions expérimentales très contrôlées, chaque culture était dupliquée et deux séries expérimentales (soit quatre cultures par espèce) par groupe de cinq à sept espèces ont été réalisées au cours des années 2001 et 2002.

Les données de croissance journalière et de taille ont été acquises au compteur de particules (ZM) couplé à un channelyser (C256). Ces appareils permettent de compter le nombre total de particules d'une solution (algues et matières en suspension) et sa répartition. Son principe de fonctionnement est le suivant : la solution est aspirée dans un tube en verre doté d'un orifice (100 µm de diamètre). Sans passage des particules, une électrode interne et une externe maintiennent une différence de potentiel fixe dans l'électrolyte (eau de mer) A l'aspiration, des particules présentes dans le fluide passent alors entre les deux électrodes entraînant une modification de la différence de potentiel proportionnelle à leurs volumes. Ce sont ces modifications qui sont comptées. Le compteur donne alors un nombre précis de particules dans la gamme des diamètres sélectionnés auquel il effectue une correction de coïncidence correspondant à la rectification de l'erreur de comptage provoquée par la confusion entre une particule et le passage simultané de deux particules. La répartition des particules en fonction de leur volume (ou de leur diamètre équivalent) est acquise sur le channelyser. Les données sont ensuite transférées sous PC (RS 232) et récupérées sous Excel, logiciel sous lequel la moyenne et l'écart type sont calculés à partir de classes.

Par ailleurs, des prélèvements ont été effectués en phase exponentielle (J4/J6) et stationnaire (J8/J10) pour leur caractérisation biochimique (stérols, acides gras), bio moléculaire, cytomorphologique et cytofluorimétrique. Les deux premières actions ont été conduites au sein de notre laboratoire, les deux dernières avec des partenaires extérieurs.

Parmi les six actions prévues, quatre ont été entreprises en 2001, les caractéristiques écophysiologicals (écotolérance) et signatures cytomorphologiques réalisées en 2002.

1.2. Résultats

1.2.1. Croissance

Une bonne reproductibilité de la croissance a été généralement obtenue quelle que soit l'espèce considérée et la période (entre série ou année). De ce fait une seule série de données sera représentée ci-après. Ces croissances présentent trois sur quatre des phases classiquement décrites dans la littérature, c'est à dire une phase de latence (1-3j) une phase exponentielle (3-5 j), une phase stationnaire (2-4j). Seule la phase de sénescence n'a pas été atteinte (Figs. 2, 3, 4 et 5). Les croissances sont très différentes avec globalement des diatomées beaucoup plus performantes. A l'exception de *Skeletonema costatum* (Figs 2 et 3), *Pavlova lutheri* (Figs. 4 et 5) et *Tetraselmis suecica* (Figs. 4 et 5) aucune différence flagrante de croissance n'a été observée entre les cultures originaires du souchier d'Argenton et celles issues du CCAP. En fait, comme nous le commenterons une adaptation préalable de certaines espèces aux conditions du laboratoire s'avère parfois nécessaire.

Pour *Chaetoceros gracilis* (originaire d'Argenton) on observe une phase de latence d'un jour, une phase exponentielle de 4 jours, un ralentissement à partir du cinquième jour et une phase stationnaire de trois jours (Fig. 2). Le maximum de concentration atteint est de 32 millions de cellules par ml au 8^{ème} jour.

Pour *Chaetoceros calcitrans* (originaire d'Argenton) on observe une phase de latence d'un jour, une phase exponentielle de quatre jours, un ralentissement à partir du cinquième jour et une phase stationnaire de trois jours (Fig. 2). Le maximum de concentration atteint est de 28,5 millions de cellules par ml au 8^{ème} jour.

Pour *Chaetoceros* sp. *tenuissimus like* (originaire d'Argenton), on note une phase de latence de deux jour, une phase exponentielle de quatre jours, un ralentissement à partir du cinquième jour et une phase stationnaire de deux jours (Fig. 2). Le maximum de concentration atteint est de 62 millions de cellules par ml au 7^{ème} jour.

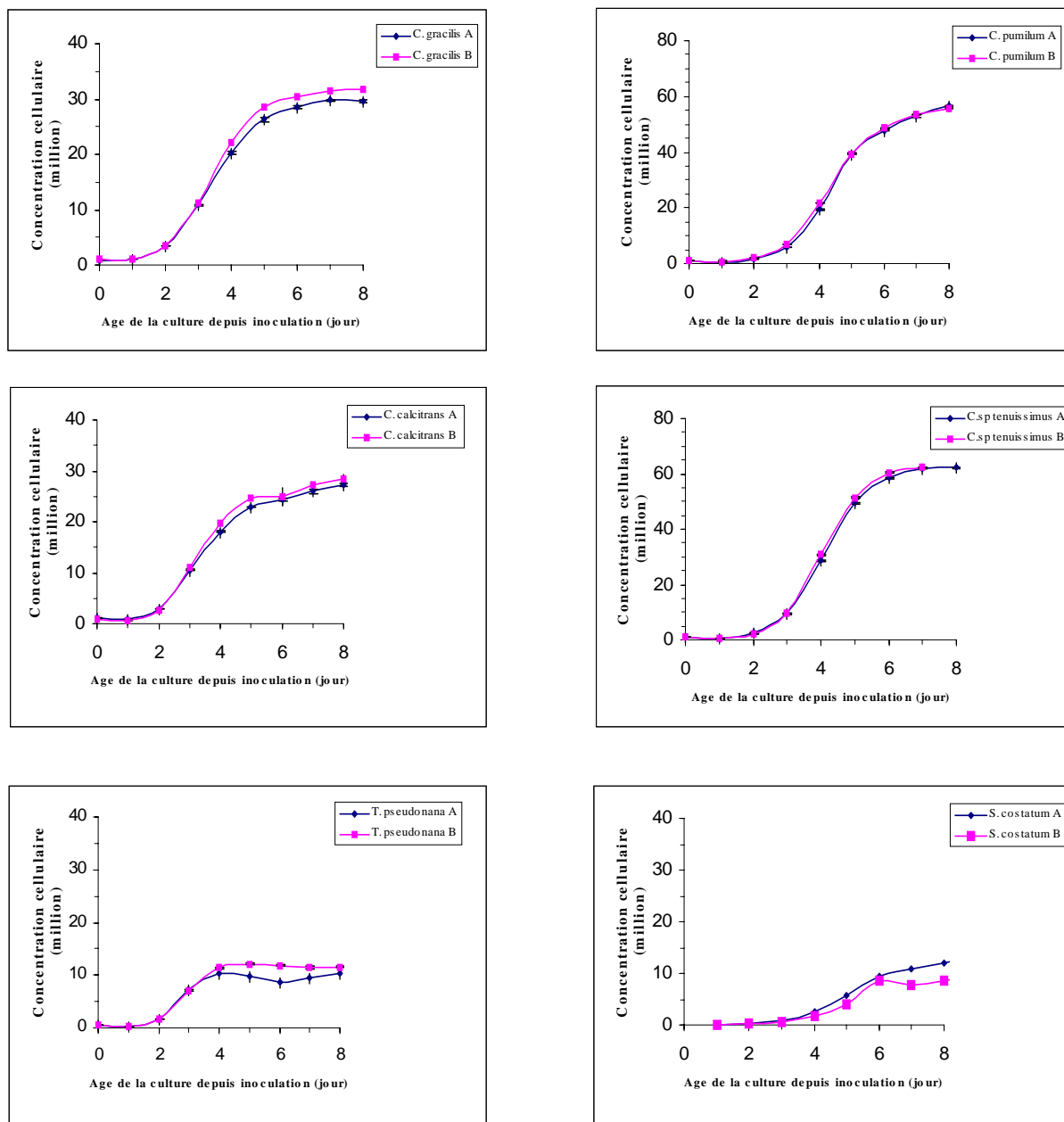


Fig. 2 : Croissance de six espèces de diatomées issues du souchier d'Argenton en ballon de 2L sous conditions contrôlées (série 1, année 2001).

Pour *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* (collection CCAP), on observe une phase de latence d'un jour, une phase exponentielle de trois jours, un ralentissement à partir du cinquième jour et une phase stationnaire de quatre jours (Fig. 3). Le maximum de concentration atteint est de 45 millions de cellules par ml au 7^{ème} jour. A partir du neuvième jour, la concentration diminue mais cette baisse n'est pas suffisamment franche pour l'assimiler à la phase de déclin.

Pour *Chaetoceros muelleri* (collection CCAP), les phases de latence et exponentielle présentent la même durée que pour l'espèce précédente, la concentration maximale atteinte est plus faible, 27 millions par ml au dixième jour (Fig. 3). La phase de sénescence n'étant pas atteinte, la phase stationnaire est plus longue, six jours.

Pour *Thalassiosira pseudonana* (collection CCAP), la phase de latence dure deux jours, la phase exponentielle deux jours également, la phase stationnaire six jours (Fig. 3). La concentration maximale est atteinte le huitième jour avec 18 millions de cellules par ml.

Skeletonema costatum (collection CCAP), présente une croissance anormalement faible avec une phase de latence particulièrement longue, quatre jours. La concentration maximale est atteinte au bout de dix jours avec une concentration de 5 millions par ml (Fig. 3). Là un problème d'adaptation peut être évoqué puisque dans des mêmes conditions d'expérience et le même laps de temps, la concentration de *S. costatum* issue d'Argenton est double, 10 millions (Fig. 2).

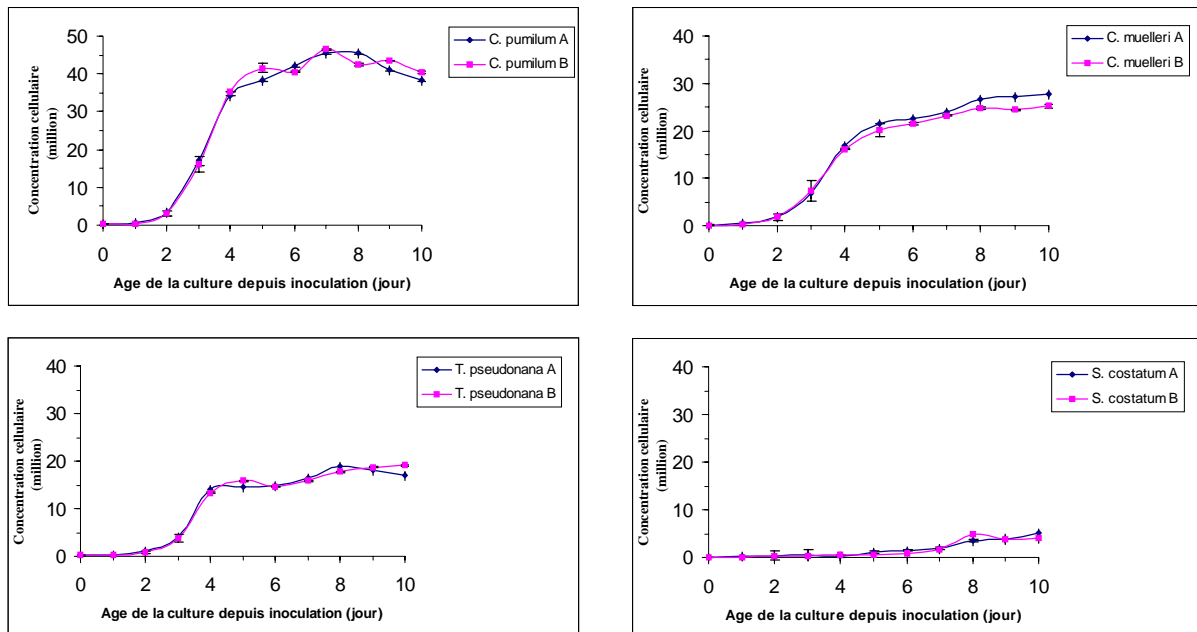


Fig. 3 : Croissance de quatre espèces de diatomées issues de l'algothèque du CCAP en ballon de 2L sous conditions contrôlées (série 5, année 2002).

Isochrysis aff. *galbana* présente une phase de latence de deux jours, une phase exponentielle de cinq jours et une phase stationnaire d'au moins quatre jours, la sénescence des cultures n'ayant pas été observée (Fig. 4). En fin de phase exponentielle, la concentration est comprise entre 28,5 millions.ml⁻¹ (S2, A) et 34,5 millions.ml⁻¹ (S2, B). Après avoir présenté un début de croissance similaire, une différence de développement est enregistrée en phase stationnaire, le témoin A présentant un déficit de croissance de 15 % qui est pourtant semblable à celle relevée lors de la série expérimentale précédente (S1).

Isochrysis galbana (collection CCAP) présente une croissance lente avec une phase de latence de trois jours, une phase exponentielle peu marquée. La concentration maximale observée au dixième jour est de 12 millions par ml mais la phase stationnaire n'est pas atteinte (Fig. 4). Une deuxième série de culture a été effectuée ultérieurement confirmant la faible croissance de cette espèce, comparativement à son clone *Isochrysis* aff. *galbana* (collection CCAP) avec des phases de croissance difficilement identifiables. Au 11^{ème} jour les cultures n'atteignent qu'une densité de 6 millions.ml⁻¹ alors que cette même concentration est atteinte chez *T. iso* en trois jours.

Pavlova lutheri (collection CCAP) présente une phase de latence de deux jours, une phase exponentielle de huit jours et la phase stationnaire est quasi inexistante. Les deux témoins se comportent de manière similaire, des concentrations d'environ 30 millions.ml⁻¹ étant atteintes

après dix jours de cultures (Fig. 4 : S2A et S2B). De telles performances n'ont pas été rencontrées au cours de la série précédente qui se caractérise par des croissances médiocres, des concentrations d'environ 10 millions.ml⁻¹ étant atteintes après dix jours de culture (Fig. 4 : S1A et S1B). Comme pour *Skeletonema costatum* une adaptation de l'espèce à son environnement peut être également évoquée.

Tetraselmis suecica (collection CCAP) présente une phase de latence de trois jours, une phase exponentielle de quatre jours et une phase de ralentissement de quatre jours minimum. Les témoins se comportent de manière similaire, des concentrations d'environ 3,5 millions.ml⁻¹ étant atteintes après onze jours de culture. De telles performances n'ont pas été rencontrées au cours de la première série, des concentrations de 1,8 millions.ml⁻¹ étant atteintes après dix jours de culture (Fig. 4). Là encore une adaptation des souches à leur environnement peut être évoquée puisque la souche issue d'Argenton présente une meilleure croissance avec une phase de latence plus courte (2j) et une phase exponentielle plus marquée bien que les concentrations maximales atteintes soient similaires (Fig. 5).

Rhodomonas salina (collection CCAP) présente une phase de latence de trois jours et une phase exponentielle difficilement identifiable du à un manque de données est estimée à environ six jours. La phase stationnaire dure au moins un jour. Après avoir présenté un début de croissance similaire, une différence de développement est enregistrée en phase exponentielle, le témoin A présentant un déficit de croissance de 15 %. Des concentrations comprises entre 2,2 et 2,6 millions.ml⁻¹ sont atteintes au 10^{ème} jour (Fig. 4). Des performances aussi médiocres étaient enregistrées avec la souche issue d'argenton (Fig. 5).

Chaetoceros sp. '*minus*' (originaire d'Argenton) présente une phase de latence d'un jour, une phase exponentielle de quatre à cinq jours et une phase stationnaire d'au moins six jours. Une différence de développement est enregistrée au cours de la phase exponentielle, le témoin A présentant un déficit de croissance de 10 % et une phase stationnaire plus précoce. Des concentrations comprises entre 76 et 85 millions.ml⁻¹ sont atteintes en fin de phase exponentielle au 5-6^{ème} jour (Fig. 5).

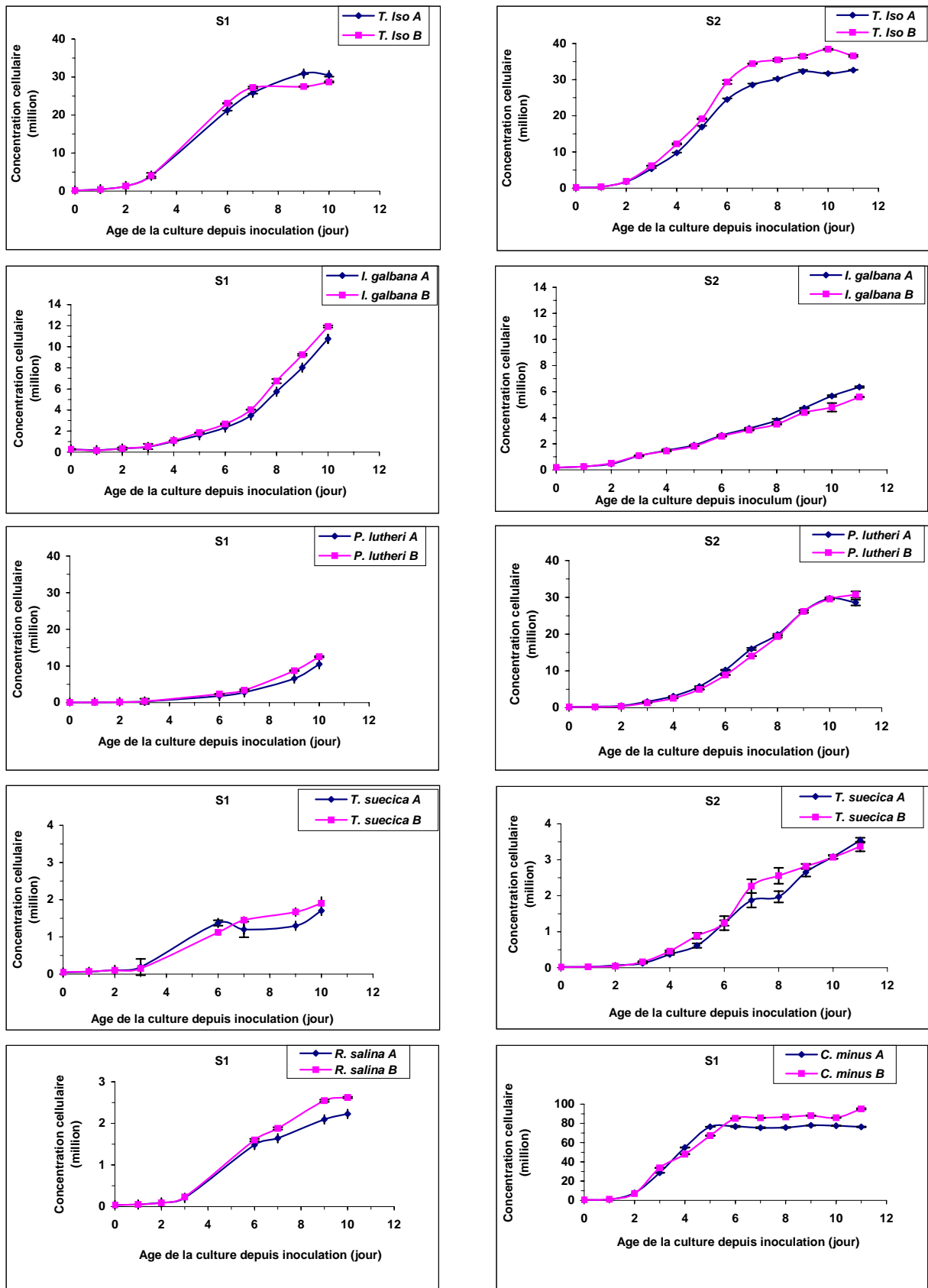


Fig. 4 : Croissance de sept espèces de flagellés issus de l'algothèque du CCAP et d'une *Chaetoceros* issue d'Argenton en ballon de 2L et sous conditions contrôlées (série 7, année 2002).

Tetraselmis chui et *T. striata* ont un comportement de croissance similaire à *T. suecica* d'Argenton avec des concentrations d'environ 3,5-4 millions.ml⁻¹ après dix jours de culture chez *T. chui* et 4-4,5 millions chez *T. striata* (Fig. 5).

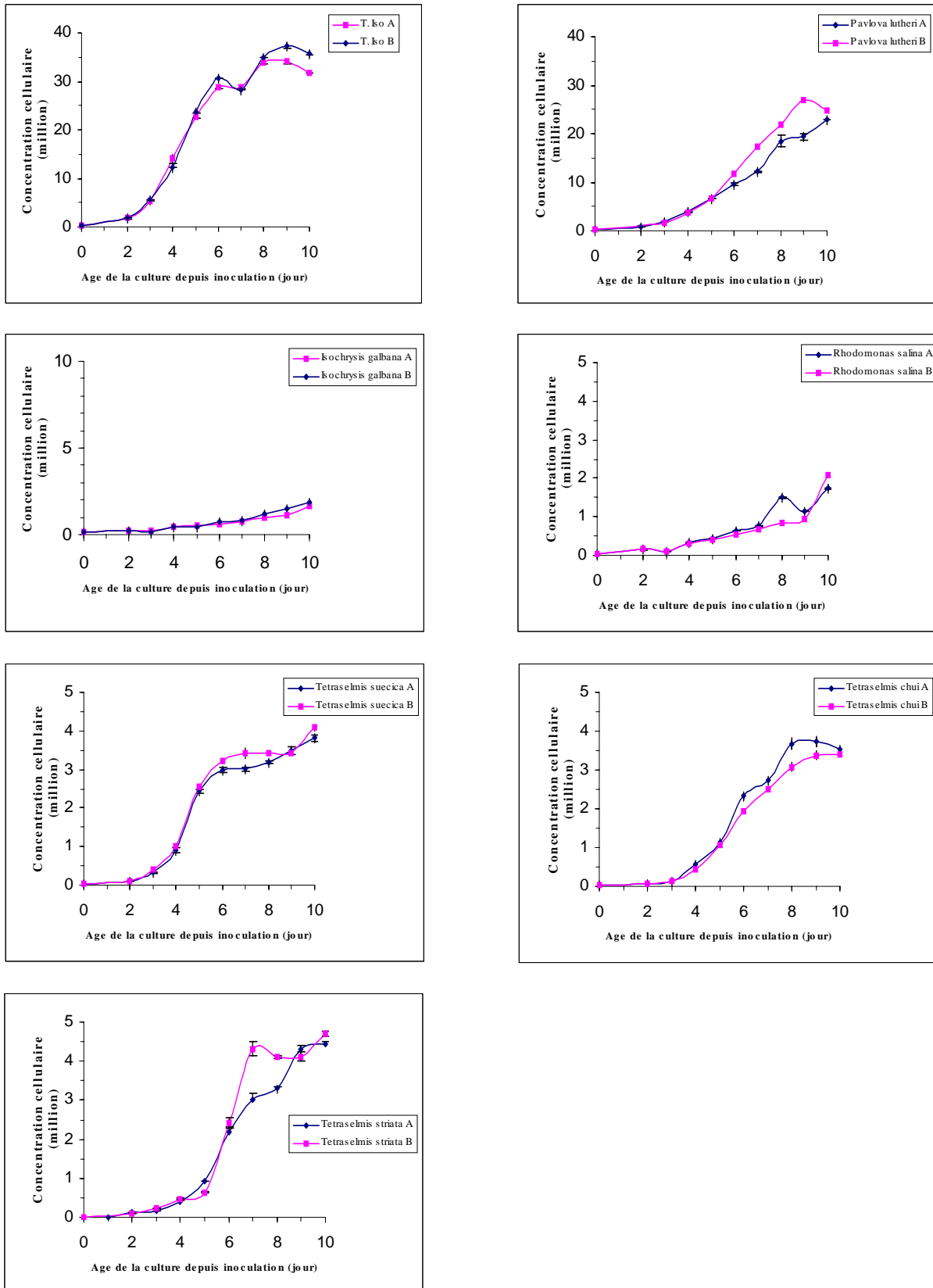


Fig. 5 : Croissance de six espèces de flagellés issus originaires d'Argenton ou des USA en ballon de 2L sous conditions contrôlées (série 3, année 2001).

La modélisation de la croissance de certaines de ces espèces a été opérée sous Matlab. Pour ce faire, seules les séries acquises avec des points de mesures quotidiennes en tout début d'ensemencement ont pu être exploitées, soit environ quatre séries (sur 8 : tableau 3).

Tableau 3 : Taux maximum de croissance et temps de latence chez des microalgues fourrage originaires du souchier d'Argenton ou du CCAP et cultivées en milieu contrôlé en ballons de 2L.

Espèce	Origine	μ_{\max}	Temps de latence
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Argenton	1,50 j ⁻¹	1,92 j
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Argenton	1,99 j ⁻¹	1,85 j
<i>Chaetoceros calcitrans forma pumilum</i>	Argenton	1,47 j ⁻¹	2,27 j
<i>Chaetoceros sp. tenuissimus like</i>	Argenton	1,53 j ⁻¹	2,21j
<i>Chaetoceros sp. 'minus'</i>	Argenton	2,35 j ⁻¹	1,68 j
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Argenton	2,48 j ⁻¹	1,76 j
<i>Skeletonema costatum</i>	Argenton	1,58 j ⁻¹	1,21 j
<i>Isochrysis affinis galbana</i>	CCAP	1,71 j ⁻¹	1,49 j
<i>Isochrysis galbana</i>	CCAP	0,77 j ⁻¹	1,70 j
<i>Tetraselmis suecica</i>	CCAP	1,38 j ⁻¹	2,80 j
<i>Pavlova lutheri</i>	CCAP	1,29 j ⁻¹	2,12 j

1.2.2. Taille

Quelle que soit la culture (A, B) ou la série expérimentale considérée (S1, S2), les caractéristiques de taille des microalgues sont similaires avec pour chaque culture une évolution de la distribution en taille au cours du temps. Pour *Isochrysis* aff. *galbana* et pour *Chaetoceros* 'minus' une augmentation progressive du volume des cellules ainsi qu'une distribution de plus en plus hétérogène sont relevées (Figs. 6 et 7). A l'inverse, chez *Tetraselmis suecica* une diminution du volume moyen et un resserrement en taille au cours du temps sont notés (Fig. 8).

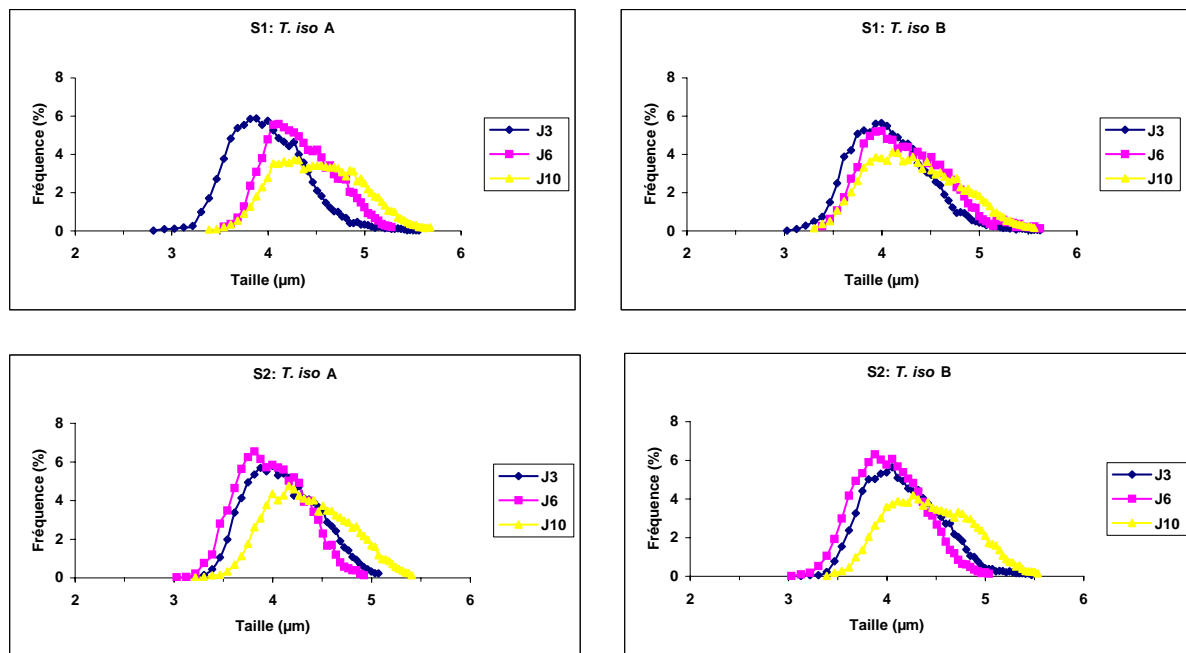


Fig. 6 : Évolution des spectres de taille (diamètre équivalent en μm) au cours du temps d'*Isochrysis* aff. *galbana* en ballon de 2 litres. Les cultures étaient conduites en duplicata (A, B) et deux séries ont été réalisées (S1, S2).

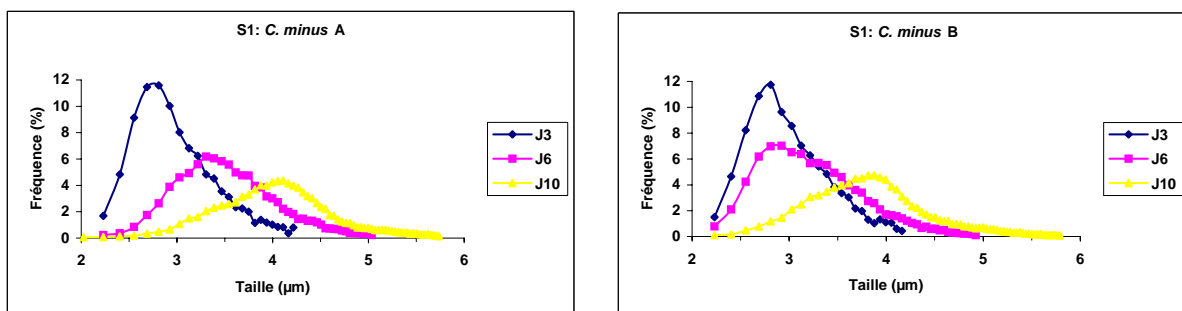


Fig. 7 : Évolution des spectres de taille (diamètre équivalent en μm) au cours du temps de *Chaetoceros* 'minus' en ballon de 2 litres. Les cultures étaient conduites en duplicata (A, B) et une seule série a été réalisée (S1).

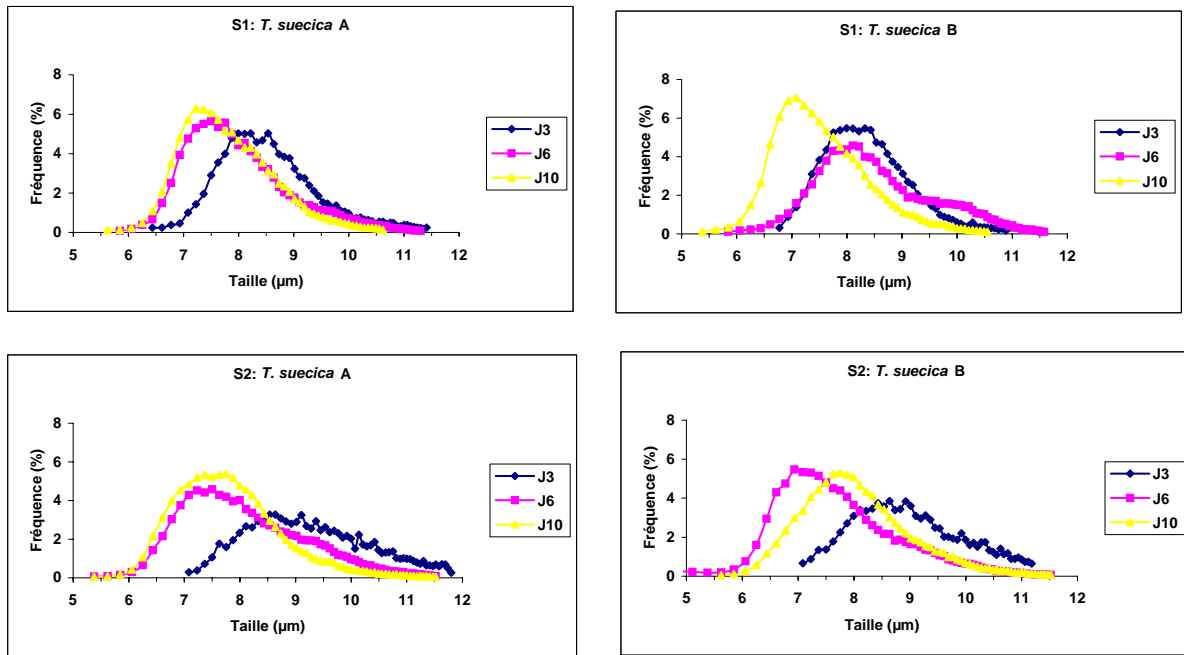


Fig. 8 : Évolution des spectres de taille (diamètre équivalent en µm) au cours du temps de *Tetraselmis suecica* en ballon de 2 litres. Les cultures étaient conduites en duplicata (A, B) et deux séries ont été réalisées (S1, S2).

Les conditions de culture ayant été reproduites le plus fidèlement possible, il est possible de comparer les différentes espèces entre elles et d'établir des comparaisons tant sur le plan performance de croissance que sur le plan taille (volume ou diamètre). Cette analyse n'a de sens que dans nos conditions expérimentales mais permet de dégager les espèces les plus intéressantes pour la nutrition des larves qui rappelons le sont la cible de cette étude.

En ce qui concerne la taille nous avons vu précédemment qu'elle pouvait évoluer au cours de la croissance phytoplanktonique avec généralement une augmentation du volume cellulaire (quelques exceptions à cette règle existent néanmoins en particulier chez les Prasinophycées). De ce fait, seules les valeurs acquises au cours de la phase exponentielle ont été retenues et la moyenne a été établie toutes cultures confondues (duplicata et série : Figs. 9 et 10). Rappelons que le volume cellulaire moyen a été calculé à partir d'un channelyser C256 qui représente la distribution d'un échantillon selon cette grandeur. Il est cependant possible d'exprimer cette valeur en µm et pour ce faire chaque particule est assimilée à une sphère. Le diamètre équivalent qui peut en être extrait n'est qu'une représentation (seul le volume particulaire est vrai) mais il est plus compréhensible.

Avec un volume cellulaire de 25 µm³ (diamètre équivalent ≈ 3,6 µm : tableau 4) les diatomées *Chaetoceros* sp. 'minus' et *C. sp. tenuissimus* like se distinguent par leur très petite dimension (Fig. 9). Bien qu'également de stature restreinte *C. calcitrans forma pumilum* a un volume cellulaire variable compris entre 30 et 45µm³ (diamètre équivalent ≈ 3,8-4,4 µm : tableau 4) en fonction de son origine, celle d'Argenton présentant une plus petite taille (Fig. 9). Une telle différence se retrouve également chez *Thalassiosira pseudonana*, avec des volumes cellulaires cependant bien plus importants, compris entre 55 et 70 µm³ (Fig. 9 : diamètre équivalent ≈ 4,7-5,1 µm : tableau 4). *C. muelleri*, *C. gracilis* et *C. calcitrans* présentent des volumes cellulaires (Fig. 9) respectivement égaux à 70 µm³ (diamètre équivalent ≈ 5,2 µm : tableau 4), 80 µm³ (diamètre équivalent ≈ 5,3 µm : tableau 4) et 90 µm³ (diamètre équivalent ≈ 5,6 µm : tableau 4). Avec un rapport en volume d'environ trois on peut aisément

comprendre que les diatomées *Chaetoceros* sp. 'minus', *C. sp. tenuissimus* et *C. calcitrans forma pumilum* présentent des caractéristiques de taille bien plus adaptées aux jeunes larves de mollusques que les autres diatomées. Quelle soit leur origine (Argenton ou CCAP) *Isochrysis aff. galbana* et *Isochrysis galbana* présentent des caractéristiques de taille identique, par ailleurs très proche entre les deux espèces, avec des volumes cellulaires compris entre 40 et 50 μm^3 (Fig. 9 : diamètres équivalents $\approx 4,3-4,5 \mu\text{m}$: tableau 4). Des mêmes valeurs sont enregistrées avec *Pavlova lutheri* mais la souche originaire d'Argenton est plus petite (40 μm^3). Avec des volumes cellulaires de 210 à 220 μm^3 , *T. striata* et *R. salina* sont très voisines sur le plan de la taille. Les deux Prasinophycées *Tetraselmis suecica* et *T. chui* sont les espèces de plus grande taille avec des volumes cellulaires (Fig. 9) compris entre 310 et 340 μm^3 (diamètres équivalents $\approx 8,4-8,6 \mu\text{m}$: tableau 4).

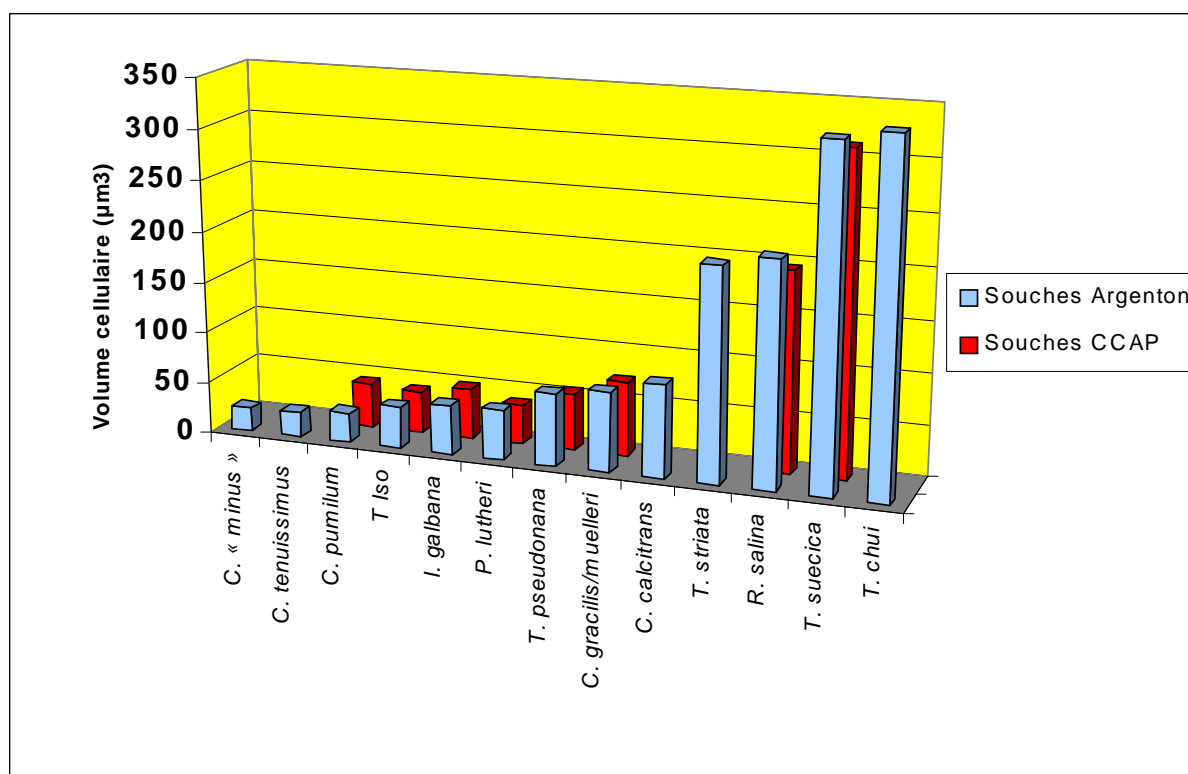


Fig. 9 : Volume cellulaire moyen de microalgues fourrage originaires du soucier d'Argenton ou du CCAP et cultivées en milieu contrôlé en ballons de 2L.

Tableau 4 : Taille moyenne (écart type) exprimée en diamètre équivalent (μm) de microalgues fourrage originaires du soucier d'Argenton ou du CCAP et cultivées en milieu contrôlé en ballons de 2L.

Espèce	Origine	Diamètre équivalent (μm)
<i>Chaetoceros</i> sp. 'minus'	Argenton	3,55 (0,46)
<i>Chaetoceros</i> sp. <i>tenuissimus</i> like	Argenton	3,59 (0,44)
<i>Chaetoceros calcitrans forma pumilum</i>	Argenton	3,82 (0,52)
<i>Pavlova lutheri</i>	CCAP	4,20 (0,23)
<i>Isochrysis aff. galbana</i>	Argenton	4,29 (0,48)
<i>Chaetoceros calcitrans forma pumilum</i>	CCAP	4,37 (0,31)

<i>Isochrysis galbana</i>	CCAP 1	4,51 (0,57)
<i>Isochrysis galbana</i>	CCAP 2	4,55 (0,28)
<i>Pavlova lutheri</i>	Argenton	4,55 (0,47)
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	CCAP	4,72 (0,26)
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	Argenton	5,13 (0,50)
<i>Chaetoceros muelleri</i>	CCAP	5,17 (0,19)
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Argenton	5,30 (0,56)
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Argenton	5,58 (0,56)
<i>Rhodomonas salina</i>	CCAP	7,19 (0,43)
<i>Tetraselmis striata</i>	USA 2000, Milford	7,35 (0,97)
<i>Rhodomonas salina</i>	Argenton	7,47 (1,13)
<i>Tetraselmis suecica</i>	CCAP	8,41 (0,52)
<i>Tetraselmis suecica</i>	Argenton	8,56 (0,98)
<i>Tetraselmis chui</i>	USA 2000 (Milford)	8,64 (1,14)

Dans nos conditions standards les microalgues fourrage sont généralement distribuées aux larves entre le 4^{ème} et 6^{ème} jour. De ce fait, les performances de croissance des différentes espèces phytoplanctoniques ont été représentées au 5^{ème} jour (Fig. 10).

La figure 10 fait apparaître clairement la différence entre les performances de croissance entre diatomées particulièrement productives et les flagellés.

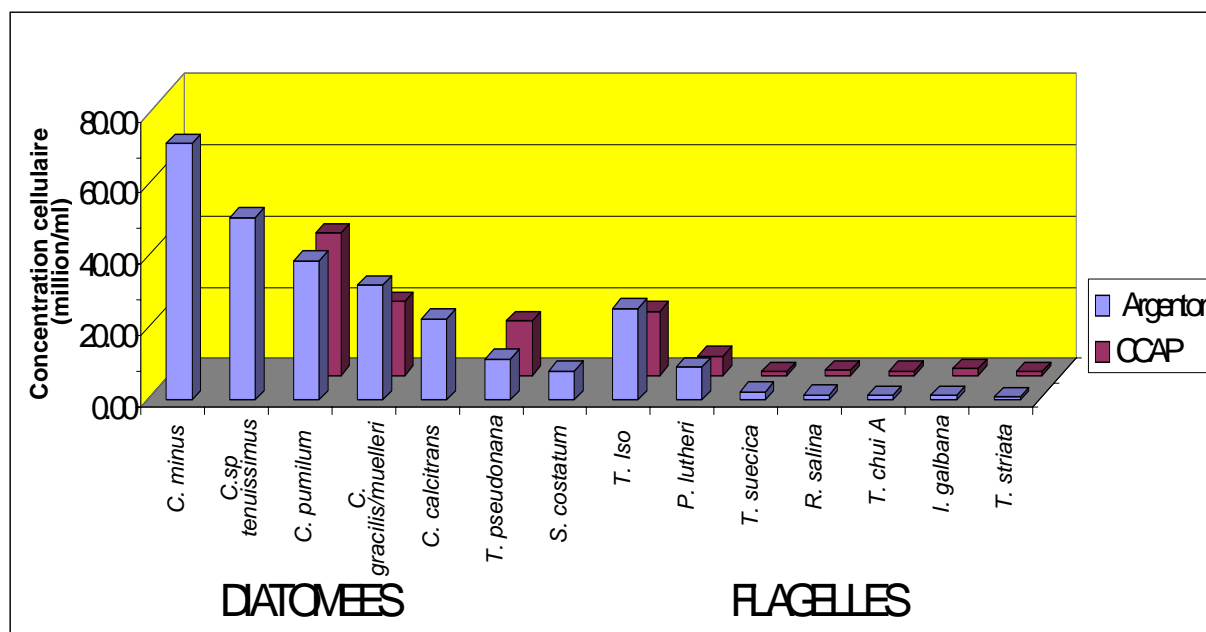


Fig. 10 : Performance de croissance au 5^{ème} jour de culture de microalgues fourrage originaire du souchier d'Argenton ou du CCAP et cultivées en milieu contrôlé en ballons de 2L.

Avec des concentrations moyennes de 70 millions de cellules.ml⁻¹, la petite diatomée *C. sp. 'minus'* se distingue par sa très forte croissance. Les deux autres diatomées de petites tailles présentent également de bonnes performances, comprises entre 40 et 50 millions de cellules.ml⁻¹ (Fig. 10). Avec une concentration de 30 millions de cellules.ml⁻¹ *C. gracilis* apparaît la plus adaptée des *Chaetoceros* de « grande » taille à nos conditions, *C. muelleri* et *C. calcitrans* présentant des développements similaires avec 20 millions de cellules.ml⁻¹, soit

environ deux à trois fois moins que les diatomées de petite taille (Fig. 10). Avec 10 à 15 millions de cellules.ml⁻¹ *Thalassiosira pseudonana* est la moins performante des diatomées unicellulaires mais c'est cependant la diatomée en chaîne *Skeletonema costatum* qui présente les moins bonnes croissances avec 8 millions de cellules.ml⁻¹ (Fig. 10).

II. Caractérisation cytomorphologique de microalgues fourrage

**M.J. Chrétiennot Dinet,
Observatoire Océanologique de Banyuls,
UPMC/I.N.S.U./C.N.R.S., UMR 7621, Laboratoire
Arago, B.P. 44, F-66650 Banyuls –sur-Mer,**



Microscope électronique à transmission (Hitachi H7500), Observatoire Océanologique de Banyuls : photo M.J. Chrétiennot-Dinet.

2.1. Matériels et méthodes

Des cultures contenant des cellules vivantes et fixées (par le Lugol) ont été expédiées au Laboratoire Arago pour examen. Le matériel a été examiné dès réception et des photos ont été prises en microscopie photonique, dans la mesure du possible sur le vivant, soit à l'aide d'un microscope inversé OLYMPUS, soit avec un microscope droit ZEISS équipé d'un contraste de phase et raccordé à une caméra vidéo Sony. Les images digitalisées ont été obtenues par acquisition numérique grâce au logiciel CANOPUS. Les objectifs x 40 et x 100 ont été utilisés pour obtenir des grossissements aussi adéquats que possible. Des vidéos ont été prises à différents grossissements au magnétoscope ou en numérique pour rendre compte de la nage dans le cas de cellules mobiles.

Pour les observations en microscopie électronique à balayage, un microscope dit 'à effet de champ', autorisant une haute définition comparable à celle obtenue avec un microscopie électronique en transmission pour les grossissements utilisés (jusqu'à x 60 000), a été utilisé. Les espèces à paroi siliceuse, comme les diatomées, ont été filtrées sur membrane Nuclepore de porosité 0,8 ou 1 µm, rincées à l'eau distillée, séchées à l'air, montées sur un portoir et métallisées à l'or avant observation sur un MEB Hitachi S 4500. Lorsque les résultats n'ont pas été satisfaisants, un nettoyage aux acides des cellules s'est avéré nécessaire pour éliminer la matière organique qui pouvait masquer le détail de l'ornementation des soies. Pour ce faire, les cellules ont été centrifugées et un mélange d'acides nitrique fumant et sulfurique concentré a été ajouté au culot. L'ensemble a été chauffé doucement et mis à bouillir jusqu'à disparition des vapeurs jaunes indiquant la présence de matière organique. Les échantillons ont ensuite été rincés au moins à huit reprises après des centrifugations successives. Les cellules ont alors été filtrées comme précédemment sur membrane Nuclepore et observées au MEB.

Les autres espèces, plus fragiles, ont été centrifugées (à 1000 g pendant 10 minutes) après fixation par un mélange glutaraldéhyde/lugol, sur une lamelle Thermanox préalablement recouverte de Polylysine. Les lamelles ont ensuite été déshydratées à l'alcool, puis passées au point critique avant métallisation et observation au MEB. Les images ont été acquises en numérique.

En 2001 nous nous sommes intéressés aux espèces majeures du souchier d'Argenton avec (par ordre alphabétique) :

Chaetoceros calcitrans (Diatomophycée)

Isochrysis galbana (Prymnésiophycée)

T-iso (Prymnésiophycée)

Pavlova lutheri (Pavlovophycée)

Rhodomonas salina (Cryptophycée)

Tetraselmis chui (Prasinophycée)

Tetraselmis striata (Prasinophycée)

Tetraselmis suecica (Prasinophycée)

Thalassiosira pseudonana (Diatomophycée)

Compte tenu de son intérêt pour la nutrition des mollusques une étude spécifique a été réalisée en 2002 sur le genre *Chaetoceros*. Différentes souches de ce genre de petite diatomée planctonique et unicellulaire, de taille inférieure ou égale à 5 µm, ont été examinées en microscopie optique et électronique. Les résultats des analyses sont présentés dans ce rapport et permettent de différencier cinq espèces. Les cultures fournies ont d'abord été observées en microscopie optique et les cellules ont été photographiées en essayant de mettre en évidence le départ des soies, qui avec la taille du corps cellulaire et la longueur des soies, reste un premier caractère distinctif entre les différentes espèces. Les échantillons ont ensuite été préparés pour l'observation en microscopie électronique avec dans certains cas, nettoyage des

cellules à l'aide d'acides, afin de mettre en évidence le détail de l'ornementation des soies qui est considéré ici comme le caractère le plus discriminant entre les différentes espèces. La liste des espèces reçues est la suivante :

Chaetoceros calcitrans, souchier «Argenton»

Chaetoceros gracilis, souchier «Argenton»

Chaetoceros 'minus', isolée à Tahiti, souchier «Argenton»

Chaetoceros calcitrans forma pumilum, souchier «Argenton»

Chaetoceros sp. (*tenuissimus*-like) isolée à La Tremblade, souchier «Argenton»

Chaetoceros calcitrans forma pumilum, CCAP Collection

Chaetoceros mülleri, CCAP Collection

2.2. Résultats

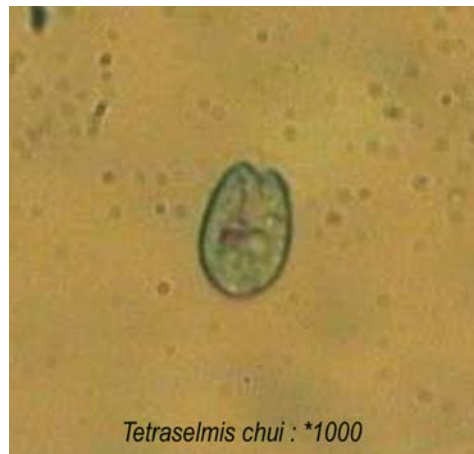
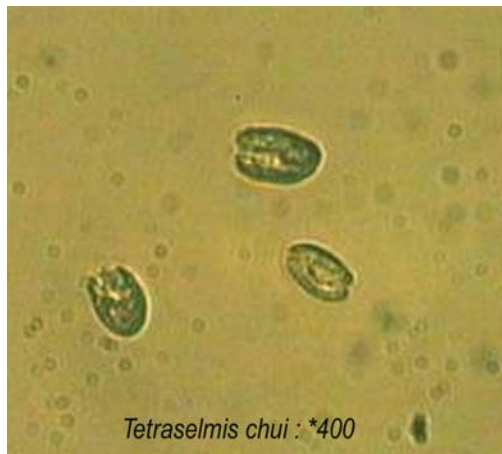
Nous donnerons ici quelques illustrations et caractéristiques morphologiques des espèces :

2.2.1. CLASSE DES PRASINOPHYCEAE

Genre *Tetraselmis* Stein, 1878

Tetraselmis chui Butcher, 1959.

Les cellules, de 10 à 12 μm , sont ovoïdes, de couleur verte, le plaste étant un peu granuleux, le stigma (point rouge sur la photo prise au grossissement x1000) est situé près du pyrénioïde. Les quatre flagelles (à peu près de la longueur de la cellule) ont été perdus à la fixation. D'après la littérature, des kystes peuvent se former après deux semaines de culture.



Tetraselmis striata Butcher, 1959.

Les cellules, de 6 à 8 microns, sont ellipsoïdes, comprimées latéralement, de couleur verte. Les quatre flagelles sont légèrement plus courts que le corps cellulaire. Le plaste est bi-lobé et possède un pyrénioïde et un stigma adjacent. Des granules réfringents se situent dans la partie antérieure du plaste.

Des kystes peuvent également se former après deux semaines de culture.



Tetraselmis striata : cellules vues dans deux positions différentes

Tetraselmis suecica, Butcher, 1959.

Les cellules, de 9 à 11 μm , sont ovoïdes, ont quatre flagelles, aussi longs ou légèrement plus courts que la cellule. Le plaste est vert, profondément lobé, à deux ou quatre lobes, le pyrénoïde est sub-basal et le stigma postérieur.



Si le genre est facile à reconnaître en microscopie optique par la forme, la taille et la nage des cellules, les trois espèces sont difficiles à distinguer entre elles.

Les cellules ayant une paroi lisse, la microscopie électronique à balayage n'apporterait pas d'information supplémentaire pour distinguer les espèces. D'autres caractères (chimiques par exemple) devraient permettre de les discriminer plus aisément.

2.2.2. CLASSE DES PRYMNESIOPHYCEAE Hibberd, 1976

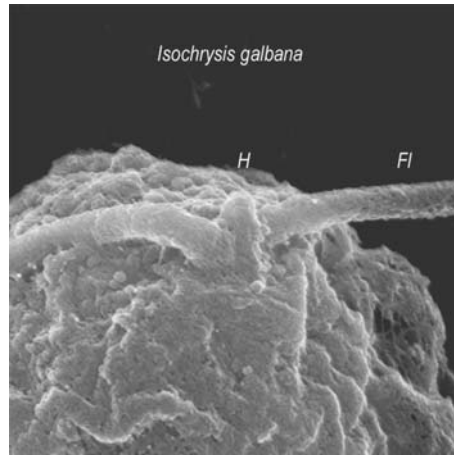
Genre **Isochrysis** Parke, 1949

Isochrysis galbana Parke, 1949

Cette espèce, de petite taille (2 à 5 µm), de couleur brune, est caractérisée par sa forme ovoïde, ses deux flagelles lisses et un haptonème très court –dit « vestigial ». Les cellules sont habituellement recouvertes de minuscules écailles organiques (0,2 à 0,4 µm) qui ont été, sur le matériel étudié, soit perdues, soit sont recouvertes de mucus.



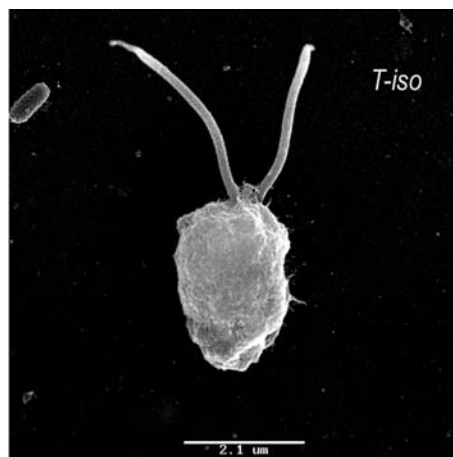
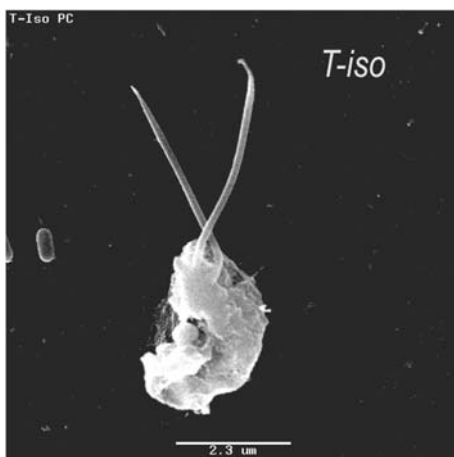
Vue antérieure



Détail de l'insertion des flagelles et de l'haptonème

T-iso = *Isochrysis* aff. *galbana*.

Cette espèce, isolée à Tahiti, d'où son nom *T-iso* pour « Tahiti-Isochrysis », correspondrait, d'après les informations que nous possédons, à une forme physiologique d'*Isochrysis galbana*. Ses caractéristiques morphologiques, en microscopie photonique aussi bien qu'en microscopie électronique ne permettent pas de les différencier. Il faut donc rechercher des critères chimiques ou moléculaires pour les distinguer.

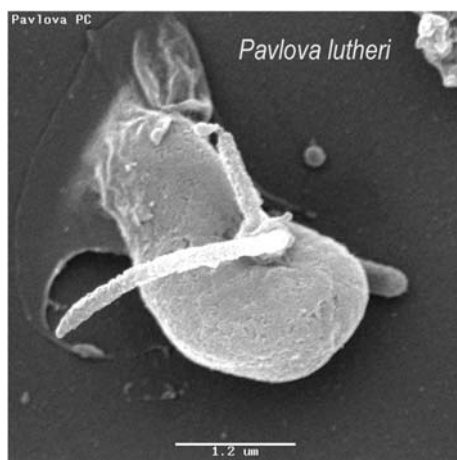


2.2.3. CLASSE DES PAVLOVOPHYCEAE (Cavalier-Smith) J.C. Green et Medlin, 2000

Genre **Pavlova** Butcher, 1952

Pavlova lutheri (Droop) Green, 1975

Le genre *Pavlova* a longtemps été inclus dans la classe des Prymnésiophycées en raison de la présence d'un haptonème. L'absence d'écailles organiques sur le corps cellulaire est un des caractères qui les différencient à l'heure actuelle. Les travaux de biologie moléculaire ont permis de montrer que les caractéristiques des *Pavlova* justifiaient la création d'une nouvelle classe. L'espèce *P. lutheri* a été l'une des premières à être utilisée en aquaculture sous le nom de *Monochrysis lutheri*.



Vue ventrale



Vue latérale

Les cellules, de petite taille (6 à 10 μm) sont aplaties et de forme plus ou moins triangulaire ou légèrement carrée en microscopie photonique. Les flagelles sont inégaux, le plus long étant pratiquement le seul visible en microscopie photonique car le flagelle le plus court et l'haptonème sont cachés par le corps cellulaire (cf. la vue ventrale). Par contre, en microscopie électronique, il est facilement décelable et la forme de la cellule est caractéristique, avec une insertion sub-apicale des flagelles et de l'haptonème.

L'insertion des flagelles et de l'haptonème dans l'axe longitudinal de la cellule, la longueur inégale des deux flagelles, l'absence d'écailles sur le corps cellulaire et la présence d'un haptonème court permettent, avec la forme générale de la cellule d'identifier sans équivoque *Pavlova* en microscopie électronique à balayage.

2.2.4. CLASSE DES CRYPTOPHYCEAE West et Fritsch, 1927

Genre **Rhodomonas** Karsten emend. Hill et Wetherbee, 1989

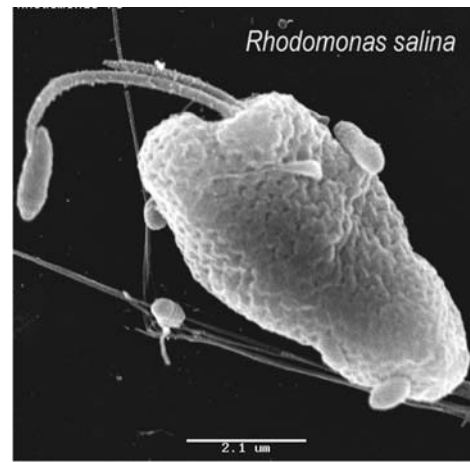
Rhodomonas salina (Wislouch) Hill et Wetherbee, 1989

Cette espèce, de relativement grande taille (8 à 16 μm d'après la description originale) est de forme ovoïde et possède une partie antérieure légèrement rostrée. Les flagelles, insérés en

position sub-apicale, sont plus courts que le corps cellulaire. Ils sont souvent incurvés vers la partie dorsale (cf. photo)



Vue latéro-ventrale



Vue latérale

Le périplaste est composé de petites plaques caractéristiques du genre. Dans la zone d'insertion des flagelles, on note un sillon étroit et court.

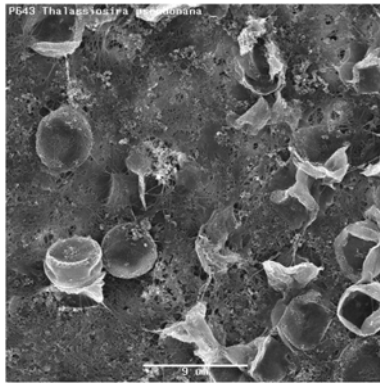
Il faut signaler que le statut du genre *Rhodomonas* est discuté à l'heure actuelle. La diagnose proposée par Hill et Wetherbee est remise en cause par Novarino, qui considère, avec Santore, que le genre *Pyrenomonas*, basé sur des observations en microscopie électronique, lève toute ambiguïté par rapport aux descriptions anciennes faites en microscopie photonique.

Quoi qu'il en soit, il faudra comparer cette espèce à la souche de collection référencée.

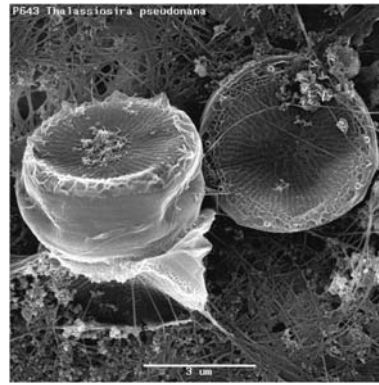
2.2.5. CLASSE DES BACILLARIOPHYCEAE Haeckel, 1878 emend. Round, Crawford et Mann, 1990.

Thalassiosira pseudonana Hasle et Heimdal, 1970

Cette petite diatomée centrique (à symétrie radiaire) est caractérisée par une ornementation du frustule visible seulement en microscopie électronique. L'abondance du matériel dans la culture entraînant la formation de très nombreux filaments de chitine a gêné l'observation. Toutefois l'identification est immédiate. Les cellules, de 3 à 5 μm de diamètre, possèdent un processus renforcé plus ou moins central, des processus renforcés marginaux ainsi que des nervures dichotomisées à la surface de la valve



Ensemble de cellules

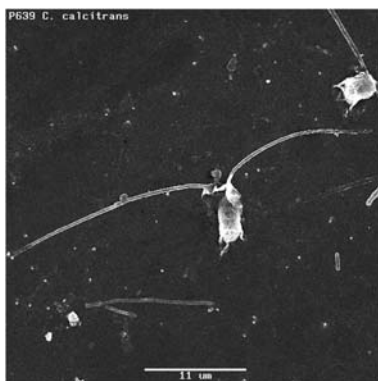


Détail de l'ornementation

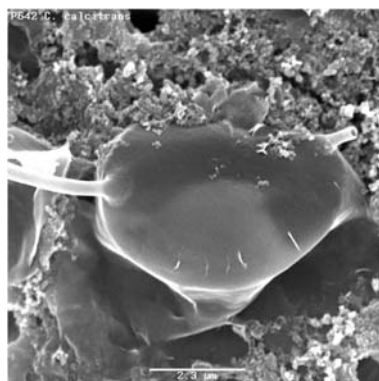
Genre *Chaetoceros* Ehrenberg, 1844

Chaetoceros calcitrans (Paulsen) Takano, 1968

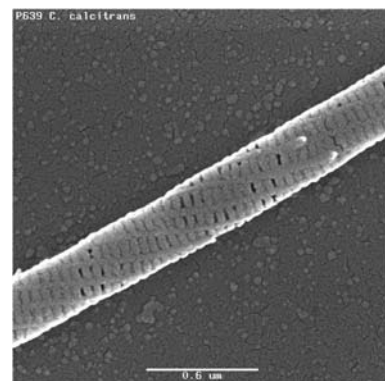
Les cellules étant petites (5 à 10 μm) et les détails peu visibles en microscopie optique, nous avons procédé à un examen en microscopie électronique à balayage. Le traitement en culture avec bullage semble avoir cassé les expansions latérales siliceuses (donc rigides) appelées « soies » de ce genre. Normalement une cellule possède quatre soies dont la longueur et l'ornementation varient selon les espèces.



Cellule 'in toto'



Détail de la valve



Détail d'une soie

On voit sur ces images que les cellules sont abîmées (soies cassées), que la valve présente très peu d'ornementations et que seules les soies montrent des détails caractéristiques. Dans ces conditions, il est difficile de caractériser valablement l'espèce et de nouvelles observations ont été faites sur des cellules en bon état, provenant de cultures non bullées.

De par son intérêt pour l'alimentation des larves de mollusques, un travail spécifique, basé sur l'insertion et l'ornementation des soies, a été réalisé sur ce genre qui est caractérisé par des cellules habituellement coloniales, à symétrie bilatérale et portant une paire de soies sur chaque valve. Il existe cependant un petit nombre d'espèces (sur les 180 à 400 attribuées au genre selon les auteurs) qui sont unicellulaires, solitaires et en général de petite taille.

La littérature actuelle fait état d'une dizaine d'espèces dont la délimitation est difficile en raison de leur petite taille et d'une description limitée le plus souvent à la microscopie optique. Les caractères de reconnaissance sont alors liés à la taille de la cellule, sa forme et à la longueur des soies ainsi qu'à leur angle d'insertion par rapport à l'axe apical de la cellule.

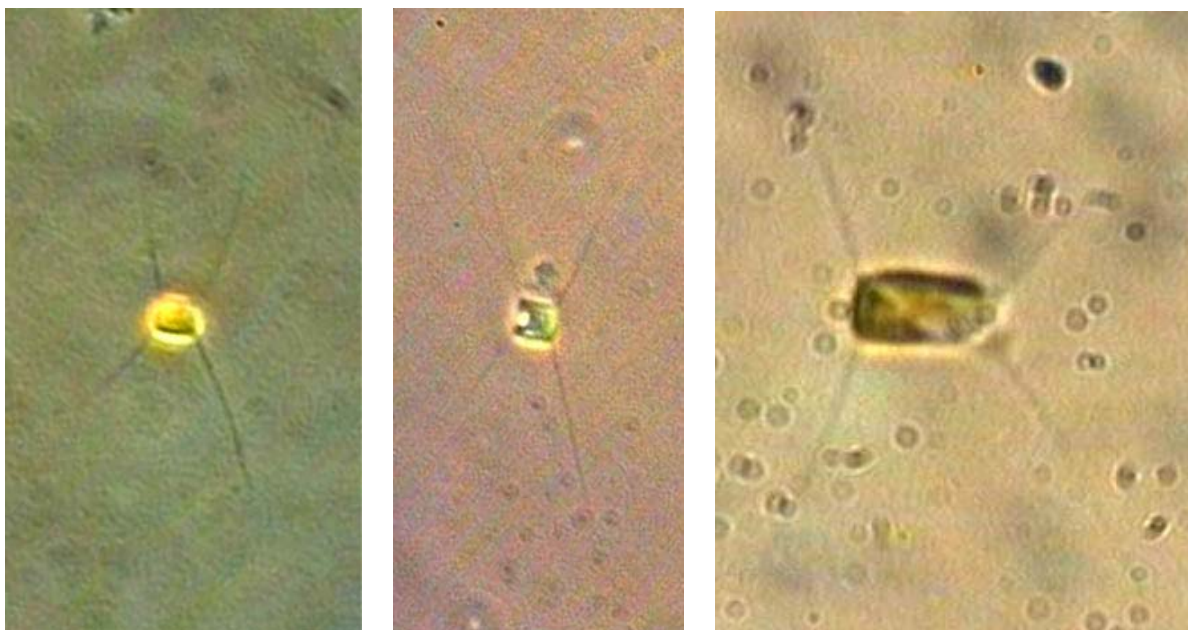
Les espèces unicellulaires répertoriées à ce jour sont les suivantes :

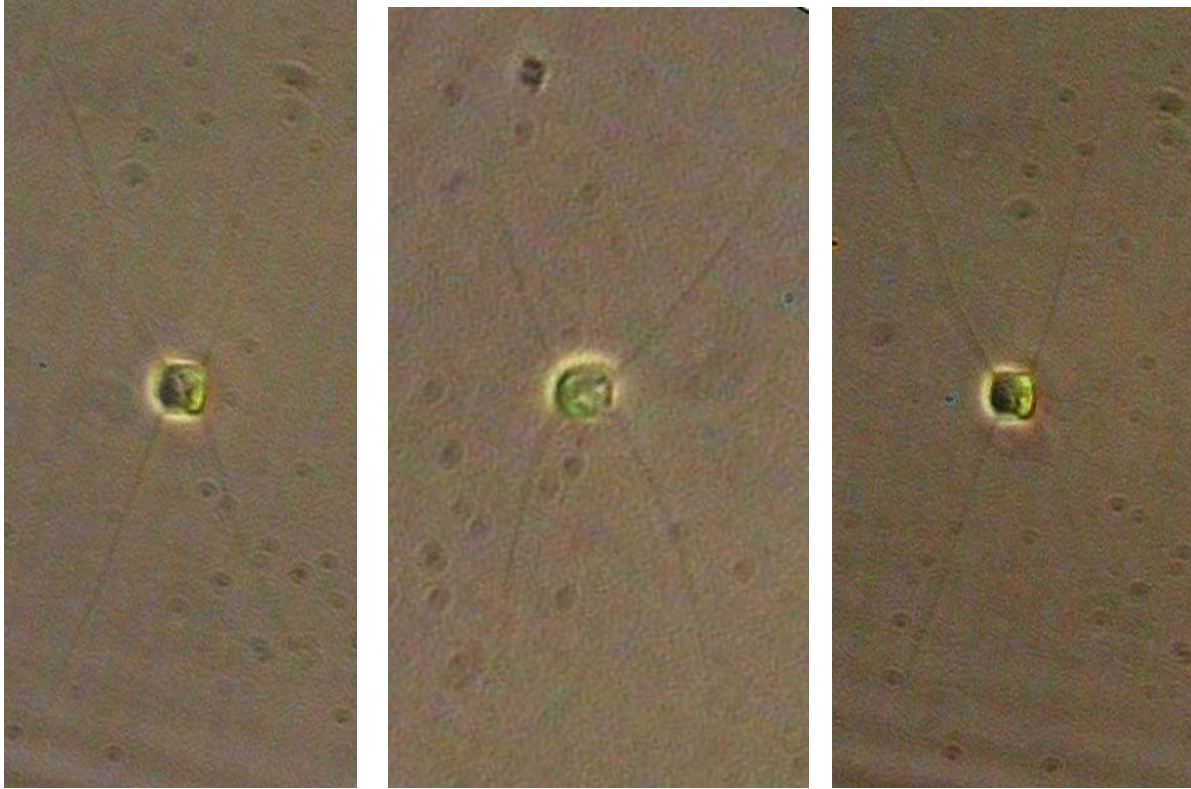
- C. gracilis* Schütt, 1895 (1)
- C. mülleri* Lemmermann, 1898 (4)
- C. simplex* Ostefeld, 1901 (1)
- C. simplex* var. *calcitrans* Paulsen, 1905 (2)
- C. ceratosporus* Ostefeld, 1910
- C. tenuissimus* Meunier, 1913
- C. galvestonensis** Collier et Murphy, 1962 (2,3)
- C. minutissimus* Makarova et Proschina-Lavrenko, 1964
- C. calcitrans* (Paulsen) f. *calcitrans* Takano, 1968 (1,2)
- C. calcitrans* (Paulsen) f. *pumilus** Takano, 1968 (2,3)
- C. minimus* (Levander) Marino, Giuffré, Montresor et Zingone, 1991 (4)
- C. throndsenii* (Marino, Montresor et Zingone) var. *throndsenii* Marino, Montresor et Zingone (4)
- C. throndsenii* (Marino, Montresor et Zingone) var. *trisetosus* Marino, Montresor et Zingone (4)

- (1) Selon Rines & Hargraves, (1988) et Hasle et Syvertsen (1996), les noms *C. simplex*, *C. gracilis* et *C. calcitrans* ont été appliqués sans discernement à n'importe quel petit *Chaetoceros* unicellulaire et par conséquent, ont peu de signification.
- (2) Selon Rines & Hargraves, (1988), cette espèce est synonyme de *C. tenuissimus* Meunier, 1913.
- (3) Selon Rines & Hargraves, (1988), cette espèce est décrite de façon non valide, car le type nomenclatural n'est pas désigné.
- (4) Espèce décrite aussi en microscopie électronique

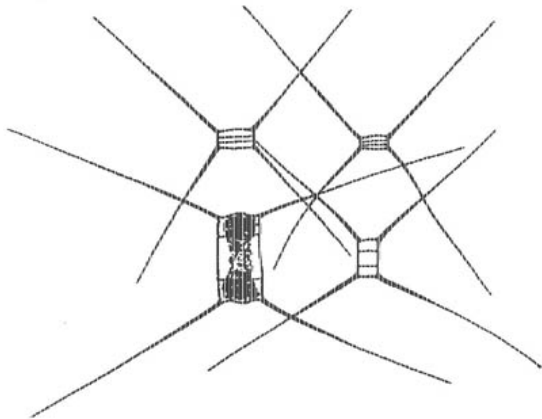
Examen en microscopie photonique

C. calcitrans : soucier «Argenton» (échantillons de janvier et juillet 2002). Bon état général des cultures. Les cellules sont carrées ou plus ou moins rectangulaires, de 5 à 10 µm selon l'allongement de la ceinture, les soies sont bien visibles et insérées de 15 à 35° par rapport à l'axe perivalvaire.



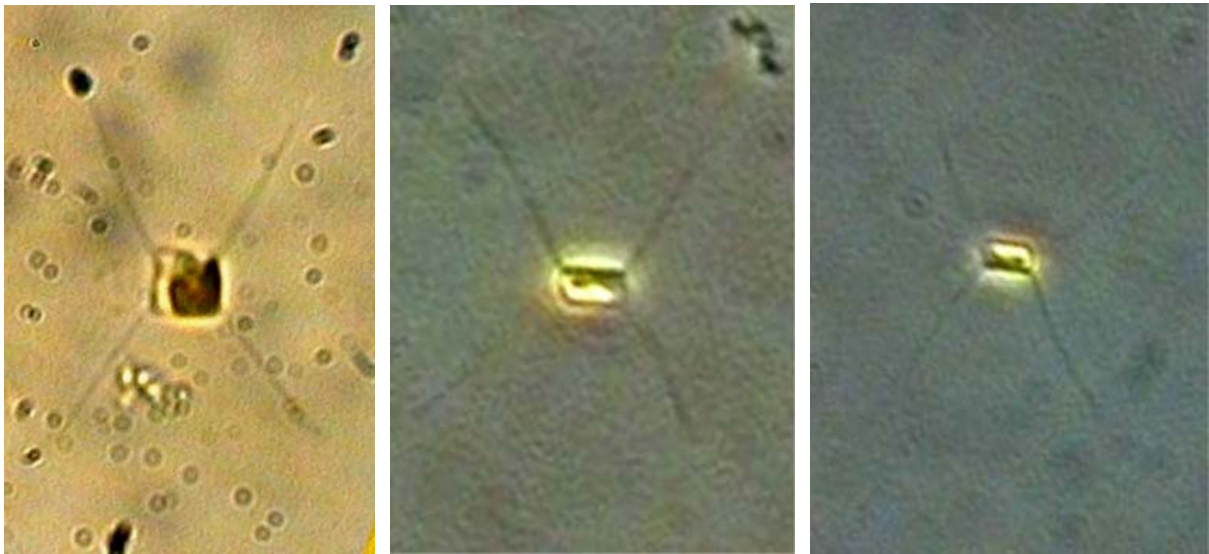


C. calcitrans : Cellules photographiées en contraste de phase pour mettre en évidence le départ des soies. Cette espèce correspond à une variété de *Chaetoceros simplex* dite *calcitrans* (illustrée ci-dessous d'après les dessins figurant in Hustedt, 1930) et a été élevée au rang d'espèce par Takano.

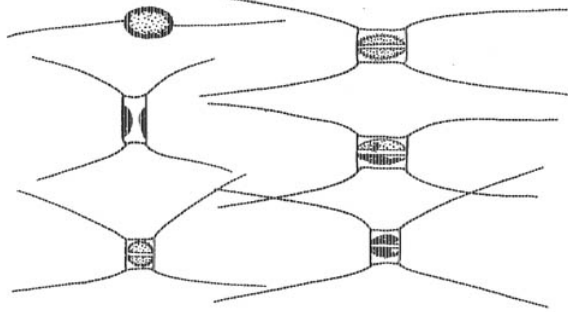


Dessin de *C. simplex* var. *calcitrans*, in Hustedt, 1930

C. gracilis : souchier Argenton (échantillons de janvier 2002) :

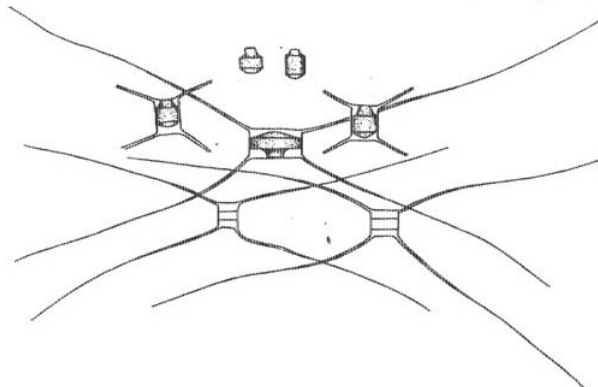


C. gracilis. Les cellules ont des soies d'environ 10 μm pour un corps cellulaire rectangulaire ou carré de 3-4 μm . L'angle des soies avec l'axe apical de la cellule est de 25 à 60° selon la soie considérée. La disposition des soies et la forme des cellules peuvent correspondre à la description de l'espèce.

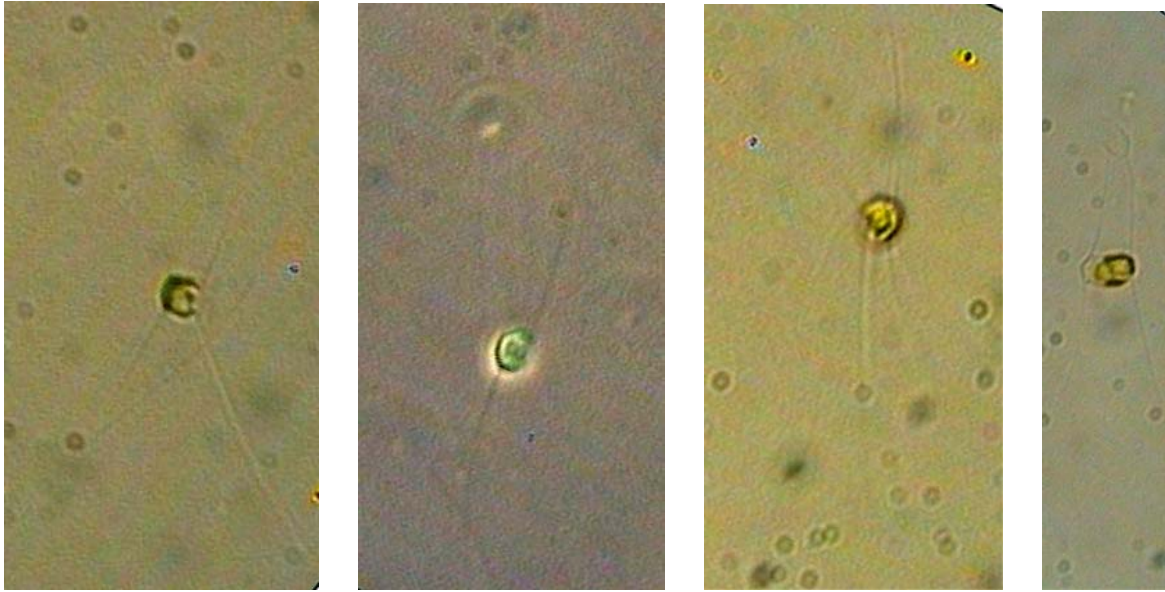


Dessin de *C. gracilis*, in Hustedt, 1930

C. mülleri : souchier CCAP. Les cellules sont carrées ou rectangulaires, les soies longues et insérées presque parallèlement à l'axe apical de la cellule.



Dessin de *Chaetoceros muelleri* in Hustedt, 1930

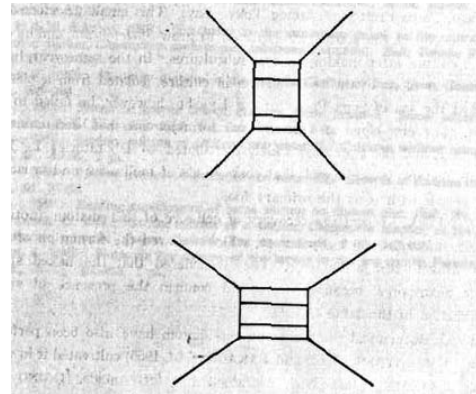


C. mülleri. Différentes cellules avec le départ des longues soies. L'angle de celles-ci par rapport à l'axe apical est de 15 à 20°. Ces cellules peuvent correspondre à la description de Meunier.

C. pumilum : souchier Argenton. Echantillon de juin 2001



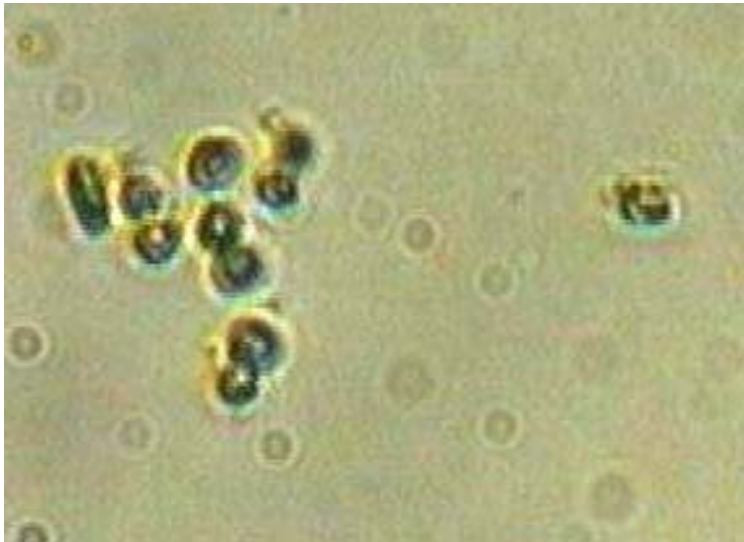
C. pumilum : groupe de cellules



Dessin de la variété *pumilum*
in Takano, 1968.

Cas des espèces non identifiées :

C. tenuissimus-like : souchier Argenton. Echantillon de juin 2001



C. tenuissimus-like : groupe de cellules dont les soies ne sont pas visibles

C. 'minus' : échantillon de mai 2002. Les cellules sont très petites et les soies courtes. Il y a peu de cellules dans la culture.



C. 'minus' : deux cellules isolées.



Cellule dont on devine le départ des soies

Il est très difficile, en microscopie optique, de faire la différence entre les trois dernières souches présentées ici (*C. pumilum*, *C. tenuissimus-like* et *C. 'minus'*) et l'examen de leurs soies en microscopie électronique est indispensable pour savoir si elles sont identiques ou non.

Examen en microscopie électronique à balayage

Les espèces suivantes ont donc été analysées au MEB :

Chaetoceros calcitrans : souchier « Argenton » (envoi du 01 06 2001)

Chaetoceros gracilis : souchier « Argenton » (envoi du 21 01 2002)

Chaetoceros mülleri : origine « CCAP » (envoi du 13 05 2002)

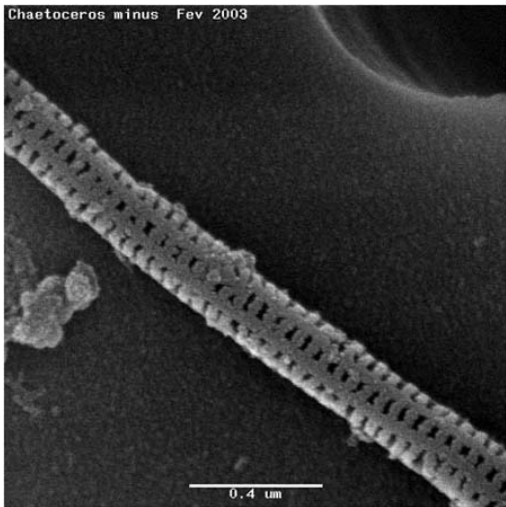
Chaetoceros 'pumilum' : souchier « Argenton » (envois du 22 01 02 et du 30 01 03)

Chaetoceros 'tenuissimus-like' : souchier « Argenton » (envoi du 30 01 2003)

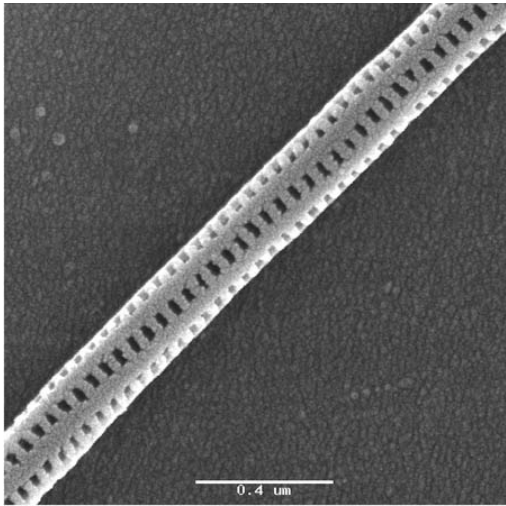
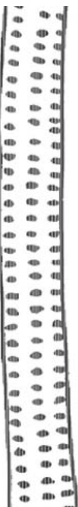
Chaetoceros 'minus' : souchier « Argenton » (envoi du 30 01 2003)

Le dessin des ornements des soies a ensuite été décalqué sur les micrographies à un grossissement de x 60 000.

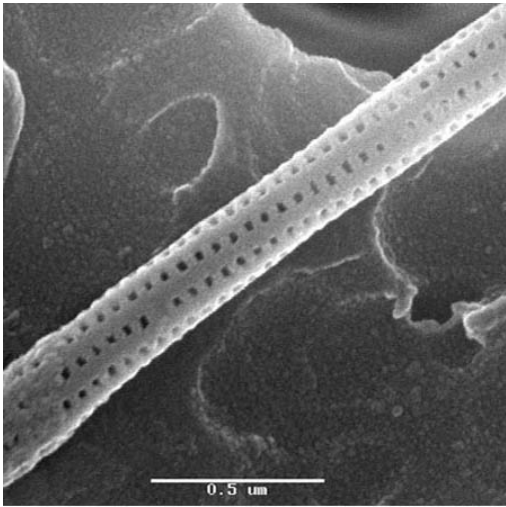
Comparaison entre les différentes espèces : cas des soies sans épines



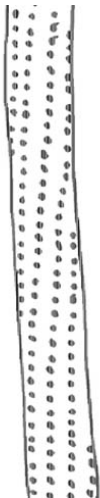
Chaetoceros 'minus'



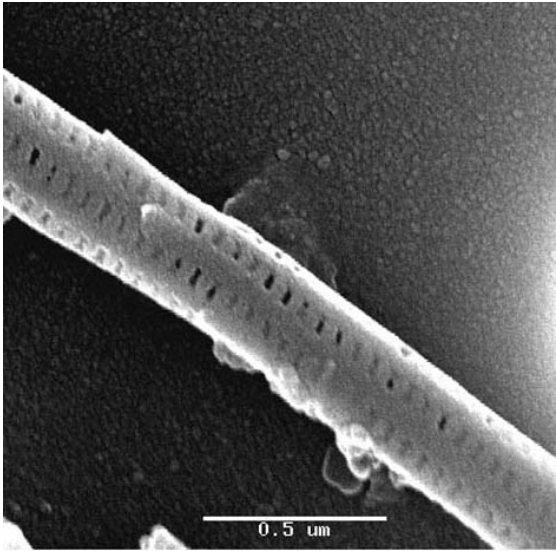
Chaetoceros 'tenuissimus-like'



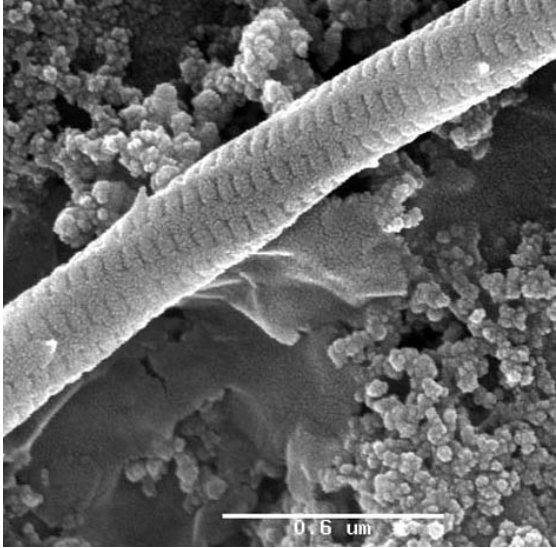
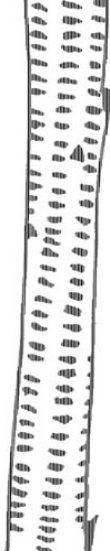
Chaetoceros 'pumilum'



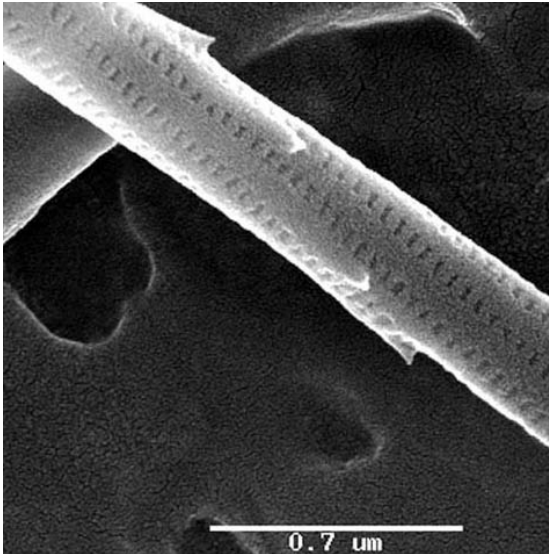
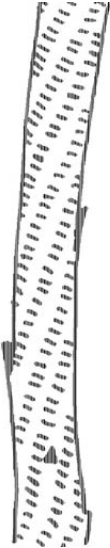
Comparaison entre les différentes espèces : cas des soies avec épines



Chaetoceros gracilis



Chaetoceros calcitrans



Chaetoceros mülleri





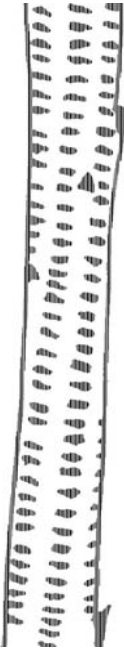
C. 'tenuissimus-like'



C. 'minus'



C. 'pumilum'



C. gracilis



C. calcitrans



C. mülleri

Il est possible de dresser un tableau résumant les principaux caractères discriminants entre les soies, établis d'après les photos de microscopie électronique (tableau 5).

Tableau 5 : comparatif de l'ornementation des soies des six souches de *Chaetoceros* analysées.

	<i>C. 'minus'</i>	<i>C. ten. like</i>	<i>C. pumilum</i>	<i>C. calcitrans</i>	<i>C. gracilis</i>	<i>C. mülleri</i>
Diamètre (µm)	0,20	0,22	0,23	0,28	0,30	0,33
Longueur (µm)	5	1,2 à 7,5	10 à 12	15-20	10	30-35
Epines	non	non	non	oui	oui	oui
Angle des stries (°)	<5	<5	5	15 à 20	10	5

En conclusion, il apparaît donc, d'après les photos des soies en microscopie électronique, que leur diamètre et leurs ornementations (présence d'épines ou non, angle de rotation des stries le long de la soie) permettent de distinguer les différentes souches, à l'exception de *C. 'minus'* et *C. tenuissimus-like* dont les caractéristiques semblent très proches.

Ces observations fines, faites en microscopie électronique à balayage, sont pour nous les premiers critères de reconnaissance valables entre les espèces de petite taille décrites jusqu'à présent uniquement d'après la microscopie optique. Elles devraient permettre d'établir l'existence d'espèces bien distinctes, en attendant confirmation par un séquençage d'ADN.

Pour les Prasinophycées, les différences morphologiques entre espèces sont difficiles à établir et la microscopie électronique à balayage n'apporterait pas d'informations utiles. Le recours à d'autres critères s'avère donc nécessaire pour différencier rapidement les souches. Pour les Prymnésiophycées, le microscope électronique s'avère efficace, mais les races physiologiques comme T-iso ne peuvent être différenciées par la morphologie. Là encore d'autres critères devront être utilisés.

III. Caractérisation biochimique des microalgues fourrage

J.R. Le Coz, C. Quéré, et J. Moal
Ifremer, LPI Brest



Chromatographes en phase gazeuse (Hewlett-Packard HP 7890 et Chrompack CP9002), Laboratoire Physiologie des Invertébrés de Brest : photo J.R. Le Coz.

3.1. Matériels et méthodes

Les algues sont des éléments importants de la chaîne alimentaire parce qu'elles apportent les acides gras polyinsaturés et le cholestérol que la plupart des animaux marins ont peu ou pas du tout la capacité de synthétiser (Trider et Castell, 1980; Teshima et Patterson, 1981; Holden et Patterson 1991; Soudant *et al.*, 2000). Acides gras et stérols doivent donc être fournis par l'alimentation.

L'analyse des phytostérols et acides gras présents dans les microalgues permet de caractériser certaines espèces. Les microalgues contiennent des stérols bien spécifiques dont certains sont caractéristiques de l'espèce (Patterson *et al.*, 1994; Barrett *et al.*, 1995). Pour certaines espèces, la composition peut évoluer suivant le stade de la culture (*Skeletonema costatum*, *Pavlova* sp.) mais les phytostérols restent les mêmes.

Les acides gras peuvent aussi caractériser les microalgues par leur répartition en pourcentage par rapport au total. (Volkman *et al.*, 1989). Certains acides gras peuvent également n'être représentés que dans certaines espèces.

Les stérols et acides gras ont été suivis au cours des cultures qui ont été menées à l'écloserie d'Argenton de microalgues. Des microalgues en provenance des collections de l'écloserie et du CCAP ont été cultivées et des prélèvements ont été réalisés, l'un en phase exponentielle et l'autre en phase stationnaire.

L'analyse des lipides pour la caractérisation des microalgues s'effectue selon le schéma suivant (Fig. 11) qui permet de séparer l'extrait lipidique en ses constituants neutre et polaire et d'analyser dans chacune des fractions les acides gras et les stérols.

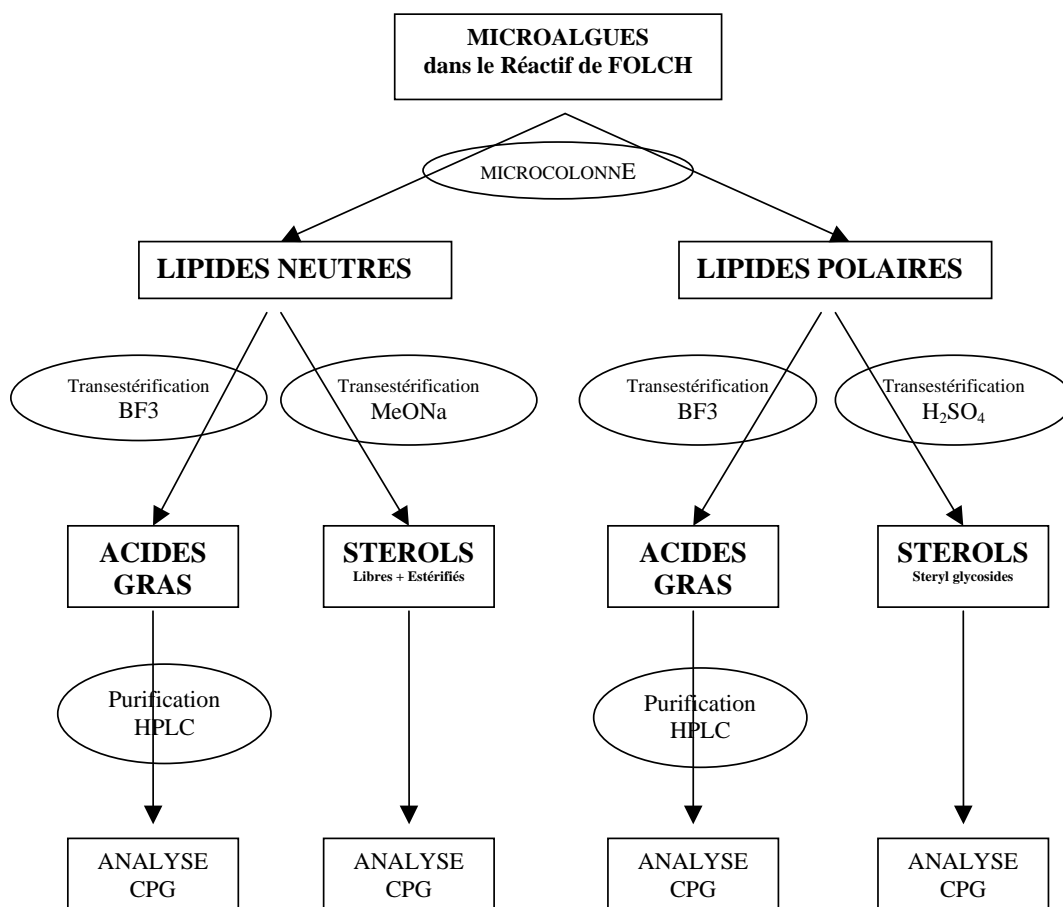


Fig 11 : schéma d'analyse des lipides dans les microalgues.

Les **microalgues** (100 à 800 millions de cellules suivant l'espèce) sont filtrées sur un filtre Whatman GFF (0,7 µm) préalablement brûlé à 450°C pour éliminer la matière organique. Celui-ci est ensuite mis dans 6 ml de réactif de Folch (Folch *et al.*, 1957) (Chloroforme/Méthanol 2:1), extrait 10 minutes dans une cuve à ultra sons et conservé au congélateur à -20° sous azote pour analyse ultérieure.

La séparation des lipides neutres et polaires se fait sur une micro colonne de silice (Si100) dans une pipette Pasteur. Une aliquote de l'échantillon est évaporée à sec, reprise par trois fois 500 µl de Chloroforme/Méthanol 98:2 et déposée en tête de colonne. Les lipides neutres sont élués par 10 ml de mélange CHCL₃/MeOH 98:2 et les polaires par 15 ml de MeOH.

Dans chacune des fractions sont rajoutés 2,3 µg de C23:0 comme étalon interne des acides gras et 2,3 µg de cholestane comme étalon interne des stérols.

Les fractions neutres et polaires sont scindées en deux parties pour l'analyse des acides gras et des stérols.

Pour chacune de ces fractions, une transestérification est réalisée afin de transformer les lipides complexes, type triglycérides, phospholipides, esters de stérols, cires, steryl glycosides, en stérols libres et esters méthyliques d'acides gras. Différents types de transestérification ont été appliqués pour prendre en compte la stabilité chimique des liaisons impliquées dans les différents lipides complexes et conserver l'intégrité des molécules à analyser.

Acides gras :

Pour les lipides neutres et polaires, on réalise une transestérification acide au BF₃ à 100°C, les esters méthyliques d'acides gras (EMAG) étant ensuite solubilisés dans de l'hexane (Marty, 1976). Une purification en HPLC est réalisée sur l'échantillon transestérifié afin d'éliminer l'insaponifiable qui pourrait perturber l'analyse.

Stérols :

Dans les lipides neutres on réalise une transestérification basique au méthoxyde de Sodium (MeONa) à froid, le BF₃ détruisant certains phytostérols, particulièrement le 24 méthylène cholestérol.

Dans les lipides polaires, il est nécessaire de faire une transméthylation acide plus douce à l'acide sulfurique à 50°C de façon à casser la liaison stérol-sucre des steryl glycosides.

Dans ces deux protocoles, les stérols libres ainsi obtenus sont solubilisés dans de l'hexane.

Il est possible, par HPLC de séparer, dans la fraction lipides neutres les stérols libres des esters de stérols mais dans les microalgues, ceux-ci ne représentant qu'une très faible quantité, n'ont pas fait l'objet d'une étude particulière. Les stérols des lipides neutres représentent donc la somme de ces deux fractions.

Analyse des Esters Méthyliques d'Acides Gras :

L'analyse se fait en Chromatographie en Phase gazeuse (CPG) sur une colonne DB wax (SGE) de 30 m sous gaz vecteur hydrogène avec un gradient de température de 60 à 250°C. Cette méthode permet de séparer 80 acides gras. L'injection se fait en automatique par la méthode « on column » et la détection par FID. Les acides gras sont calculés par rapport à l'étalon interne C23.

Analyse des stérols :

L'analyse se fait en CPG sur une colonne Restek RTX65 de 15 m sous gaz vecteur hydrogène avec un gradient de température de 60 à 280°C. Cette méthode permet de séparer 15 phytostérols. Ceux-ci ont été déterminés par spectrométrie de masse et sont identifiés par leur

temps de rétention. L'injection se fait automatiquement par la méthode « on column » et la détection par FID. Les stérols sont calculés par rapport à l'étalon interne cholestane.

Nomenclature :

Les acides gras sont nommés en utilisant le nombre de carbones, le nombre de doubles liaisons, l'emplacement de la première double liaison comptée à partir du méthyle terminal. Ainsi, 22 :6 (n-3) est un acide gras à 22 carbones avec 6 doubles liaisons, la première étant à 3 carbones du méthyle terminal.

On distingue dans les insaturés plusieurs acides gras essentiels pour la croissance et la reproduction des mollusques :

22 :6 (n-3) = DHA, acide docosahexanoïque

20 :5 (n-3) = EPA, acide eicosapentanoïque

20 :4 (n-6) = ARA, acide arachidonique.

Les stérols sont nommés par leurs noms simplifiés suivant le tableau :

Stérol nomenclature (nom courant et nom systématique)

1: Norcholesterol = 22-trans-24-5,22-dien-3 β -ol;

2: c-dehydrocholesterol = 22-cis-cholesta-5,22dien-3 β -ol;

3: t-dehydrocholesterol = 22-trans-cholesta-5,22dien-3 β -ol;

4: Dihydrocholesterol = Cholesta-3 β -ol;

5: Cholesterol = Cholesta-5-en-3 β -ol;

6: Brassicasterol = 24 β -methylcholesta-5, 22-dien-3 β -ol;

7: desmosterol = Cholesta-5, 24dien-3 β -ol;

8: Campesterol = 24 α -methylcholesta-5-en-3 β -ol;

9: 24-methylenecholesterol = 24 β -methylenecholesta-5, 24(28)- dien-3 β -ol;

10: Stigmasterol = 24 β -ethylcholesta-5, 22-dien-3 β -ol;

11: 4 α -methyl poriferasterol= 4- α -methyl-24- α -ethylcholesta-22-en-3 β -ol;

12: β -sitosterol = 24 β -ethylcholesta-5-en-3 β -ol;

13: Fucosterol = 24 β -ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 β -ol;

14 : Methylpavlovol : 4 α , 24 β -dimethylcholestan-3 β , 4 β -diol;

15 : Ethylpavlovol : 4 α -methyl-24 β -ethylcholestan-3 β , 4 β -diol;

De plus, a été rajouté pour cette étude, l'isofucostérol qui se différencie du fucostérol par un temps de rétention différent mais qui présente un spectre de masse identique avec le fragment caractéristique à 314 correspondant à un réarrangement de Mac Lafferty sur la double liaison en C24. Le fucostérol est identifié par le temps de rétention de celui du commerce (sigma F5379).

3.2. Résultats

3.2.1. Aspects qualitatifs de la composition

3.2.1.1. Stérols des diatomées

Les diatomées étudiées, *Chaetoceros calcitrans*, *C. gracilis*, *C. pumilum*, *C. tenuissimus like*, *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*, ont en commun (Fig. 12) du cholestérol et du 24 méthylène cholestérol. Par contre, les différentes souches de *Chaetoceros* contiennent du fucostérol ou de l'isofucostérol en grande quantité alors que *Skeletonema* et *Thalassiosira* contiennent du campestérol. Ce dernier se caractérise également par une grande quantité de 24 méthylène cholestérol. Toutes les *Chaetoceros* ont la particularité d'être très riches en cholestérol (30 à 50% du total des stérols).

Dans les diatomées, il n'y a pas (ou traces) de stérols dans la fraction lipides polaires (cf. annexe 6).

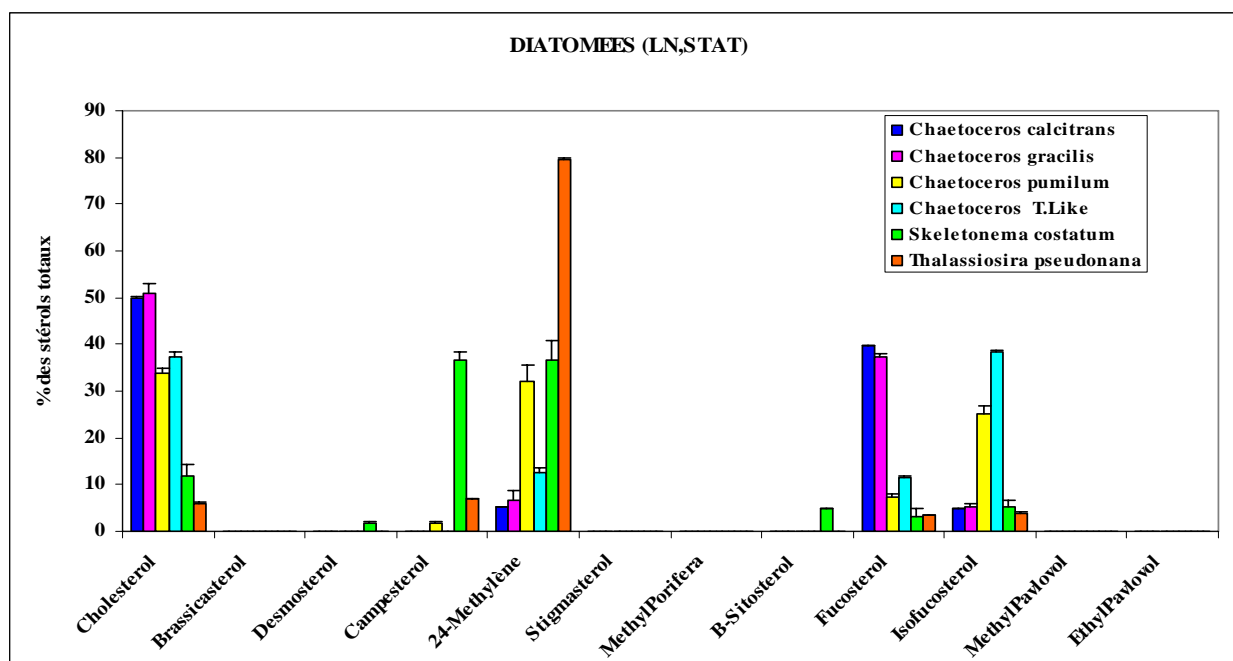


Fig. 12: Profil de stérols des diatomées (collection d'Argenton). Fraction lipides neutres, phase stationnaire.

Dans les *Chaetoceros* (Fig. 13) on peut distinguer deux groupes : *calcitrans* et *gracilis*, auquel peut s'adjoindre le *muelleri* de la collection CCAP qui contiennent du fucostérol et peu de 24 méthylène cholestérol (10% : Tsitsa-Tzardis *et al.*, 1993) et un second groupe : *pumilum*, *tenuissimus like* auquel on peut rajouter '*minus*' qui contiennent essentiellement de l'isofucostérol et plus de 24 méthylène cholestérol (20 à 50%). Ces deux groupes sont aussi caractérisés par la taille des cellules : le premier ayant un poids sec beaucoup plus grand que le second (25 à 30 pg cell⁻¹ contre 6 à 12 pg cell⁻¹). Les données détaillées de ces microalgues sont consignées en annexe 6.

Chaetoceros pumilum d'origine CCAP diffère de celui d'Argenton par un plus faible niveau de Cholestérol et un plus fort niveau de 24 méthylène cholestérol.

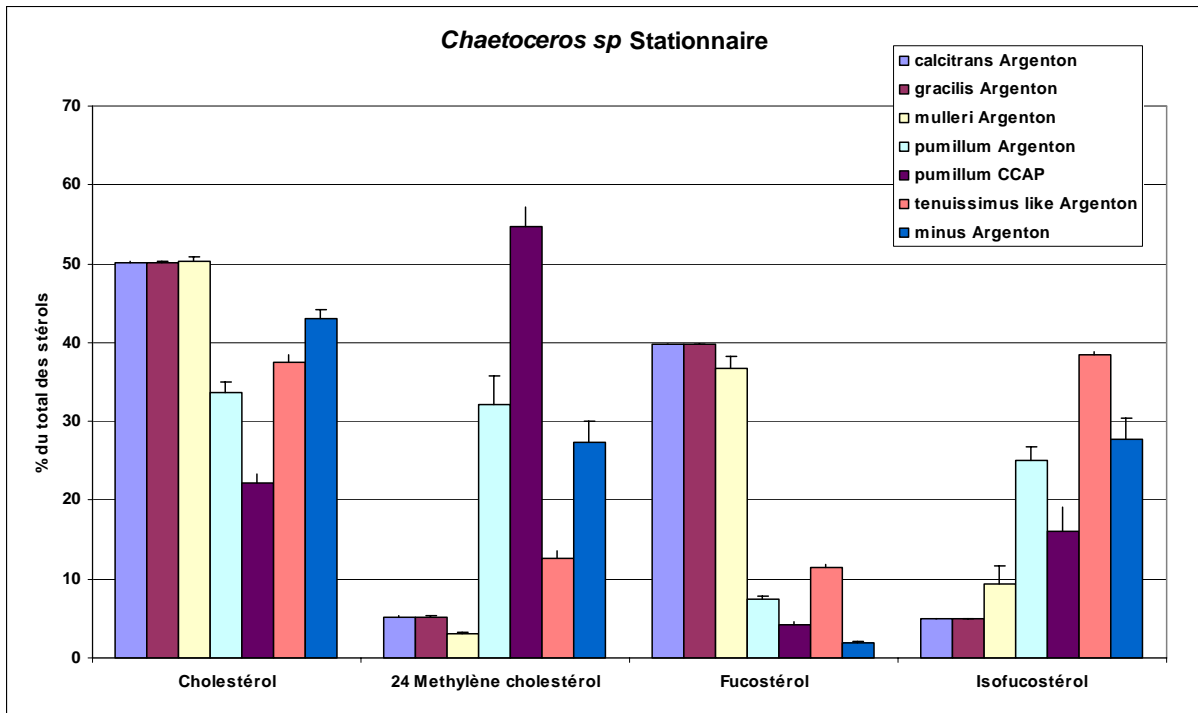


Fig. 13: Profil de stérols de différentes espèces de *Chaetoceros* (phase stationnaire).

Il y a également des différences entre les phases exponentielle et stationnaire (*cf.* annexe 6) en particulier au niveau du 24 méthylène cholestérol.

3.2.1.2. Acides gras des diatomées

La composition en acides gras (Fig. 14) des *Chaetoceros* est caractérisée par une grande quantité (15 à 20%) de 20 :5(n-3) (EPA) et peu de 22 :6(n-3) (DHA). Par contre, il est intéressant de remarquer (Fig. 15), la présence ou non de l'acide arachidonique (20 :4(n-6)) suivant l'espèce considérée. Comme pour le fucostérol, on peut identifier deux groupes qui présentent deux niveaux d'acide arachidonique. *Chaetoceros calcitrans* et *C. muelleri* en ont jusqu'à 3% alors que *C. pumillum* et *C. tenuissimus like* en sont quasiment dépourvues. *C. 'minus'* s'apparente plutôt au premier groupe et *C. gracilis* au second. Les autres acides gras abondants de *Chaetoceros* sont 14 :0, 16 :0, 16 :1(n-7) et 16 :3(n-4).

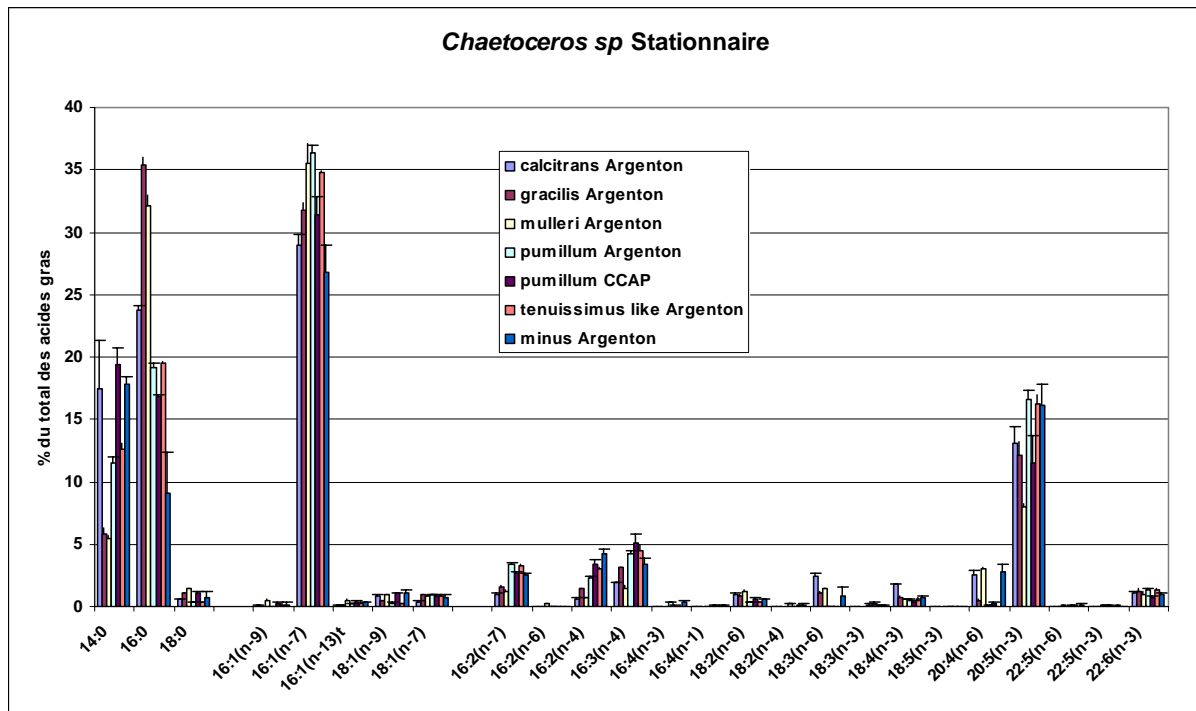


Fig. 14 : Profil d'acides gras des différentes espèces de *Chaetoceros* (lipides totaux, phase stationnaire).

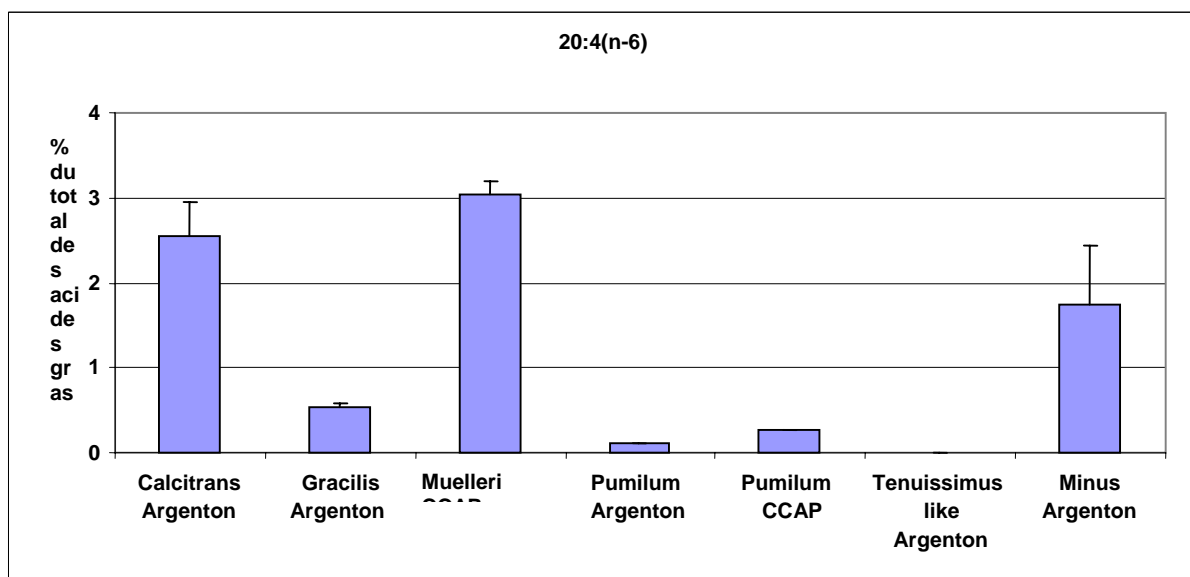


Fig. 15 : Pourcentage d'acide arachidonique dans les *Chaetoceros* (lipides totaux, phase stationnaire).

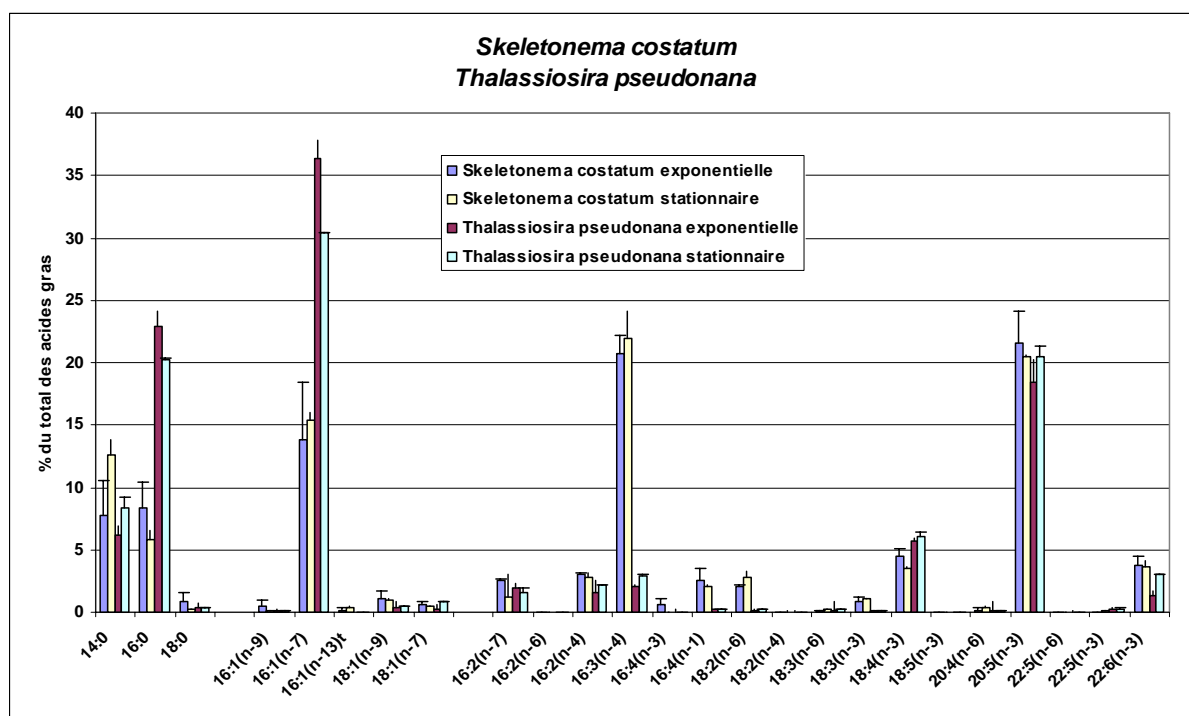


Fig. 16 : Profil d'acides gras (lipides totaux) de *Thalassiosira pseudonana* et *Skeletonema costatum* (Origine Argenton).

Thalassiosira pseudonana et *Skeletonema costatum* (Fig. 16) contiennent un haut niveau de EPA (20 :5(n-3)), un faible niveau de DHA (22 :6(n-3) et pas d'ARA (20 :4(n-6)). Ils se distinguent des *Chaetoceros* par une abondance plus marquée de 18 :4 (n-3). *Skeletonema* est aussi caractérisée par une grande proportion de 16 :3(n-4) et la relative abondance (3.5%) de 16 :4(n-1) qui se trouve peu ou pas dans les autres diatomées. Il y a peu de différences de profil entre les phases exponentielle et stationnaire. Les autres acides gras importants sont 14 :0, 16 :0, 16 :1(n-7).

3.2.1.3. Stérols des flagellés

En ce qui concerne les flagellés, on peut distinguer plusieurs groupes (Fig. 17) : *Tetraselmis striata*, *T. suecica* et *T. chui* qui contiennent essentiellement du campestérol et du 24 méthylène cholestérol, *Isochrysis galbana*, *T. isochrysis* et *Rhodomonas salina* qui contiennent essentiellement du brassicastérol et *Pavlova lutheri* qui présente un profil particulier avec stigmastérol, méthylporiférasérol, β -sitosterol, méthyle et éthylpavlovol. Ces deux derniers stérols sont des diols qui ont été identifiés dans *Pavlova* (Gladu *et al.*, 1991; Volkman *et al.*, 1997).

Les *Isochrysis* se différencient de *Rhodomonas* par leur taille (10 à 40 pg.cell⁻¹ contre 150 à 250 pg.cell⁻¹). Par contre, la différence entre *T. isochrysis* et *Isochrysis galbana* se fait par la présence dans ce dernier d'alkénones (Patterson *et al.*, 1994) qui sont des cétones en C40 à 42 qui éluent dans le même chromatogramme que les stérols.

La différence entre les espèces de *Tetraselmis* est difficile à faire : seule *T.striata* se distingue par une inversion des pourcentages de 24 méthylène et de campestérol.

Dans tous ces flagellés, on peut remarquer l'absence ou la faible concentration du cholestérol. *Pavlova lutheri* se distingue également par l'abondance de stérols dans la fraction polaire (cf. annexe 6). Les résultats détaillés des flagellés sont donnés en annexe 6.

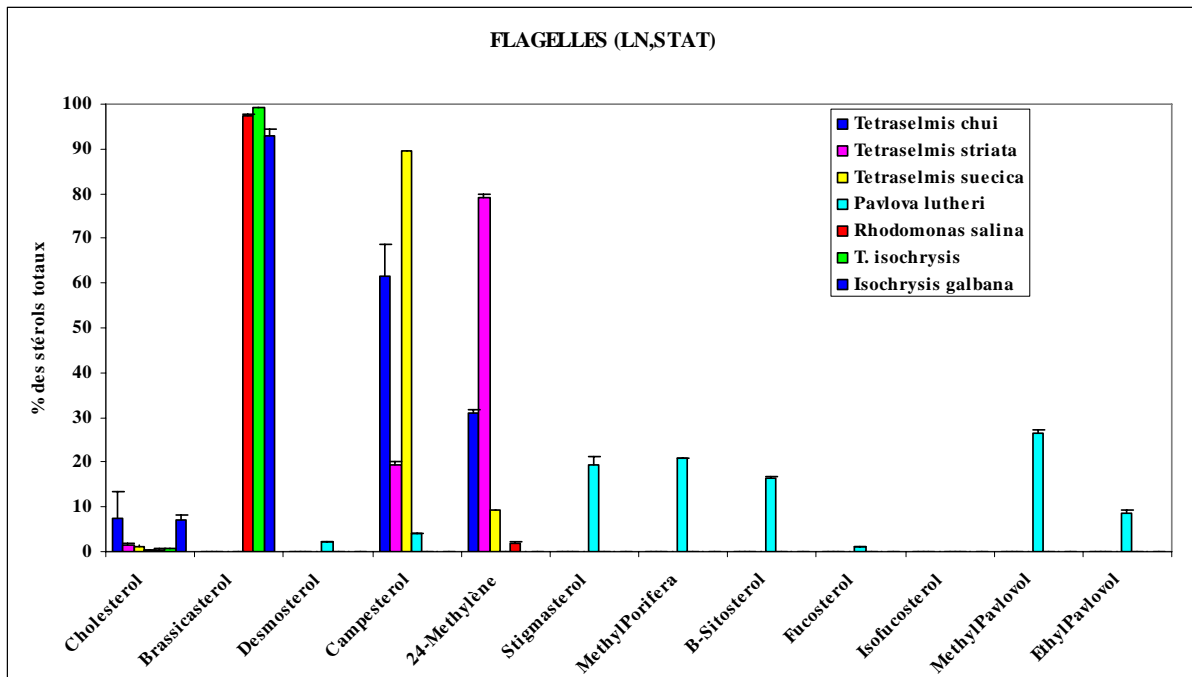


Fig. 17: Profil de stérols de différentes espèces de flagellés (origine Argenton : fraction lipides neutres, phase stationnaire).

3.2.1.4. Acides gras des flagellés

Tetraselmis (Fig. 18) est caractérisée par le 16 :0, le 16 :1 (n-9), le 16 :4 (n-3), le 18 :3(n-3) et dans une moindre proportion, l'EPA 20 :5(n-3). Par contre, il n'y a pas de différences vraiment significatives entre les différentes espèces. De même, entre les phases exponentielle et stationnaire de la culture, on ne voit pas de différences nettes. Le 18 :1 (n-9) est plus abondant en phase stationnaire au détriment du 18 :4(n-3).

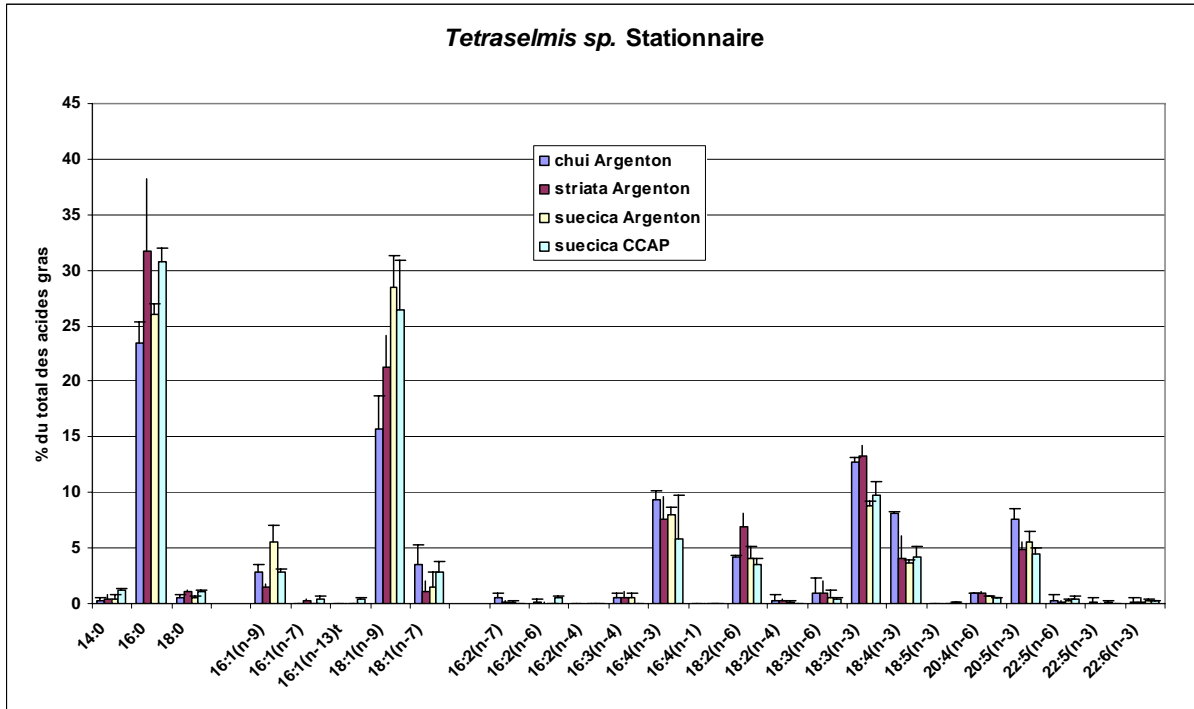


Fig. 18 : Profil d'acides gras des différentes espèces de *Tetraselmis* (lipides totaux).

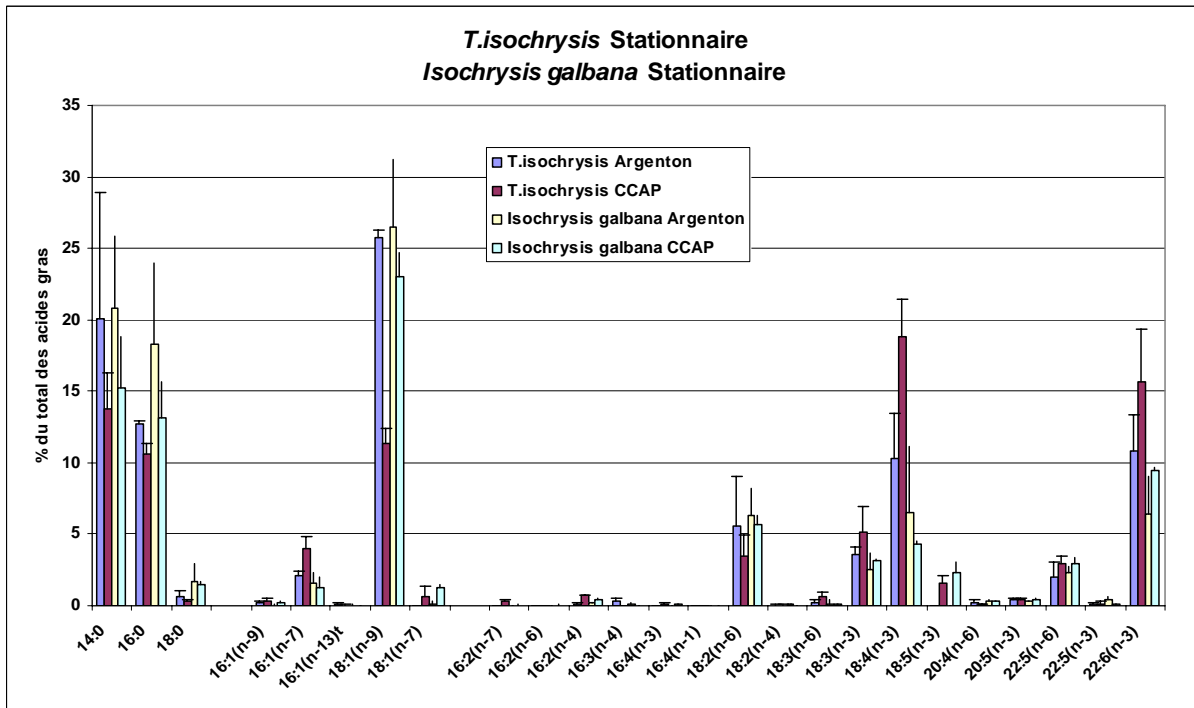


Fig. 19 : Profil d'acides gras des différentes espèces d'*Isochrysis* (lipides totaux).

Une comparaison (Fig. 19) des deux espèces d'*Isochrysis* (*Isochrysis galbana* et *T. isochoyris*) montre des abondances similaires des mêmes acides gras : 14 :0, 16 :0, 18 :1(n-9), 18 :2(n-6), 18 :3(n-3), 18 :4(n-3) et 22 :6(n-3)(DHA). Toutefois, les 18 :4(n-3) et 22 :6(n-3) semblent plus abondants dans *T. isochoyris* que dans *Isochrysis galbana* quelle que soit la provenance alors que cette dernière est plus riche en 16 :0, 18 :1(n-9) et 18 :2 (n-6). Les phases stationnaire et exponentielle sont identiques pour les deux algues.

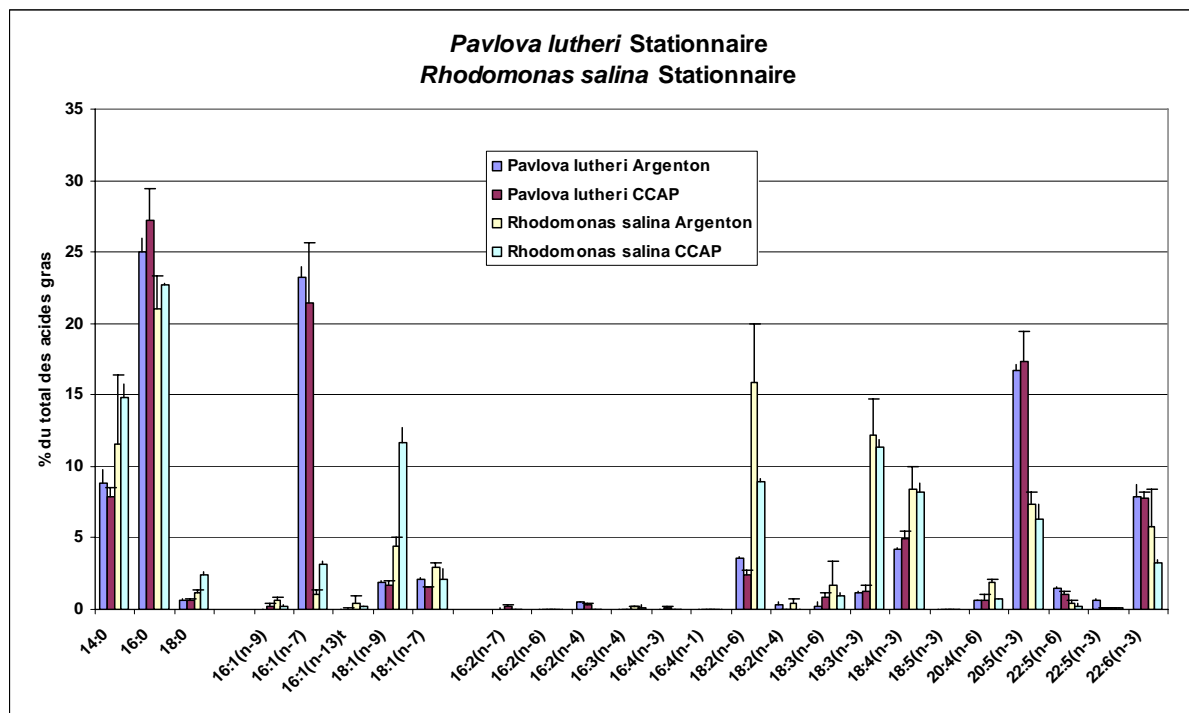


Fig. 20 : Profil d'acides gras de *Pavlova lutheri* et de *Rhodomonas salina* (lipides totaux).

Pavlova lutheri (Fig. 20) est caractérisée par un fort pourcentage de 16 :0, 16 :1(n-7), 20 :5(n-3) (EPA) et une relative abondance de 22 :6(n-3) (DHA). *Rhodomonas salina* présente une abondance de 16 :0, 18 :2(n-6), 1 :3(n-3), 18 :4(n-3), EPA et dans une moindre proportion DHA. Dans ces deux algues, EPA et DHA diminuent dans la phase stationnaire alors que l'on observe une augmentation des saturés 14 :0 et 16 :0.

3.2.1.5. Comparaison lipides neutres – lipides polaires

Dans l'analyse des stérols, excepté dans *Pavlova lutheri*, les stérols se trouvent essentiellement dans la fraction lipides neutres. En ce qui concerne *P. lutheri*, il y a beaucoup de stérols liés à des sucres qui éluent dans la fraction lipides polaires. Ceux ci peuvent représenter jusqu'à 50% des stérols. Qualitativement, on y trouve les mêmes phytostérols que dans la fraction neutre avec un plus grand pourcentage de méthyle et éthyle pavlovols (*cf.* annexe 6). Dans *Tetraselmis*, la fraction polaire représente également une part non négligeable mais variable d'une espèce à l'autre : 10 à 15% pour *T. chui* et *T. suecica*, 3 à 4% pour *T. striata*. Qualitativement ce sont les mêmes stérols que dans la fraction neutre : campestérol et 24 méthylène cholestérol.

Les **acides gras** se répartissent dans les fractions neutre et polaire mais dans des proportions différentes suivant la phase de la culture. Le calcul du pourcentage des acides gras provenant de la fraction lipides neutres dans le total des acides gras (neutres plus polaires) dans les différentes espèces de flagellés originaires d'Argenton, montre une augmentation des neutres dans la phase stationnaire excepté dans le cas d'*Isochrysis galbana* (tableau 6). La diminution n'est toutefois pas significative. Cette microalgue présente également un taux de lipides neutres important dans la phase exponentielle (Zhu *et al.*, 1997).

Tableau 6 : Pourcentage de lipides neutres (acides gras) des espèces de flagellés (origine Argenton).

	PHASE EXPONENTIELLE		PHASE STATIONNAIRE	
	MOYENNE	ECART TYPE	MOYENNE	ECART TYPE
<i>Pavlova lutheri</i>	41,9	4,6	67,9	0,1
<i>Rhodomonas salina</i>	41,4	2,4	73,1	5,6
<i>T. isochrysis</i>	55,4	3,6	72,8	1,3
<i>Isochrysis galbana</i>	86,0	6,5	80,1	0,1
<i>Tetraselmis chui</i>	23,6	1,6	31,8	5,4
<i>Tetraselmis striata</i>	29,7	8,3	63,4	0,9
<i>Tetraselmis suecica</i>	38,3	12,3	49,6	0,1

Comme dans les flagellés, la part de lipides neutres augmente au cours de la phase stationnaire dans toutes les espèces de *Chaetoceros* (tableau 7). Par contre, elle diminue dans *Skeletonema* ($p < 0.01$) et *Thalassiosira* (non significatif). Les lipides polaires, constitués essentiellement de phospholipides servent essentiellement à la constitution des membranes et sont donc normalement plus abondants dans des cellules en division. Par contre, les lipides neutres constituant des réserves sont accumulés par les cellules en phase stationnaire (Mansour *et al.*, 2003).

Tableau 7 : Pourcentage de lipides neutres (acides gras) des espèces de diatomées (origine Argenton).

	PHASE EXPONENTIELLE		PHASE STATIONNAIRE	
	MOYENNE	ECART TYPE	MOYENNE	ECART TYPE
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	72,4	4,1	80,3	1,3
<i>Chaetoceros gracilis</i>	62,7	2,4	70,7	2,3
<i>Chaetoceros tenuissimus like</i>	66,0	2,3	71,8	0,1
<i>Chaetoceros pumilum</i>	56,8	4,6	67,7	2,6
<i>Chaetoceros 'minus'</i>	23,7	4,8	61,4	7,8
<i>Skeletonema costatum</i>	83,1	2,8	70,9	2,2
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	80,8	11,9	74,5	0,1

3.2.2. Aspects quantitatifs de la composition

La quantité de stérols ou d'acides gras est très variable suivant l'espèce de microalgue et peut aussi constituer un moyen de discrimination. Les différentes valeurs trouvées pour les algues originaires d'Argenton ont été résumées dans les tableaux suivants (moyenne et écart type par cellule). Les écarts type peuvent être importants car ils intègrent deux cultures réalisées à des moments différents; les phases exponentielle et stationnaire ne correspondent pas toujours au même jour de la croissance entre les deux cultures.

3.2.2.1. Poids Sec

Le poids sec par cellule de *Rhodomonas salina* et des *Tetraselmis* est beaucoup plus important que celui des autres microalgues (tableau 8). Quelle que soit l'espèce de *Tetraselmis*, le poids par cellule est sensiblement identique et ne peut donc pas être un élément discriminant.

Dans les *Chaetoceros*, on trouve deux groupes, l'un constitué de *C. calcitrans* et *C. gracilis* pesant entre 25 et 30 pg et l'autre comprenant *C. tenuissimus like* et *C. calcitrans forma pumilum* avec un poids compris entre 10 et 15 pg. *Chaetoceros muelleri* (collection CCAP) est beaucoup plus lourd et *C. minus*, au contraire plus léger, particulièrement en phase exponentielle.

Isochrysis galbana semble également plus lourd que *T. isochrysis* ($p < 0.05$).

On n'observe pas de variations significatives de poids sec entre la phase exponentielle et la phase stationnaire (tableau 8).

Tableau 8 : Poids sec des différentes espèces de microalgues (pg par cellule).

	PHASE EXPONENTIELLE		PHASE STATIONNAIRE	
	MOYENNE	ECART TYPE	MOYENNE	ECART TYPE
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	29,4	4,9	29,1	7,2
<i>Chaetoceros gracilis</i>	25,6	0,7	23,0	4,2
<i>Chaetoceros muelleri</i>	45,8	4,3	39,3	4,8
<i>Chaetoceros tenuissimus like</i>	12,9	1,1	10,1	4,1
<i>Chaetoceros pumilum</i>	17,3	3,2	15,6	0,4
<i>Chaetoceros minus</i>	5,4	2,5	8,0	1,6
<i>Skeletonema costatum</i>	60,6	14,3	40,4	2,7
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	37,1	13,5	34,8	18,1
<i>Pavlova lutheri</i>	23,0	1,9	20,3	1,9
<i>Rhodomonas salina</i>	156,3	31,7	160,1	34,0
<i>T. isochrysis</i>	11,7	1,4	14,4	5,9
<i>Isochrysis galbana</i>	41,9	20,5	38,0	7,2
<i>Tetraselmis chui</i>	259,8	43	249,2	29,7
<i>Tetraselmis striata</i>	336,6	165,2	214,9	32,1
<i>Tetraselmis suecica</i>	273,7	42,3	322	20,7

3.2.2.2. Quantité d'acides gras

Les quantités d'acides gras (totaux : neutres + polaires) sont très variables suivant les espèces (tableau 9). De plus, pour la plupart des espèces, la quantité d'acides gras par cellule est plus importante dans la phase stationnaire que dans la phase exponentielle. Il y a également une très grande variabilité des pourcentages par rapport au poids sec, *Tetraselmis* étant particulièrement pauvre, surtout en phase exponentielle.

Tableau 9 : Quantités d'acides gras totaux (fg/cellule) des différentes espèces de microalgues originaire d'Argenton (+ *Chaetoceros muelleri* du CCAP).

Phase	Exponentielle			Stationnaire		
	Moyenne	Ecart	%du poids	Moyenne	Ecart	%du poids
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	2162,3	512,8	7,4	5123,3	930,9	17,6
<i>Chaetoceros gracilis</i>	2126,8	231,5	8,3	2521,0	41,3	11,0
<i>Chaetoceros tenuissimus like</i>	1061,1	151,5	8,2	1271,4	227,3	12,6
<i>Chaetoceros pumilum</i>	1049,0	153,4	6,1	1235,5	111,5	7,9
<i>Chaetoceros minus</i>	402,6	47,5	7,5	1159,1	124,7	14,5
<i>Chaetoceros muelleri</i>	1658,6	927,6	3,6	6795,7	1214,2	17,3
<i>Skeletonema costatum</i>	2727,2	880,3	4,5	2568,6	523,2	6,4
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	3028,9	950,2	8,2	7593,4	2231,8	21,8
<i>Pavlova lutheri</i>	2452,5	481,7	10,6	2672,7	636,6	13,2
<i>Rhodomonas salina</i>	5625,0	660,5	3,6	26081,7	13746,9	16,3
<i>Isochrysis galbana</i>	1545,0	459,3	3,7	2320,6	708,5	6,1
<i>T. isochrysis</i>	1390,2	556,3	11,9	1710,4	920,6	11,9
<i>Tetraselmis chui</i>	7584,2	4786,6	2,9	6946,5	1371,8	2,8
<i>Tetraselmis striata</i>	3420,2	1209,5	1,0	8410,6	5705,9	3,9
<i>Tetraselmis suecica</i>	5183,6	2197,8	1,9	11565,4	3134,1	3,6

3.2.2.3. Quantité de stérols

Les variations de concentration de stérols sont peu affectées par la phase de croissance, contrairement aux acides gras (tableau 10).

Tableau 10 : Quantités de stérols totaux (fg/cellule) des différentes espèces de microalgues originaires d'Argenton (+ *Chaetoceros muelleri* du CCAP).

Phase	Exponentielle			Stationnaire		
	Moyenne	Ecart	%du poids	Moyenne	Ecart	%du poids
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	128,3	16,2	0,4	112,7	3,8	0,4
<i>Chaetoceros gracilis</i>	110,6	17,0	0,4	103,4	13,2	0,5
<i>Chaetoceros tenuissimus like</i>	41,3	6,5	0,3	35,8	3,6	0,4
<i>Chaetoceros pumilum</i>	35,0	5,0	0,2	38,1	3,5	0,2
<i>Chaetoceros minus</i>	13,3	2,4	0,2	24,7	5,3	0,3
<i>Chaetoceros muelleri</i>	124,2	39,6	0,3	174,4	28,0	0,4
<i>Skeletonema costatum</i>	85,0	12,7	0,1	58,5	4,7	0,1
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	98,4	9,3	0,3	135,0	36,7	0,4
<i>Pavlova lutheri</i>	1358,2	903,0	5,9	806,2	57,6	4,0
<i>Rhodomonas salina</i>	354,7	132,1	0,2	434,3	194,0	0,3
<i>Isochrysis galbana</i>	32,6	10,2	0,1	33,9	0,6	0,1
<i>T. isochrysis</i>	58,0	16,3	0,5	83,7	7,7	0,6
<i>Tetraselmis chui</i>	473,6	311,6	0,2	299,9	99,8	0,1
<i>Tetraselmis striata</i>	423,8	222,1	0,1	265,8	158,3	0,1
<i>Tetraselmis suecica</i>	372,4	222,1	0,1	330,3	108,7	0,1

Les microalgues contiennent entre 0,1% et 0,5% du poids sec en stérols, avec cependant une exception pour *Pavlova lutheri* qui contient 5,9% en phase exponentielle et presque 4% en phase stationnaire, ces stérols contrairement aux autres algues étant répartis entre les fractions lipidiques neutres et polaires. *T. isochrysis* est beaucoup plus riche qu'*Isochrysis galbana* (tableau 10).

En conclusion on peut avancer que les mesures de stérol permettent d'identifier certaines microalgues comme *Pavlova lutheri* qui contient des phytostérols spécifiques (pavlovols). Pour les autres microalgues, seules les proportions des différents stérols peuvent être caractéristiques. La présence d'un phytostérol étranger à une espèce (brassicastérol dans *Pavlova lutheri*) a permis de relever une contamination de la culture par une autre Haptophycée (*Isochrysis galbana*) dès le départ de la culture. La forme du fucostérol permet de déterminer deux groupes de *Chaetoceros* correspondant aux petites et grosses espèces. La différence entre *Isochrysis galbana* et *T. isochrysis* se fait, non sur le phytostérol qui est identique mais sur la présence ou non dans la même analyse d'alkénones.

Les acides gras participent à cette caractérisation par les abondances relatives des plus représentatifs (14 :0, 16 :0, 16 :1(n-7), 18 :1(n-9), 18 :2(n-6), 18 :3(n-3), 18 :4(n-3), 20 :5(n-3), 22 :6(n-3)). Des acides gras présents en moindre quantité peuvent être caractéristiques : 16 :4(n-1) pour *Skeletonema costatum*, 20 :4(n-6) pour certains *Chaetoceros*.

Dans les acides gras, la séparation neutres et polaires n'apporte pas d'information particulière, les acides gras dans ces deux classes étant les mêmes.

Les informations quantitatives, poids sec, stérols totaux et acides gras totaux peuvent permettre de différencier certaines microalgues ayant des profils biochimiques semblables : *Rhodomonas salina* / *Isochrysis*.

On peut résumer dans le tableau 11 suivant les stérols et acides gras caractéristiques des différentes espèces.

Tableau 11 : Principaux stérols et acides gras des principales microalgues fourrage.

	Stérols caractéristiques	Acides gras	Remarques
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Cholestérol, fucostérol	20 :5(n-3),20 :4(n-6)	
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Cholestérol, fucostérol	20 :5(n-3),20 :4(n-6)	
<i>Chaetoceros muelleri</i>	Cholestérol, fucostérol	20 :5(n-3),20 :4(n-6)	
<i>Chaetoceros sp. tenuissimus like</i>	Cholestérol, isofucostérol	20 :5(n-3)	
<i>Chaetoceros pumilum</i>	Cholestérol, isofucostérol	20 :5(n-3)	
<i>Chaetoceros 'minus'</i>	Cholestérol, isofucostérol	20 :5(n-3),20 :4(n-6)	Poids très faible
<i>Skeletonema costatum</i>	24 méthylène (++)	16 :4(n-1)	
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	24 méthylène (+++)	16 :3(n-4)	
<i>Pavlova lutheri</i>	Stigmastérol, Methylporiféranol Bétasitostérol Méthyle et éthyle pavlovols	20 :5(n-3), 22 :6(n-3)	
<i>Rhodomonas salina</i>	Brassicastérol	20 :5(n-3), 22 :6(n-3)	Poids important
<i>T. isochrysis</i>	Brassicastérol	22 :6(n-3)	
<i>Isochrysis galbana</i>	Brassicastérol	22 :6(n-3)	Présence d'alkénones
<i>Tetraselmis chui</i>	Campestérol (+++), 24méthylène (++)	20 :5(n-3)	
<i>Tetraselmis striata</i>	Campestérol (++) 24 méthylène (+++)	20 :5(n-3)	
<i>Tetraselmis suecica</i>	Campestérol (+++), 24 méthylène (++)	20 :5(n-3)	

IV. Caractérisation cytofluorimétrique des microalgues fourrage

**V. Martin-Jézéquel et G. Le Gourrierc, LEMAR,
CNRS Brest**



Cytomètre en flux (FACS Vantage SE, Becton-Dickison), Observatoire Océanologique de Banyuls : photo M.J. Chrétiennot-Dinet.

4.1. Matériels et méthodes

Cette partie de l'étude consiste à caractériser en cytométrie en flux les principales microalgues fourrage, déterminées par leurs propriétés optiques endogènes (liées à la morphologie et à la biochimie des cellules). Les propriétés suivantes ont été analysées : le contenu pigmentaire par autofluorescence naturelle, le contenu cellulaire (dépendance matière organique/granulosité cellulaire) par indice de réfraction et la surface cellulaire (dépendance taille/morphologie) par indice de diffraction. Dans toutes les études antérieures (Olson *et al.*, 1989 ; Vaultot *et al.*, 1989 ; Carr *et al.*, 1996 ; Chrétiennot-Dinet *et al.*, 1991), et quel que soit le type de cytomètre (Holfstraat *et al.*, 1990, 1991) les cultures étaient analysées en phase exponentielle et les signatures reliées aux espèces. Ces travaux ne font pas état de l'éventuelle influence du stade physiologique des microalgues ni de la méthode de préservation des échantillons à analyser, sur la signature au cytomètre en flux. Or, ces données sont essentielles si l'on cherche à discriminer les signatures interspécifiques.

Les signatures en cytométrie en flux de onze espèces d'algues, originaires d'Argenton (Tableau 2) appartenant à trois classes différentes, dans différents stades physiologiques (phase de croissance exponentielle et stationnaire), issues de différentes cultures et soumises à deux protocoles de conservation distincts (fixation au glutaraldéhyde ou au paraformaldéhyde) sont rapportées dans le présent chapitre.

Des prélèvements réguliers ont été effectués en phase exponentielle (4^{ème} jour après inoculation pour les diatomées et 7^{ème} jour pour les flagellés) et en phase stationnaire (7^{ème} jour pour les diatomées et 10^{ème} jour pour les flagellés). Chacun de ces échantillons était dupliqué : un duplicata était fixé au glutaraldéhyde et l'autre au paraformaldéhyde à des concentrations finales respectives de 0,1 et 1%, et enfin stocké à -80°C avant analyse.

Le cytomètre en flux utilisé ici est un cytomètre Becton FACScalibur. La cytométrie en flux est la seule technique qui permet de faire une analyse cellule par cellule, quantitative, multiparamétrique, à grande vitesse et avec une bonne sensibilité de détection. Elle permet de discriminer des sous-populations homogènes sur des critères de fluorescence et de morphologie. Le cytomètre en flux se compose de trois systèmes : un système fluidique, un système optique et un système informatique.

Le système fluidique : une chambre d'injection, dans laquelle s'emboîtent deux capillaires, sert à aligner les cellules en une « file indienne » extrêmement stable. Le principe repose sur l'accélération des fluides (fluide de gaine utilisé : Flow) par la forme conique de la buse. La vitesse de passage du liquide peut être ajustée : pour notre travail, celle-ci est réglée en haute vitesse et le débit est alors de 60 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$.

Le système optique : il permet une production et un recueil des signaux lumineux. Le système optique est composé de deux systèmes : une optique d'excitation qui comprend un laser et des lentilles et des prismes pour focaliser le faisceau laser. Ce faisceau monochromatique frappe la veine liquide. Lorsque la lumière heurte une particule, trois signaux sont alors susceptibles d'être produits, dont l'intensité varie selon les caractéristiques cellulaires (Fig. 21).

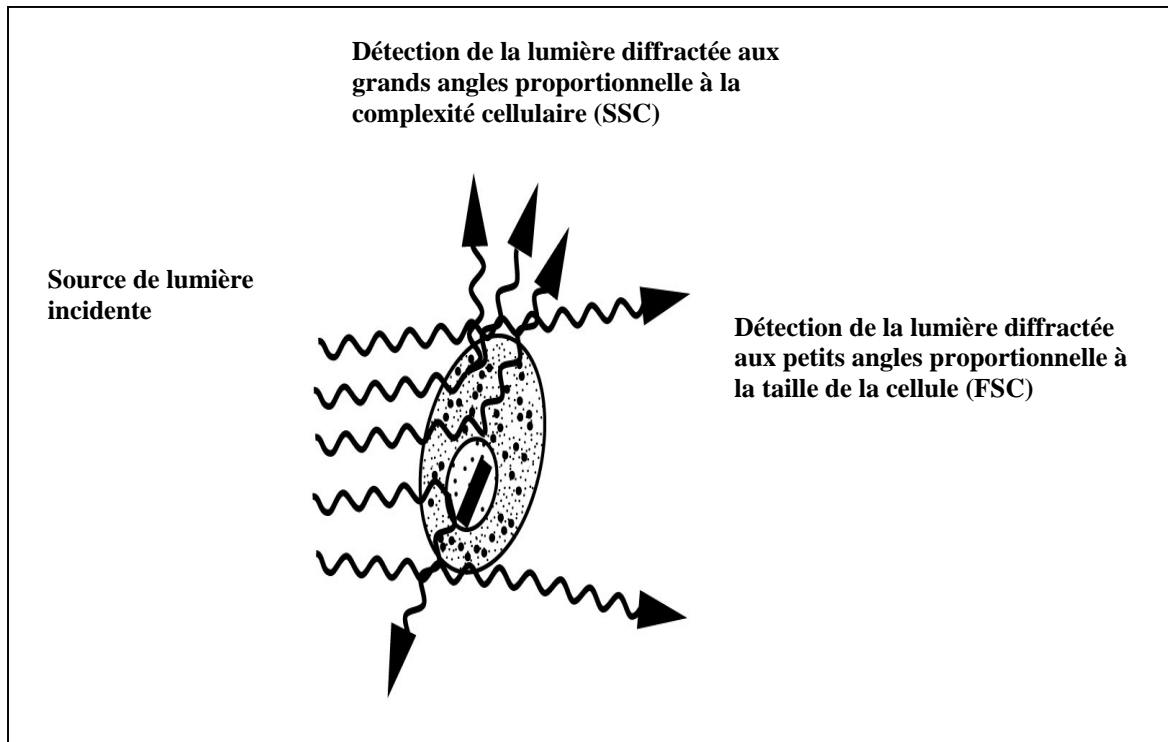


Figure 21 : Illustration de la trajectoire de la lumière qui frappe une particule et des signaux alors émis par celle-ci.

Forward Scatter (FSC) quand la lumière est diffractée aux petits angles. Cette dernière est proportionnelle à la taille de la cellule. Elle est détectée dans l'axe de la lumière incidente.

Side Scatter (SSC) quand la lumière est diffractée aux grands angles. Cette dernière est proportionnelle à la granulosité de la cellule, à sa complexité. Elle est détectée à 90° par rapport à l'axe de la lumière incidente.

Un troisième signal de fluorescence peut être obtenu. Il est proportionnel à la fluorescence (FL1, FL2, FL3).....l'intensité du FL3 étant proportionnelle à la fluorescence naturelle des pigments de la cellule.

Un deuxième système optique de réception est composé de miroirs et de filtres optiques capables de diriger les longueurs d'onde spécifiques sur les détecteurs correspondants (photodiode pour le FSC et photomultiplicateurs pour la détection du SSC et de la fluorescence : Fig. 22).

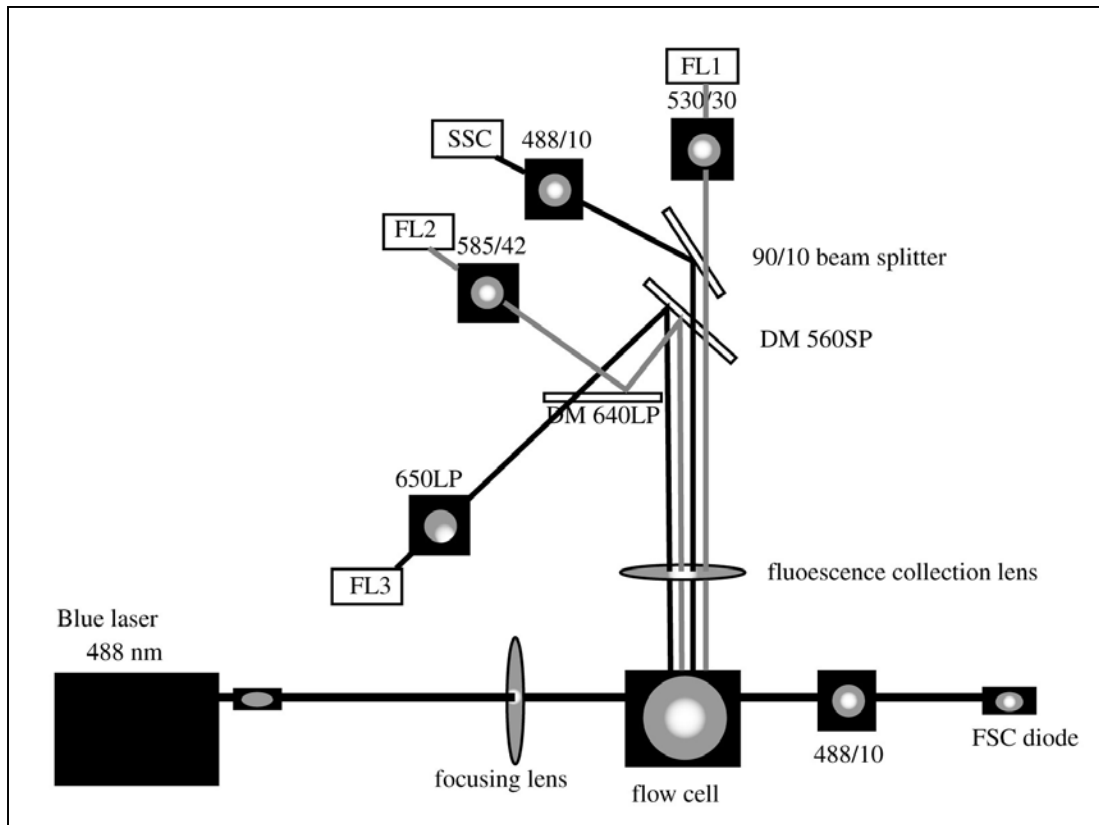


Figure 22 : Principe général du système optique du cytomètre en flux.

Le système électronique et informatique : il permet une interface entre ce système et le système informatique pour le transfert des données. Il réalise une conversion des signaux optiques en signaux électroniques proportionnels (en impulsions de tension) et également une analyse de la hauteur, de la surface et de la largeur de l'impulsion. La surface d'une impulsion est proportionnelle au paramètre analysé. Les impulsions électriques digitalisées sont traitées par un analyseur multi-canaux et classées par canal en fonction de leur amplitude. Elles s'accumulent sous forme d'histogrammes et de cytogrammes (bi paramétriques). La combinaison de paramètres de fluorescence et de diffusion dans l'axe du laser permet la discrimination entre populations de particules de suspension cellulaire.

Les données ont été acquises sur le logiciel Cellquest. Avant leur collecte, différents réglages sont opérés afin d'obtenir des nuages de points bien centrés et de visualiser toutes les cellules: seuil pour ne sélectionner les signaux qu'à partir d'une certaine valeur, photodiode pour le FSC et tensions dans le tube photomultiplicateur pour le SSC, FL1, FL2 et FL3. Pour chaque échantillon, les mesures sont effectuées sur 10 000 cellules et chaque échantillon est analysé cinq fois.

Les données ont été traitées sur le logiciel WinMDI. Des régions ont été dessinées (Fig. 23) afin de sélectionner la partie de la population qui nous intéresse en retirant de l'analyse les débris ou cellules mortes peu ou pas représentatifs de l'échantillon (et qui pourraient biaiser la mesure. L'intensité moyenne et le coefficient de variation (en %) du paramètre étudié sont alors calculés. Le jeu de données obtenues au cytomètre en flux est le suivant : il y a huit échantillons par espèce, en sachant que deux cultures par espèce ont étéensemencées, que deux prélèvements par culture ont été effectués et fixés soit au glutaraldéhyde, soit au paraformaldéhyde, et ce à deux phases de croissance distinctes : exponentielle et stationnaire. Chacun de ces échantillons a été passé cinq fois au cytomètre en flux et les données suivantes acquises à chaque fois : la FL3 et le coefficient de variation (en valeurs absolues), la FSC et

son coefficient de variation et enfin la SSC et son coefficient de variation. On est alors en possession d'un ensemble de 240 données par espèce.

Afin d'en visualiser l'ensemble, de déterminer quelles variables agissent et comment les conditions (phase de croissance, fixateur, espèce, état physiologique) influencent ces variables, une ACP ou analyse en composantes principales a été réalisée sous le logiciel Statistica.

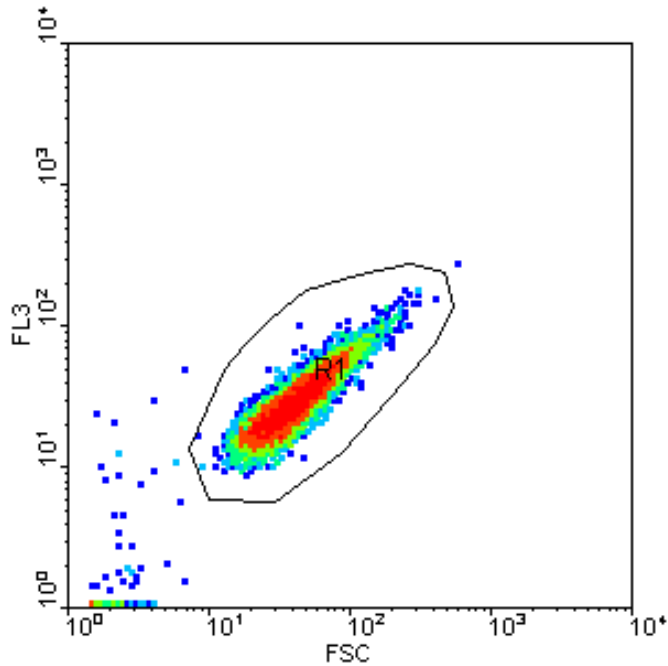


Figure 23 : Exemple de sélection d'une région d'une population algale sur un cytogramme où deux paramètres sont représentés (FSC et FL3).

4.2. Résultats

Parmi les treize espèces originaires d'Argenton (Tableau 2) seules *Isochrysis galbana* et *Rhodomonas salina* n'ont pas été analysées en cytométrie de flux vus leurs faibles croissances (Fig. 5).

FL3 et son coefficient de variation (CV), SSC et son CV, FSC et son CV constituent des variables actives. L'ACP consiste à projeter les variables sur les axes orthogonaux. La figure 24 représente le cercle de corrélation visualisant l'organisation des variables sur le plan factoriel 1-2.

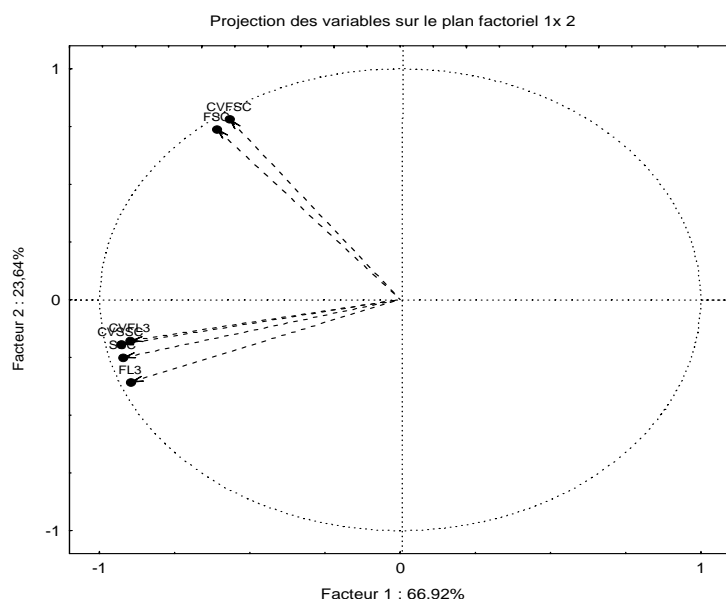


Figure 24 : Cercle de corrélation de l'ACP. Description des axes factoriels 1 et 2.

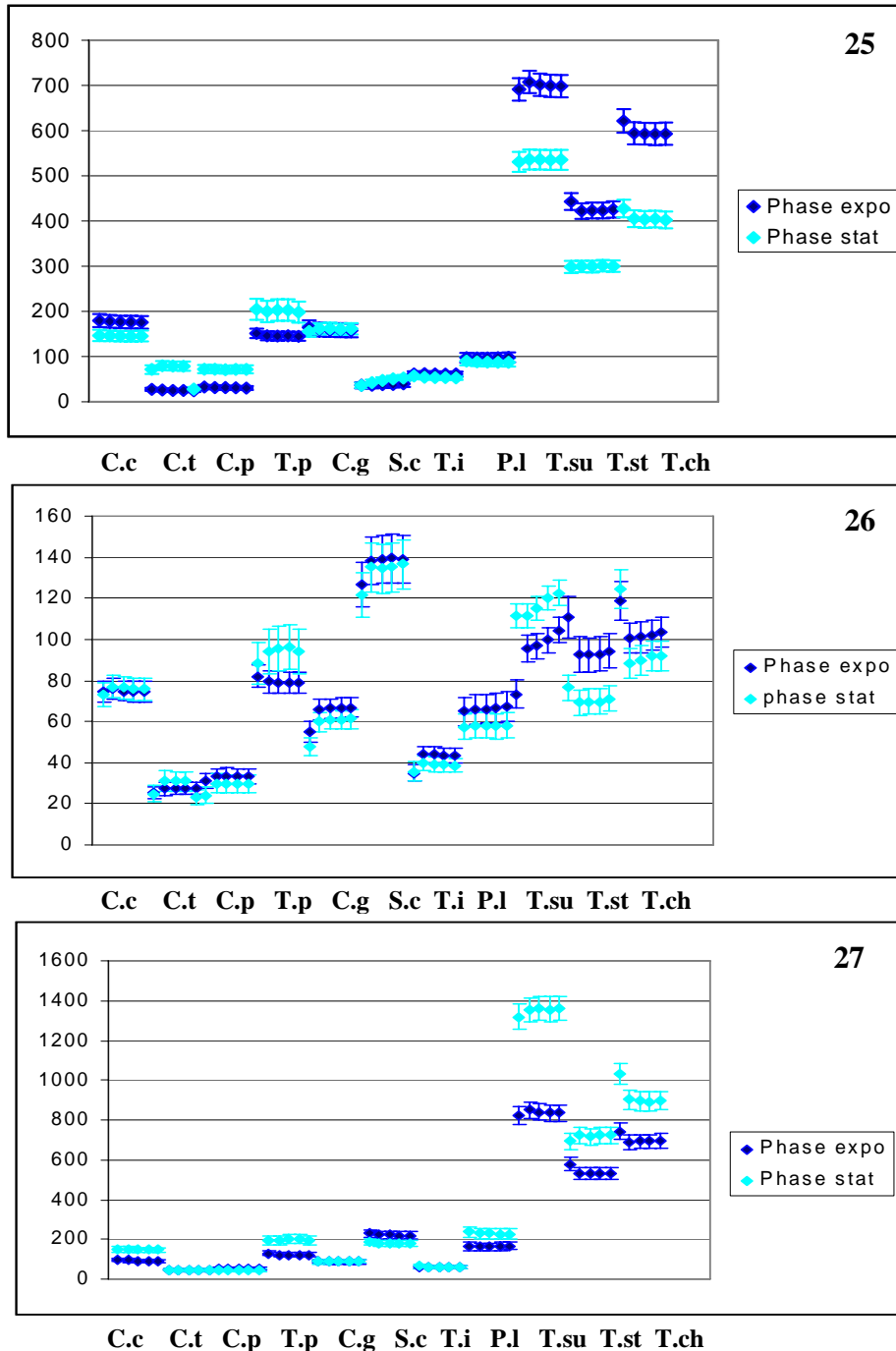
Ici, les deux premiers axes résument 90,56% de l'information contenue dans les six variables actives. Ainsi, l'axe 1 décrit 66,92% de cette information tandis que l'axe 2 en décrit 23,64%. Concernant la description des axes, nous notons que les variables actives FL3 (autofluorescence des cellules), le SSC (structure cellulaire) et leurs CV associés décrivent l'axe 2, tandis que l'axe 1 n'est traduit que par deux variables : la FSC (ou taille cellulaire) et son CV. On peut aussi observer sur ce cercle de corrélation que les coefficients de variation sont toujours corrélés positivement avec les variables associées et que l'autofluorescence et la structure cellulaire le sont également (matrice de corrélation en annexe 2).

Influence de l'état physiologique sur la signature cytométrique.

Les figures 25, 26 et 27 représentent respectivement les valeurs moyennes de la FL3, de la FSC, de la SSC d'une culture par espèce et le dupliquas de cette culture fixée au paraformaldéhyde, et ce, en phase exponentielle et en phase stationnaire. Ces figures illustrent la lisibilité en cytométrie en sachant que deux échantillons ne sont pas distinguables si leurs coefficients de variation, exprimés en valeurs absolues, se chevauchent.

En ce qui concerne la FL3 ou autofluorescence des cellules phytoplanctoniques, on peut observer sur la figure 25 que la phase de croissance engendre une variabilité de la signature obtenue au cytomètre en flux pour trois espèces de flagellés (*Tetraselmis suecica*, *T. striata* et *T. chui*) et pour quatre espèces de diatomées (*Chaetoceros calcitrans*, *C. sp. tenuissimus like*, *C. calcitrans forma pumilum* et *Thalassiosira pseudonana*).

La figure 26 nous prouve que la phase de croissance influence également la FSC d'une même espèce chez deux espèces de flagellés : *Tetraselmis suecica* et *T. striata*, et enfin la figure 27 présente la variabilité intraspécifique du SSC liée à la phase de croissance pour sept espèces sur onze étudiées : *Tetraselmis suecica*, *T. striata*, *T. chui*, *Chaetoceros calcitrans*, *Thalassiosira pseudonana*, *Pavlova lutheri* et *Skeletonema costatum*.



Figures 25 à 27 : Intensités moyennes et coefficients de variation (en valeurs absolues) de la FL3 (25), de la FSC (26) et de la SSC (27) pour les onze espèces d'algues étudiées fixées au paraformaldéhyde, en phases stationnaire et exponentielle (cinq points par espèce et par phase).

C.c : *Chaetoceros calcitrans*, C.t : *Chaetoceros* sp. *tenuissimus* like, C.p : *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*, C.g : *Chaetoceros gracilis*, T.P : *Thalassiosira pseudonana*, S.c : *Skeletonema costatum*. T.i :

Isochrysis aff. galbana (T iso), P.1 : *Pavlova lutheri*, T.su : *Tetraselmis suecica*, T.st : *Tetraselmis striata* et T.ch : *Tetraselmis chui*.

Afin de mieux visualiser l'effet de la phase de croissance sur les résultats obtenus, la figure 28 représente la répartition des individus par phase de croissance selon les axes 1 et 2. Quelques échantillons en phase stationnaire caractérisés par un fort FSC et/ou un fort CV de FSC se distinguent des autres échantillons. En ce qui concerne le reste des échantillons, ceux-ci ont une répartition aléatoire. On ne peut alors pas déduire la façon dont la phase de croissance, pour ces échantillons, influence les variables actives.

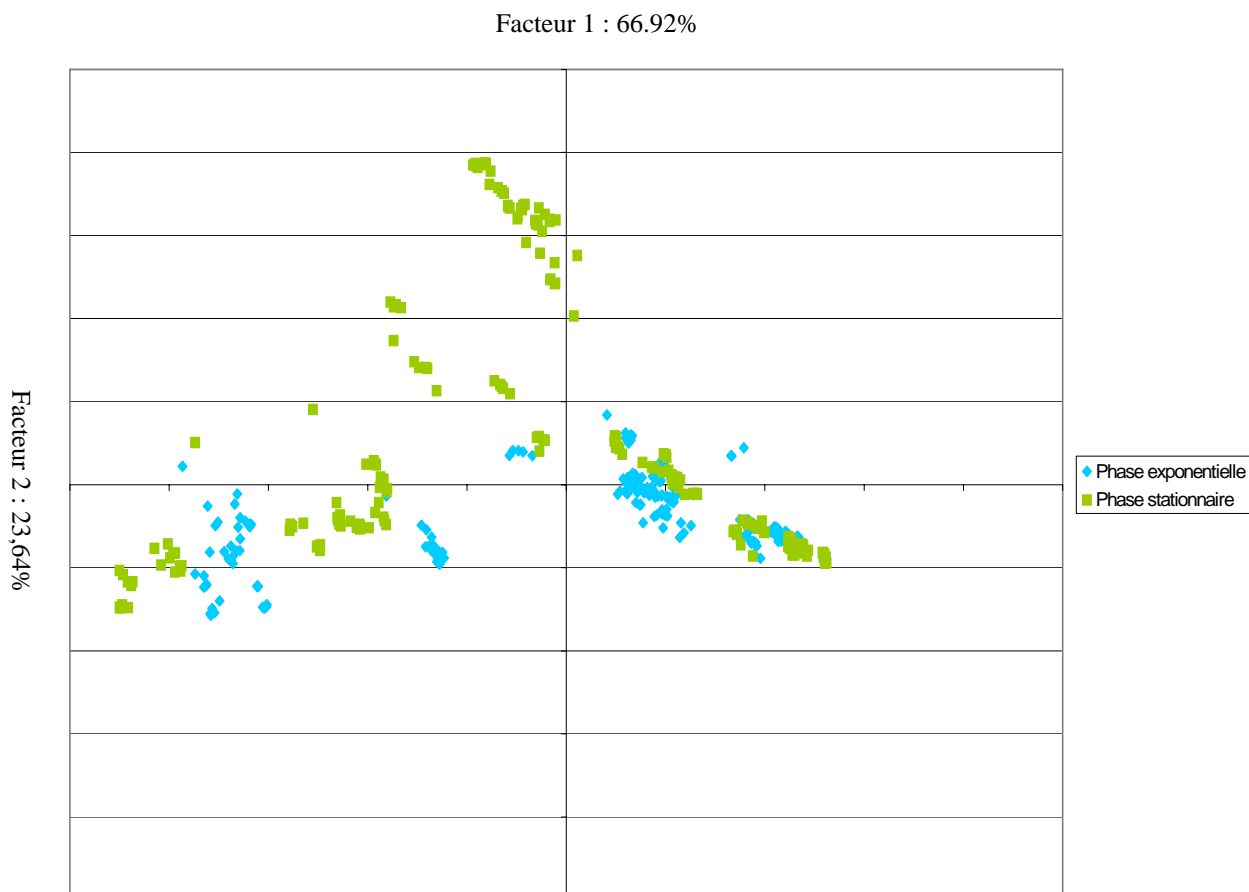
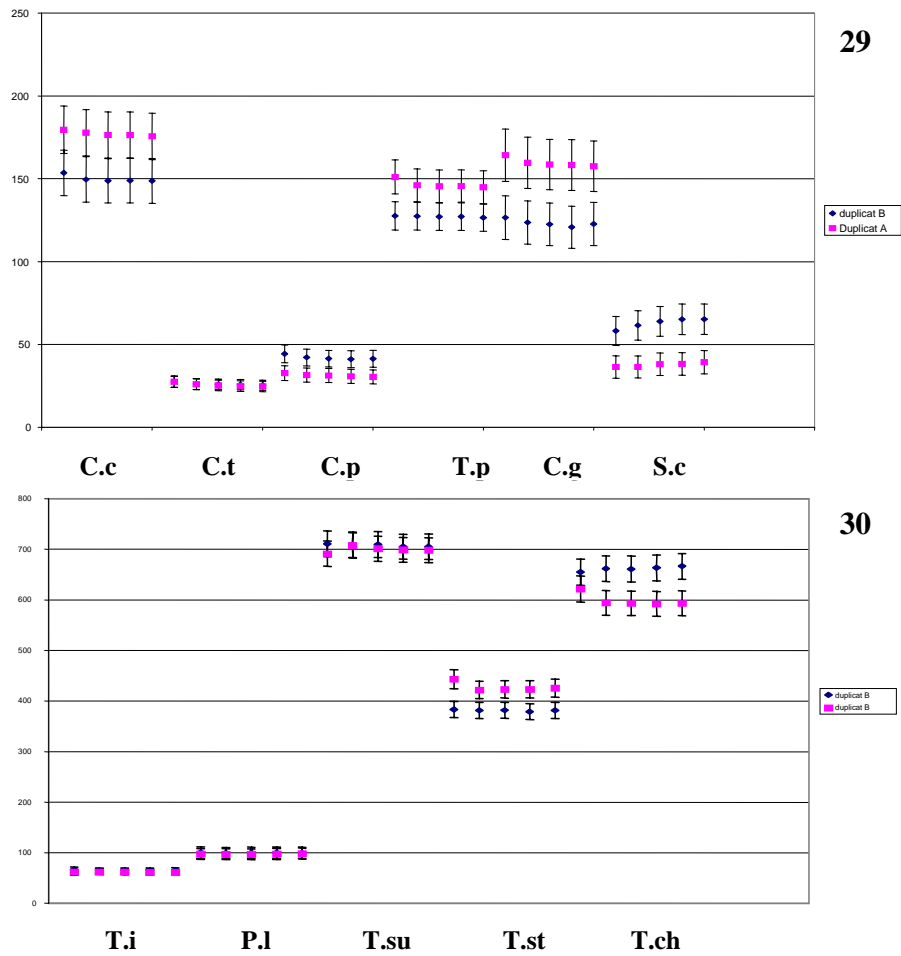


Figure 28 : Détail de la répartition des échantillons phase par phase dans le plan factoriel 1-2.

Afin de visualiser la variabilité de la signature entre deux cultures d'une même espèce, les graphes des figures 29 et 30 ont été tracés grâce aux données de FL3 obtenues en phase exponentielle pour chaque culture par espèce et le dupliquât fixé au paraformaldéhyde (pour simplification et meilleure compréhension). La figure 29 illustre que la signature est extrêmement variable d'un duplicata à l'autre pour les espèces de diatomées suivantes : *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros calcitrans forma pumilum*, *Chaetoceros gracilis*, *Thalassiosira pseudonana* et *Skeletonema costatum*. La figure 30 montre que sur cinq espèces de flagellés, deux présentent une mesure de FL3 variable d'une culture à l'autre. Les résultats présentés en annexe 3 illustre la variabilité de la fluorescence d'un duplicata à l'autre en phase stationnaire.



Figures 29 et 30 : Comparaison des intensités moyennes et coefficients de variation (en valeurs absolues) de la FL3 (autofluorescence) des duplicata (A et B) de culture pour les onze espèces d’algue étudiées en phase exponentielle et fixées au paraformaldéhyde.

C.c : *Chaetoceros calcitrans*, C.t : *C. sp. tenuissimus like*, C.p : *C. calcitrans* forma *pumilum*, C.g : *C. gracilis*, T.P : *Thalassiosira pseudonana*, S.c : *Skeletonema costatum*. T.i : *Isochrysis aff. galbana* (T iso), P.l : *Pavlova lutheri*, T.su : *Tetraselmis suecica*, T.st : *T. striata* et T.ch : *T. chui*.

Afin de mieux visualiser l'effet du fixateur sur les résultats obtenus, la figure 31 représente la répartition des individus par fixateur selon les axes 1 et 2. Il ne ressort de cette figure aucune tendance générale quant à l'influence du glutaraldéhyde ou du paraformaldéhyde sur les variables définies.

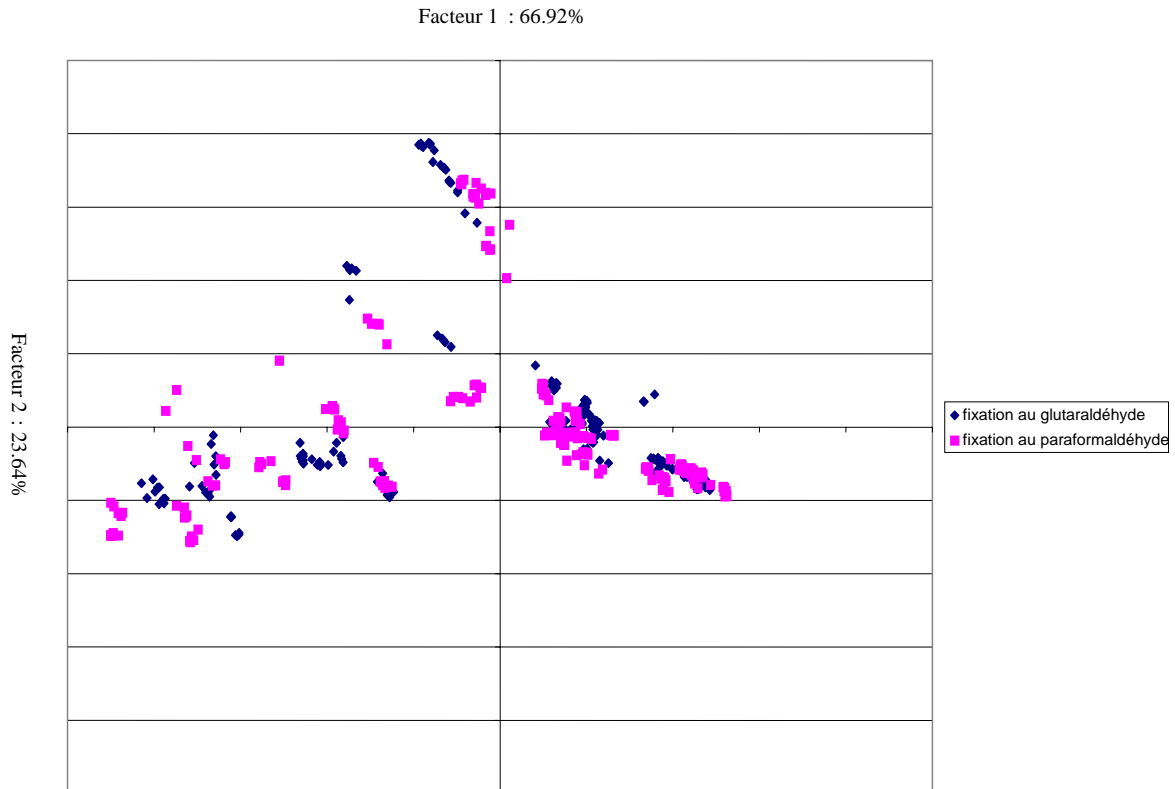


Figure 30 : Détail de la représentation des échantillons en fonction de la fixation dans le plan factoriel 1-2.

L'examen des coordonnées des échantillons, espèce par espèce, permet d'observer la répartition des individus selon les axes 1 et 2 (Fig. 31). Seules trois espèces de flagellés se distinguent bien des huit autres espèces : *Pavlova lutheri*, *Tetraselmis suecica* et *T. chui*. Ces dernières se distingueraient par un fort FL3 et/ou CV de FL3 et un fort SSC et/ou CV de SSC. Les figures 25 et 27 nous confortent dans l'idée que les deux espèces du genre *Tetraselmis* se distinguent par un fort FL3 et un fort SSC. Trois autres espèces se distinguent mais uniquement par un certain nombre d'échantillons, il s'agit de *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis striata* et *Skeletonema costatum*. Une distinction absolue est alors difficile à établir en cytométrie en flux pour ces dernières espèces.

Facteur 1 : 66.92%

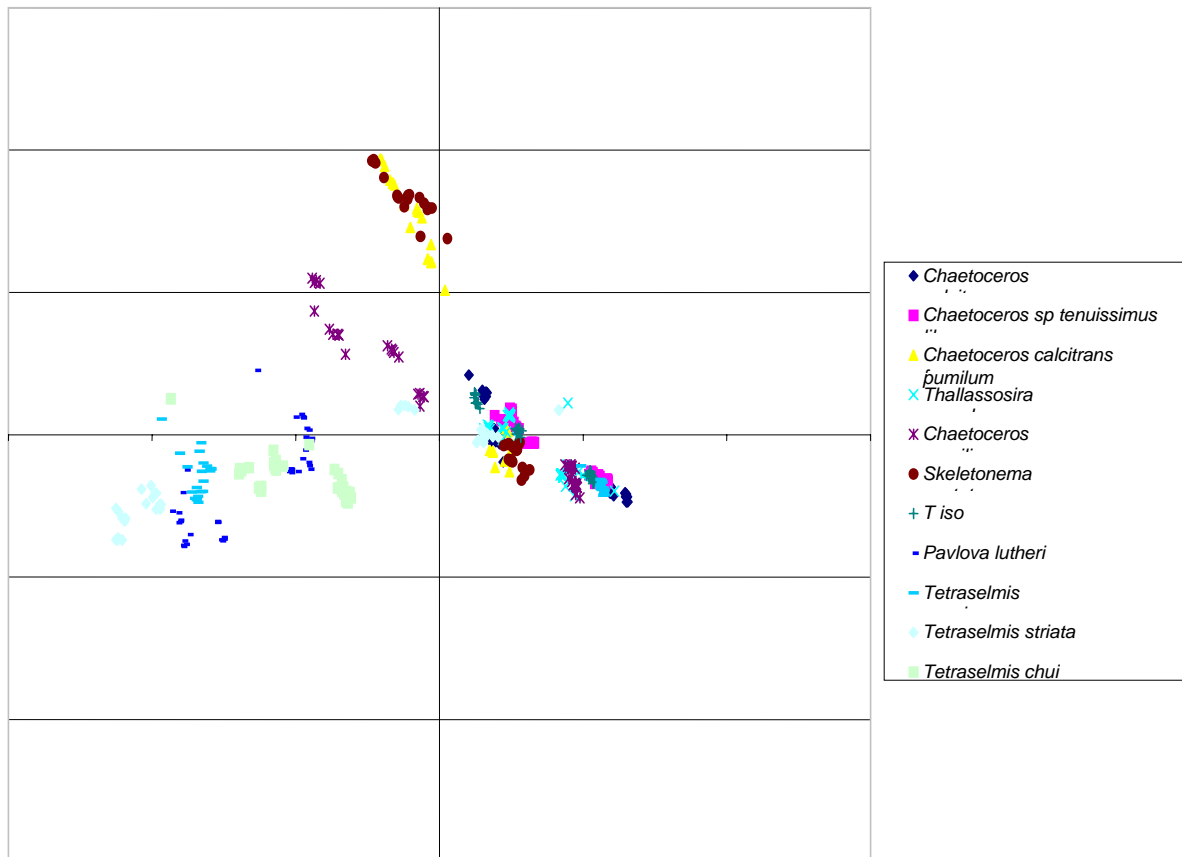
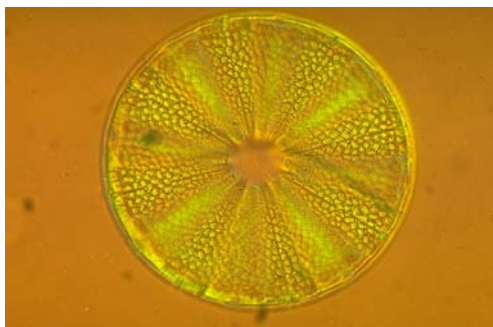
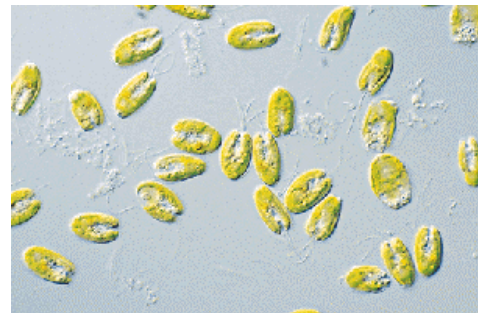
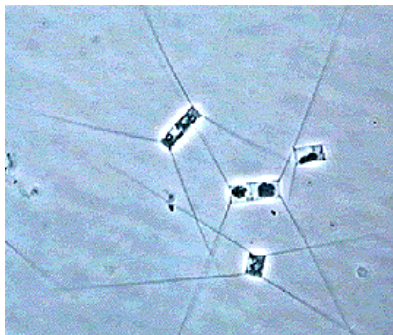
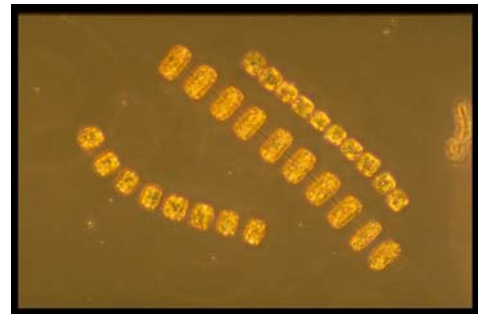


Figure 31: Détail de la répartition des échantillons, espèce par espèce, dans le premier plan factoriel.

V. Caractérisation biomoléculaire des microalgues fourrage

J.L. Nicolas et E. Bernard
Ifremer, LPI Brest



Diversité des formes de microalgues (photos Web).

5.1. Matériels et méthodes

A l'exception des Cyanophycées, les microalgues marines sont des organismes unicellulaires eucaryotes qui présentent une très grande diversité et appartiennent donc à des classes variées. La nécessité de mettre de l'ordre dans cet univers composé d'organismes si différents par de multiples points s'est donc fait sentir depuis longtemps. La discipline responsable de la classification est la systématique ou encore taxonomie (du grec *tasso*, je range, et *nomos*, la règle). Les moyens d'investigation progressent considérablement avec le microscope électronique à balayage (MEB), les microsondes, les méthodes d'analyse chimique (RMN, etc.) ainsi que les outils de biologie moléculaire (ADNr 18S notamment).

L'objectif de cette partie du travail est de caractériser les microalgues d'intérêt aquacole d'un point de vue génétique afin de fournir un outil moléculaire susceptible d'aider à clarifier la position taxonomique des espèces cultivées.

Afin de faciliter la compréhension de cette partie les sigles et abréviations utilisées en biologie moléculaire sont rapportés en annexe 7. L'exploitation du polymorphisme de l'ADN fournit des marqueurs génétiques d'identification des individus (De Vienne, 1998). Ces marqueurs présentent de nombreux avantages : mise en évidence d'un plus grand polymorphisme que les marqueurs phénotypiques et protéiques, indépendance du stade physiologique et insensibilité au milieu. Ainsi, ils offrent la possibilité de différencier des taxons à différents niveaux. Dans les études de taxonomie moléculaire et de phylogénie, les gènes couramment choisis comme marqueurs polymorphes sont les gènes codant pour les ARNr. Ces ARN, associés à des protéines, forment les sous-unités des ribosomes : ARN 18S pour la petite sous-unité et ARN 5,8S, 28S et 5S pour la grande sous-unité. Au niveau de l'opéron, l'ADNr 5,8S est séparé des ADNr 18S et 28S par des régions intercalaires appelées ITS1 et ITS2. Les ADNr présentent de nombreux intérêts pour les études moléculaires : universalité et grand nombre de copies constituent un matériel intéressant. D'autre part, leur séquence contient suffisamment d'informations évolutives pour permettre à la fois la mesure de relations phylogénétiques proches ou distantes (Sogin, 1990).

L'analyse par ARDRA, après amplification, des régions 5,8S et des ITS (Adachi *et al.*, 1994 ; Spalter *et al.*, 1997), 18S (Scholin et Anderson, 1994 ; Cembella et Destombe, 1996) et 28S (Scholin et Anderson, 1996) a montré qu'une telle analyse fournit des profils de restriction valables pour la discrimination des espèces voire des populations.

Ce travail fait suite à un premier balayage réalisé sur 45 espèces et/ou clone de microalgues provenant de plusieurs sources et entretenus à l'écloserie d'Argenton (Roussot, 1999). Cette première étude avait permis d'identifier des doublons et d'alléger ainsi la « collection » d'Argenton. La présente investigation a pour but de vérifier la véracité des premiers résultats obtenus sur la « nouvelle » collection (en fait plus restreinte due à l'élimination d'environ 2/3 des souches) originaire d'Argenton (Tableau 2), de chercher à différencier plusieurs espèces qui semblent identiques d'un point de vue phylogénétique : *Chaetoceros calcitrans* et *Chaetoceros gracilis* d'une part, groupe des *Tetraselmis* d'autre part ; ainsi que de positionner deux nouvelles espèces.

La même stratégie que précédemment utilisée sera appliquée ici : extraction de l'ADN total, amplification de l'ADNr 18S par PCR, typage par ARDRA et enfin séquençage à l'étude du polymorphisme de cet ADNr chez diverses souches appartenant aux principales espèces cultivées par des écloseries à des fins de nutrition larvaire.

On s'attachera plus particulièrement à trouver un protocole d'extraction moins laborieux, assez rapide, présentant un bon rendement à partir de faibles quantités d'algues et pouvant fonctionner sur toutes les espèces données afin de pouvoir être réalisé en routine. De plus, ce protocole devra aboutir à une amplification par PCR, ce qui implique que les extraits obtenus devront être relativement purs : élimination des inhibiteurs tels polysaccharides et glycoprotéines.

Pour réaliser une extraction, il faut disposer de cultures d'algues en quantité suffisante. Des cultures de microalgues sont réalisées en erlenmeyers de 100 mL contenant 60 mL d'eau de mer additionnée de milieu de Conway (annexe 1), sans bullage ni agitation, auquel on ajoute une solution silicatée pour les diatomées (annexe 1). Elles sont repiquées une fois toutes les deux semaines. Ces cultures sont maintenues dans une pièce thermostatée à +18°C, sous éclairage continu. Les espèces étudiées sont : *Chaetoceros calcitrans*, *C. calcitrans* forma *pumilum*, *C. gracilis*, *Chaetoceros sp. tenuissimus like*, *Isochrysis affinis galbana* (*T. iso*), *Pavlova lutheri*, *Rhodomonas salina*, *Skeletonema costatum*, *Tetraselmis chui*, *Tetraselmis striata*, *Tetraselmis suecica* et *Thalassiosira pseudonana*, originaires d'Argenton. Dans le cadre d'un travail visant à identifier de nouvelles microalgues fourrage adaptées aux besoins alimentaires de *Crassostrea gigas*, deux nouvelles espèces issues de la collection ALGOBANK de l'Université de Caen, *Diacronema vlkianum* et *Imantonia rotunda* seront également étudiées au cours de ce travail.

Afin de récupérer le matériel moléculaire, deux types de lyse ont été appliqués (par azote liquide, par ultrasons) après centrifugation préalable de 10 à 50 mL de culture pendant 5 minutes à 6000g, élimination du surnageant et transfert du culot d'algues dans un tube eppendorf de 1,5 mL.

Pour certaines espèces des difficultés d'amplification ont été rencontrées antérieurement (Roussot, 1999) et la méthode d'extraction a été suspectée. Pour ce faire cet aspect a été approfondi dans notre étude où cinq différents protocoles d'extraction de l'ADN total ont été testés : protocole classique : (Sambrook *et al.*, 1989), protocole « ablc », protocole utilisant du CTAB (Doyle et Doyle, 1987), protocole utilisant le TRIzol[®] Reagent (Life Technologies, Etats-Unis), protocole utilisant du chlorure de lithium (Hong *et al.*, 1997 : annexe 8).

L'ADNr 18S est amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) à l'aide d'amorces universelles eucaryotes (Sogin, 1990) situées à chacune des extrémités du gène : A18 DIR et A18 REV :

A18 DIR : 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3'

A18 REV : 5'-TCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3'

Les différentes PCR sont réalisées avec les thermocycleurs : multibloc Robocycler Gradient 96 (Stratagene, USA) ou monobloc Mastercycler[®] 5333 (Eppendorf, Allemagne). Le mélange réactionnel, d'un volume total de 50 µL, comporte : 5 µL de tampon 10X (avec MgCl₂) (Appligene-Oncor, France), 200 µM de chaque dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP, Eurogentec, Belgique), 2 µM de chaque amorce (Genset, France), 2 unités de Taq DNA polymérase (Appligene-Oncor, France) et 2 µL d'extrait. Ce mélange est recouvert d'huile minérale stérile (Sigma, Etats-Unis). Chaque série de PCR inclut par ailleurs un témoin positif (*Chaetoceros calcitrans*) et un témoin négatif (2 µL d'eau distillée stérile remplacent les 2 µL d'extrait). Certaines PCR, d'un volume final de 25 µL, sont réalisées à l'aide de billes Ready-To-Go[™] (Amersham Pharmacia Biotech, Etats-Unis) qui contiennent les dNTP, le tampon 10X et la Taq DNA polymérase. Dans ce cas, on ajoute 2 µM de chaque amorce, l'eau distillée stérile et les 2 µL d'extrait.

Le programme de PCR comprend : un premier cycle de 6 min. à + 94°C (dénaturation) suivi de 30 cycles de 30 sec. à + 94°C, 1 minute à + 56°C (hybridation), 1 min. 30 sec. à + 72°C (élongation), puis un cycle d'extension de 6 min. à + 72°C et enfin le maintien à + 4°C.

Pour vérifier le succès et la spécificité de l'amplification, on réalise une électrophorèse sur gel d'agarose 0,8% (annexe 9) pour chaque échantillon amplifié.

On doit normalement observer des fragments de 1800 pb correspondant à l'ADNr 18S.

La caractérisation des amplicons par ARDRA se fait comme suit : dans un tube stérile maintenu dans la glace, mettre 5 µL de produit PCR obtenu précédemment. Dans un autre

tube stérile également maintenu dans la glace, réaliser le mix (mélange) suivant (les volumes indiqués sont à multiplier par le nombre d'échantillons à digérer):

0,1 μL de BSA à 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,

1 μL de tampon 10X (B pour Alu1 et C pour Hha1),

3,65 μL d'eau distillée stérile.

Mélanger par aspirations refoulements deux à trois fois puis ajouter 0,25 μL d'enzyme.

Mélanger par aspirations refoulements une à deux fois puis ajouter 5 μL de ce mixe dans le tube contenant le produit PCR à digérer. Incuber au bain-marie à +37°C pendant 3 heures au minimum. En général, on laisse incuber toute la nuit. En effet, une incubation plus longue ne modifie pas les profils de restriction.

Enfin, on réalise une électrophorèse sur gel d'agarose 2% (annexe 9) pour visualiser les profils de restriction. Les séquences seront alors comparées à celles que l'on doit théoriquement trouver. En effet, il est possible de se procurer en banques (GenBank et EMBL) certaines séquences des algues étudiées. A l'aide du logiciel DNASTar (Madison, Etats-Unis) et de son programme MapDraw en particulier, on peut obtenir les cartes de restriction théoriques de ces séquences afin de déterminer l'enzyme la plus discriminante. On choisit les enzymes Alu1 et Hha1 (Promega, Etats-Unis), déjà utilisées par plusieurs auteurs, qui coupent les séquences d'ADNr 18S dans des zones variables.

5.2. Résultats

5.2.1. Amplification et PCR

Les microalgues ne se sont pas développées de la même manière. Alors que toutes les autres espèces ont poussé normalement, *Diacronema vlkianum* et surtout *Imantonia rotunda* n'ont pas donné de cultures abondantes. Cela explique sûrement la difficulté d'extraction éprouvée sur ces espèces par la suite.

Plusieurs séries d'extraction et d'amplification ont été conduites.

L'amplification directe, couplée à une PCR dont la durée du premier cycle était augmentée (12 minutes), sur toutes les espèces à partir de 2 μL de chaque échantillon, a échoué. Il en était de même en utilisant le protocole classique d'extraction (annexe 8). Une lyse préliminaire des algues par l'azote liquide a été appliquée sans plus de succès. Pourtant l'observation des microalgues au microscope après broyage montre que cette technique est efficace, peu de cellules restant intactes. L'absence d'amplification observée à l'issue de la PCR ne pouvait s'expliquer que par la présence d'inhibiteurs dans ces échantillons. Une purification a alors été opérée (protocole « ablc »). Seuls des smears de faible intensité sont visibles à la place de l'ADN de haut poids moléculaire attendu (Fig. 32a). Une faible quantité d'ADN a donc pu être extraite mais celle-ci paraissait dégradée. Les résultats d'amplification sur ces échantillons après PCR sont surprenants (Fig. 32b). Ainsi, bien que l'ADN semble abîmé, des amplifications satisfaisantes sont observées sur certaines espèces. En outre, ces amplifications correspondent à de l'ADNr 18S (1800 pb environ). L'ADN obtenu après extraction était donc d'une qualité suffisante pour pouvoir être amplifié par PCR. D'autres essais d'extraction puis d'amplification sur les souches présentant des résultats négatifs n'ont pas été couronnés de succès.

Un protocole d'extraction -donnant de très bons résultats pour les bactéries- et qui utilise la Chelex[®]100 (résine échangeuse de cations, Sigma, Etats-Unis) a été réalisé avec ou sans lyse préalable par l'azote liquide, sur quelque microalgues. Aucune trace d'ADN n'est visible sur l'électrophorèse de ces extraits. Une PCR a été cependant réalisée mais n'a abouti à aucune amplification d'ADNr 18S.

Le protocole d'extraction utilisant du CTAB (Doyle & Doyle, 1987), en théorie particulièrement adapté pour les espèces végétales contenant une forte proportion de polysaccharides, a été appliqué. Sans lyse préliminaire aucune trace d'ADN n'est observable sur le gel d'électrophorèse après extraction et aucune amplification n'a eu lieu par PCR. En revanche, si une lyse préliminaire par ultrasons est opérée, l'extraction est correcte avec des bandes d'épaisseur et d'intensité variable (Fig. 33a). Des smears signalent la présence d'impuretés dans les solutions mais peuvent aussi correspondre à une fraction d'ADN dégradé. Les amplifications d'ADNr 18S par PCR de *Chaetoceros gracilis* (3), *Diacronema vlkianum* (4), *Chaetoceros sp. extubo like* (5), *Imantonia rotunda* (6), *Tetraselmis chui* (11) et *T. striata* (12) ont été positives (Fig. 33a) y compris chez *Imantonia rotunda* mais seulement après dilution de l'extrait au 1/10^{ème}.

Les protocoles d'extraction précédents n'ont pas permis de traiter efficacement *Isochrysis affinis galbana* (7) et *Tetraselmis suecica* (13). Un autre protocole utilisant le TRIzol[®] Reagent a été appliqué à ces deux espèces et à *Diacronema* servant de témoin. Sans lyse préliminaire aucune trace d'ADN n'est observable sur l'électrophorèse pour les trois espèces ni après extraction, ni après PCR. A l'inverse, après lyse par ultrasons et extraction au TRIzol, de l'ADN est visible pour *Tetraselmis suecica* qui donne une amplification positive d'ADNr 18S par PCR (Fig. 34).

Le protocole d'extraction utilisant du chlorure de lithium (Hong *et al.*, 1997) a été appliqué à *Isochrysis affinis galbana* (7) et à *Chaetoceros calcitrans* (2) servant de témoin. Les résultats de cette extraction sont présentés sur la figure 35. De l'ADN propre et de haut poids moléculaire est bien visible. Toutefois, de nombreux essais d'amplification se sont révélés infructueux à plusieurs dilutions (pur, 1/10^{ème}, 1/100^{ème}, 1/1000^{ème}), y compris après avoir abaissé la température d'hybridation à + 43°C sensé résoudre un éventuel problème d'hybridation des amorces.

Enfin un protocole d'extraction appelé kit Dneasy (Qiagen) a été utilisé uniquement sur *Isochrysis affinis galbana* (7). Après extraction, de l'ADN de haut poids moléculaire légèrement dégradé est obtenu. Une PCR avec une température d'hybridation de + 43°C a abouti à une faible amplification d'ADNr 18S (Fig. 36).

Globalement, l'amplification des Diatomées (1, 2, 3, 5, 10, 14) donne de très bons résultats avec un nombre limité d'essais. C'est aussi le cas pour les Pavlovophycées (4 et 8) et les Cryptophycées (9).

En revanche, les extractions et surtout les amplifications des Haptophycées (6 et 7) et Prasinophycées (11, 12 et 13) sont en général beaucoup plus laborieuses.

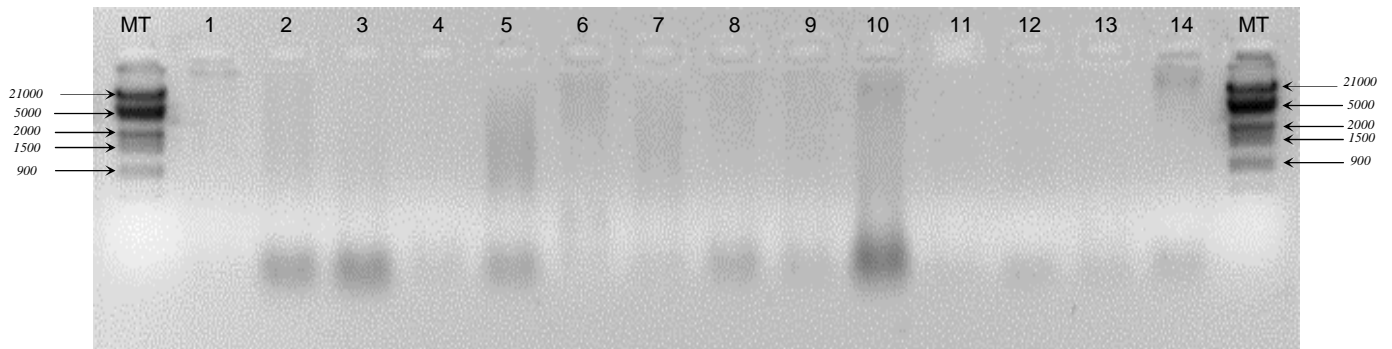


Fig. 32a: ADN total après extraction « abc ».

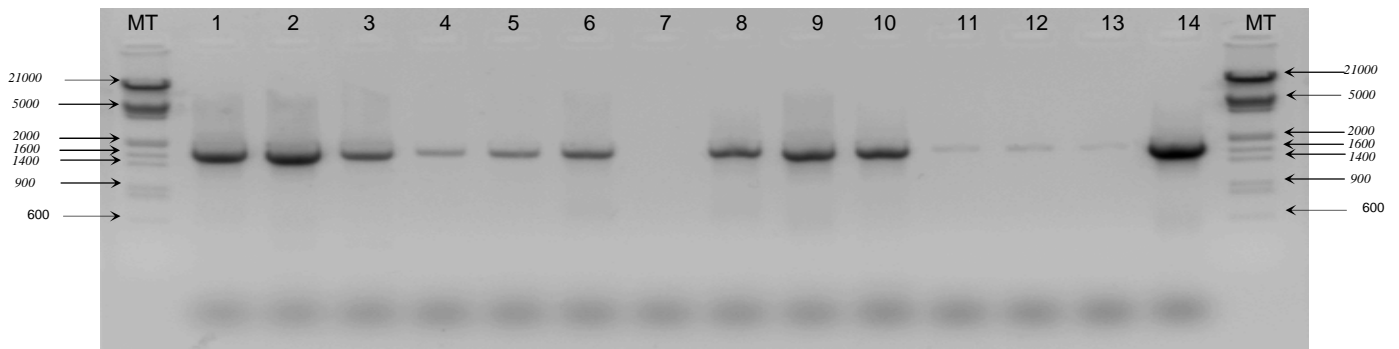


Fig. 32b: ADNr 18S amplifiés par PCR à partir des extraits « abc ».

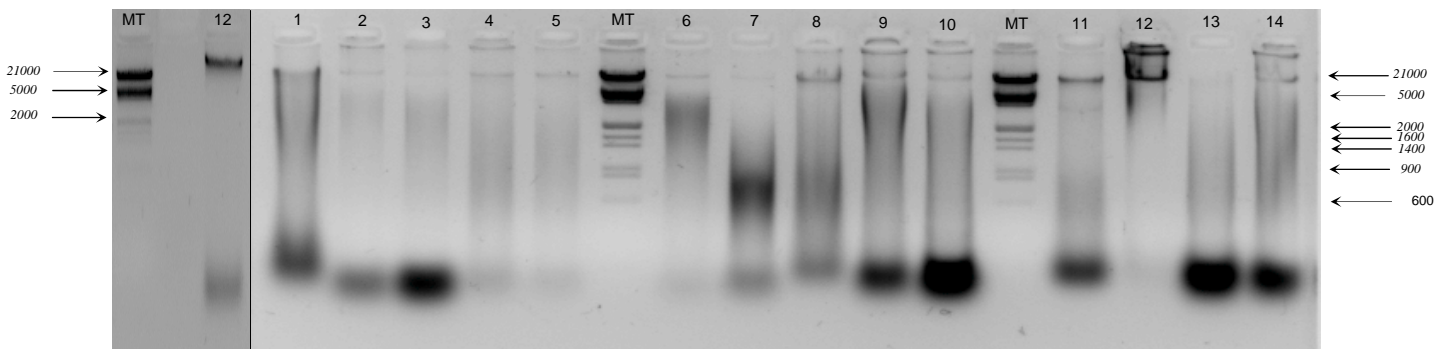


Fig. 33a : ADN total après extraction utilisant du CTAB.

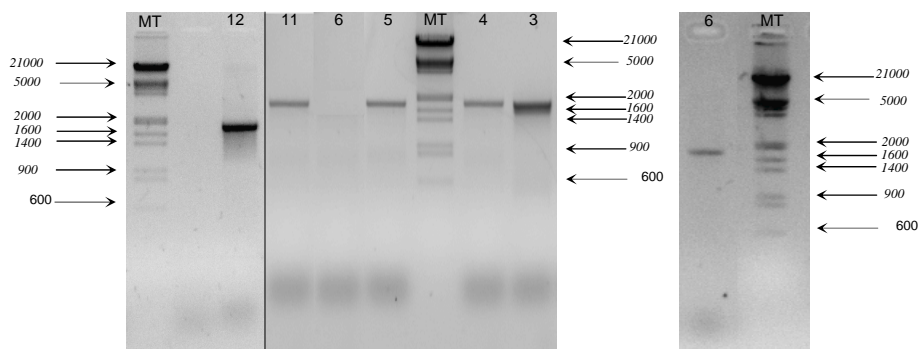


Fig. 33b : ADNr 18S amplifiés par PCR à partir des extraits « CTAB »

MT : marqueur de taille (ADN de phage λ digéré par EcoR I et Hind III) ; 1 : *Chaetoceros calcitrans* ; 2 : *C. calcitrans* f. *pumilum* ; 3 : *C. gracilis* ; 4 : *Diacronema vlkianum* ; 5 : *Chaetoceros* sp. *extubo like*, 6 : *Imantonia rotunda* ; 7 : *T. iso*, 8 : *Pavlova lutheri*, 9 : *Rhodomonas salina*, 10 : *Skeletonema costatum*, 11 : *Tetraselmis chui*, 12 : *T. striata*, 13 : *T. suecica*, 14 : *Thalassosira pseudonana*.

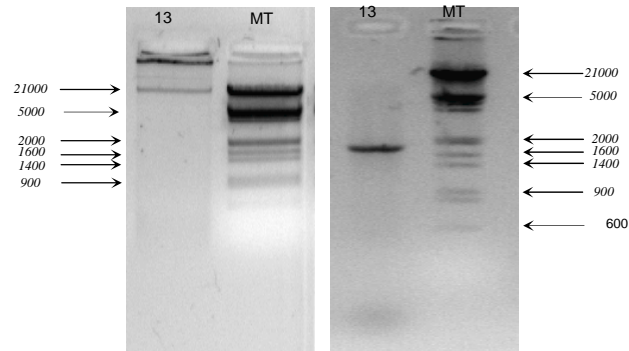


Fig. 34 : ADN total après extraction au TRIzol®Reagent et ADNr 18S amplifié par PCR.

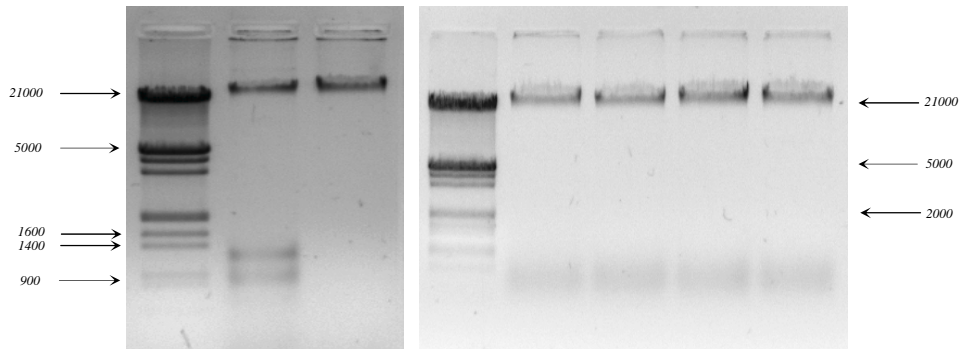


Fig. 35 : ADN total après extraction utilisant du chlorure de lithium.

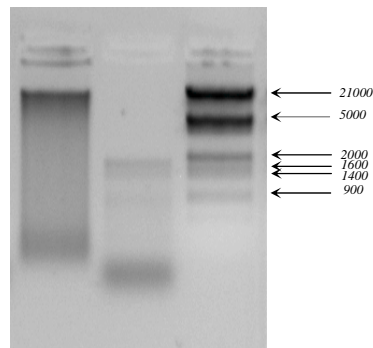


Fig. 36 : ADN total après extraction par le kit Dneasy et ADNr 18S amplifié (faible) par PCR.

MT : marqueur de taille (ADN de phage λ digéré par EcoR I et Hind III) ; 1 : *Chaetoceros calcitrans* ; 2 : *C. calcitrans f. pumilum* ; 3 : *C. gracilis* ; 4 : *Diacronema vlkianum* ; 5 : *Chaetoceros sp. tenuissimus like*, 6 : *Imantonia rotunda* ; 7 : *T. iso*, 8 : *Pavlova lutheri*, 9 : *Rhodomonas salina*, 10 : *Skeletonema costatum*, 11 : *Tetraselmis chui*, 12 : *T. striata*, 13 : *T. suecica*, 14 : *Thalassosira pseudonana*.

pK = après protéinase K et chloroforme ; chl = après chloroforme ; PCI = après PCI.

5.2.2. Caractérisation des amplicons par ARDRA

Pour différencier de manière univoque l'ensemble des genres, il est indispensable de bien visualiser l'ensemble des fragments quelle que soit leur taille. Une migration électrophorétique plus longue puis l'augmentation des contrastes au moment de l'intégration des différents gels aurait permis de mieux discerner tous les fragments de restriction.

Les profils de restriction par les deux enzymes ont été obtenus pour l'ensemble des espèces étudiées hormis *Isochrysis aff. galbana* qui n'a pu être amplifié en quantité suffisante.

Ces profils ont été réalisés à partir des amplicons 1, 2, 8, 9, 10 et 14 des extraits « ablc » au départ (Fig. 32b), des amplicons 3, 4, 5, 6, 11 et 12 des extraits « CTAB » au départ (Fig. 33b) et de l'amplicon 13 de l'extrait « TRIzol » au départ (Fig. 34).

Les profils de restriction de l'ADNr 18S, obtenus par simulation à partir des séquences déposées en banque ou à l'Ifremer (Roussot, 1999), sont présentés sur les figures 37 et 38. Ces profils permettent de discriminer les microalgues au niveau taxonomique générique et, au sein des genres, de distinguer des espèces ou ensembles d'espèces.

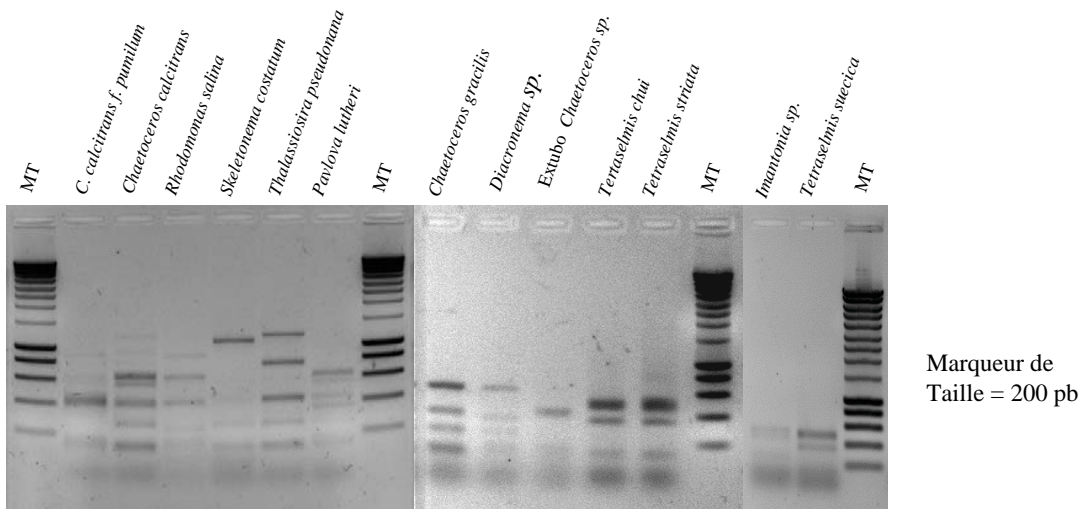


Fig. 37 : Profils de restriction théoriques par *AluI*.

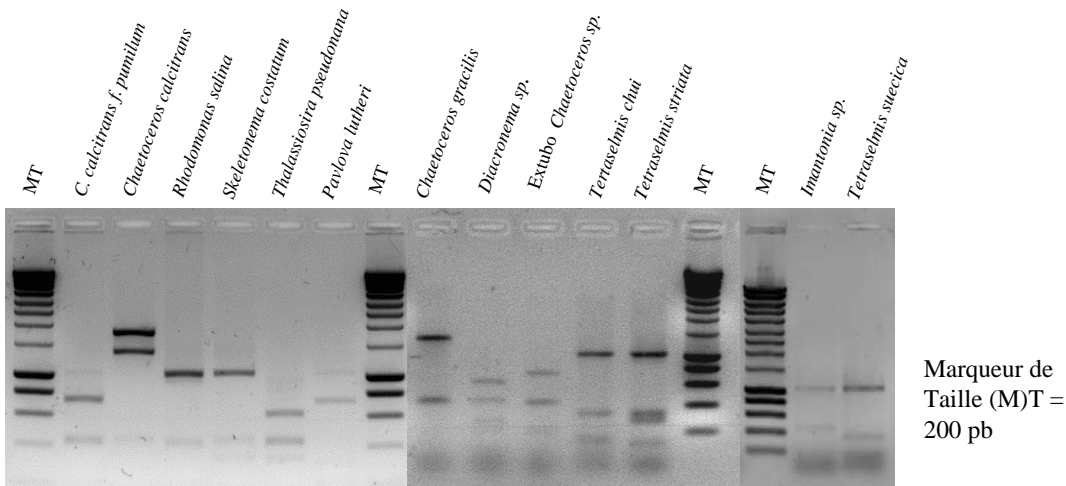


Fig. 38 : Profils de restriction théoriques par *HhaI*.

Les profils obtenus par Alu1 sont présentés en figure 39 et ceux obtenus par Hha1 en figure 40.

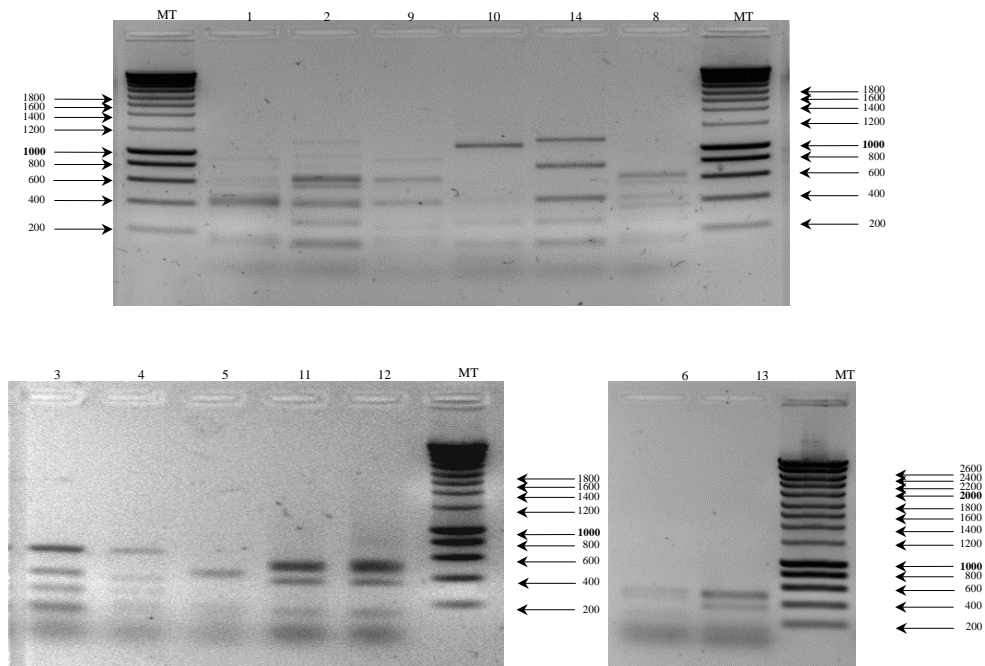


Fig. 39: Profils de restriction obtenus par Alu1 : MT : marqueur de taille 200pb (Eurogentec, Belgique); 1 : *Chaetoceros calcitrans*; 2 : *C. calcitrans f. pumilum*; 3 : *C. gracilis*; 4 : *Diacronema vlkianum*; 5 : *Chaetoceros sp. tenuissimus like*, 6 : *Imantonia rotunda*; 7 : *T. iso*, 8 : *Pavlova lutheri*, 9 : *Rhodomonas salina*, 10 : *Skeletonema costatum*, 11 : *Tetraselmis chui*, 12 : *T. striata*, 13 : *T. suecica*, 14 : *Thalassosira pseudonana*.

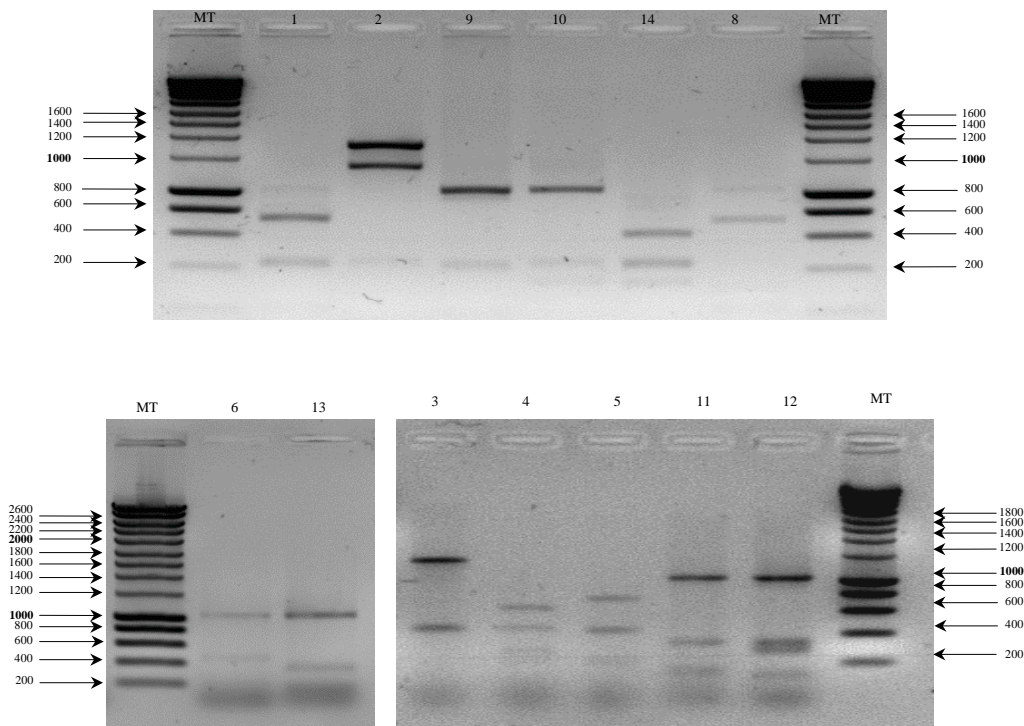


Fig. 40 : Profils de restriction obtenus par Hha1 : MT : marqueur de taille 200pb (Eurogentec, Belgique); 1 : *Chaetoceros calcitrans*; 2 : *C. calcitrans f. pumilum*; 3 : *C. gracilis*; 4 : *Diacronema vlkianum*; 5 : *Chaetoceros sp. tenuissimus like*, 6 : *Imantonia rotunda*; 7 : *T. iso*, 8 : *Pavlova lutheri*, 9 : *Rhodomonas salina*, 10 : *Skeletonema costatum*, 11 : *Tetraselmis chui*, 12 : *T. striata*, 13 : *T. suecica*, 14 : *Thalassosira pseudonana*.

En comparant le profil de restriction théorique (Fig. 37) et celui obtenu après digestion par *AluI* (Fig. 39) on constate que :

Les espèces du genre *Chaetoceros* donnent des types de profils nettement discriminants. Le profil de *C. calcitrans* (piste 1) correspond au profil de *C. calcitrans f. pumilum* de l'étude antérieure (Rousseau, 1999) et inversement. Enfin, un profil identique à celui attendu a été obtenu pour *Chaetoceros gracilis* (piste 3).

Diacronema vlkianum, dont nous ne connaissons pas la séquence donne un profil (piste 4) identique au profil théorique de *C. calcitrans*.

Le profil de *C. sp. tenuissimus like* (piste 5), bien que très peu lisible, correspond au profil de *C. calcitrans f. pumilum* de l'étude antérieure (Roussot, 1999) et est identique au profil théorique de *C. calcitrans f. pumilum*.

Imantonia rotunda (piste 6) a un profil peu lisible.

Pavlova lutheri (piste 8) appartient bien au genre *Pavlova* et plus précisément à l'espèce *Pavlova gyrans* d'après son profil théorique.

Le profil obtenu pour *Rhodomonas salina* (piste 9) est identique à celui obtenu dans la précédente étude (Roussot, 1999) et correspond bien au profil théorique de la même espèce.

La comparaison du profil obtenu avec le profil théorique *Skeletonema costatum* (piste 10), permet d'affirmer que cette espèce est en fait *Skeletonema pseudocostatum* confirmant aussi les travaux antérieurs (Roussot, 1999).

L'enzyme de restriction *AluI* ne permet pas de discriminer les espèces de *Tetraselmis* entre elles (pistes 11, 12 et 13). Les profils obtenus pour ces trois espèces correspondent au profil théorique du genre *Tetraselmis*.

Enfin, pour *Thalassiosira pseudonana* (piste 14), le profil obtenu est aberrant. Puisque la somme des différents fragments dépasse très nettement 1800 pb qui ne peut s'expliquer que par une digestion partielle par *AluI*.

En comparant le profil de restriction théorique (Fig. 38) et celui obtenu après digestion par *HhaI* (Fig. 40) on constate que :

Chaetoceros calcitrans (piste 1) ne présente que deux bandes de faible poids moléculaire. De plus, leur somme est inférieure à 1800 pb et, de ce fait, aucune conclusion ne peut être dégagée.

Le profil obtenu pour *C. calcitrans f. pumilum* (piste 2) montre également deux bandes dont la somme dépasse cependant 1800 pb. Il s'agit donc ici d'une digestion partielle.

Le profil de *C. gracilis* (piste 3) correspond à son profil théorique confirmant le résultat précédent obtenu avec *AluI*.

Diacronema vlkianum a un profil (piste 4) identique au profil théorique de *C. calcitrans f. pumilum*.

Chaetoceros sp. tenuissimus like présente un profil (piste 5) identique au profil théorique de *C. calcitrans f. pumilum*, ce qui corrobore le résultat précédent obtenu avec *AluI*.

Le profil obtenu pour *Imantonia rotunda* (piste 6) correspond bien au profil théorique de cette même espèce.

Les profils de *Pavlova lutheri* (piste 8), *Rhodomonas salina* (piste 9) et *Skeletonema costatum* (piste 10) sont inexploitables. En effet, seules une ou deux bandes sont visibles et ne correspondent à aucun profil théorique.

Tetraselmis chui (piste 11) et *T. striata* (piste 12) présentent des profils identiques mais différent de celui obtenu pour *T. suecica* (piste 13). En outre, le profil de cette espèce correspond bien à celui attendu.

Enfin, le profil obtenu pour *Thalassiosira pseudonana* (piste 14) ne fait apparaître que trois bandes de faible poids moléculaire et, de ce fait, aucune conclusion ne peut être dégagée.

Comparée à *AluI*, *HhaI* apparaît être une enzyme de restriction de moindre performance puisque certaines digestions sont partielles ou d'autres, au contraire, drastiques.

L'ensemble des résultats est consigné dans le tableau 12 suivant :

Tableau 12 : Comparaison des profils des études présente et antérieure (Rousseau, 1999), entre elles, et avec les profils théoriques : X = non interprétable ; nr = non réalisé.

Microalgue	Enzyme			Identification
	Alu1		Hha1	
	Présente étude	Etude antérieur	Présente étude	
<i>Chaetoceros calcitrans (Ccal)</i>	Ccp	Ccal	X	erroné
<i>C. calcitrans f. pumilum (Ccp)</i>	Ccal	Ccp	X	erroné
<i>Chaetoceros gracilis (Cgra)</i>	Cgra	n r	Cgra	exact
<i>Diacronema vlkianum</i>	Ccal	n r	Ccp	<u>nouvelle espèce ?</u>
<i>Chaetoceros sp. tenuissimus like</i>	Ccp	n r	Ccp	<u>nouvelle espèce ?</u>
<i>Imantonia rotunda (Ima)</i>	X	n r	Im r	exact
<i>Isochrysis affinis galbana (T iso)</i>	n r	T iso	n r	
<i>Pavlova lutheri (Pav l)</i>	X	X	X	erroné
<i>Rhodomonas salina (Rs)</i>	Rs	Rs	X	exact
<i>Skeletonema costatum (Sc)</i>	Spc	Spc	X	erroné
<i>Tetraselmis chu (T ch)</i>	T sp	T sp	T sp	exact
<i>Tetraselmis striata (T st)</i>	T sp	T sp	T st	exact
<i>Tetraselmis suecica (T su)</i>	T sp	T sp	T sp	exact
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	X	X	X	

<i>Pavlova gyrans</i>	Pav g
<i>Imantonia rotunda</i>	Im r
<i>S. pseudocostatum</i>	Spc
<i>Tetraselmis sp.</i>	T sp

VI. Ecotolérance des microalgues fourrage

L. Le Déan et R. Kaas
Ifremer, LPBA Nantes



Incubateur (New Brunswick Scientific G25), Laboratoire de Production et de Biotechnologie de Nantes : photo L. Le Déan.

6.1. Matériels et méthodes

Les souches testées ont été fournies par le laboratoire LPI et sont originaires pour la plupart du CCAP (tableau 2). L'enrichissement des cultures était assuré par un apport de milieu de Conway (annexe 1) à raison de 1 mL^{-1} d'eau de mer. L'eau de mer naturelle, provenant de la zone côtière de St Malo, était préalablement vieillie à l'obscurité (un mois minimum) puis épurée par filtration sur cartouche à $0,22 \mu\text{m}$. Les cultures étaient maintenues en erlenmeyers de 250 mL contenant 150 mL d'eau de mer enrichie non ou d'eau de mer reconstituée ASM. Les cultures étaient alors placées dans deux incubateurs New Brunswick Scientific G25 où aucune régulation du pH n'était opérée.

Pour apprécier la tolérance des espèces aux paramètres environnementaux, la croissance phytoplanktonique a été préférée à la survie. Les critères retenus sont donc l'augmentation ou la baisse de la concentration cellulaire initiale. La croissance était mesurée à la cellule de Mallassez avec un dénombrement cellulaire automatique en analyse d'images sur logiciel Samba.

On sait que la qualité « biologique » de l'eau de mer naturelle fluctue au cours des saisons (quantité de nutriments, d'oligo-éléments, d'éléments traces....) et, de ce fait, l'eau de mer synthétique présente l'avantage de reproduire un même milieu tout au long des expériences et de faciliter ainsi l'analyse des résultats. Cependant, ces milieux reconstitués ne sont pas toujours adaptés aux algues marines (Decobecq, 1999). Par ailleurs, des observations conduites à l'écloserie d'Argenton tendent à montrer que certaines diatomées supportent mal l'agitation mécanique (Connan, comm. pers. 2003). Enfin, nous avons pu constater que sans apport de silicate, certaines diatomées se développaient dans des récipients en verre mais se dégradent dans des contenants en plastique. La nécessité de réaliser, pour ces expériences d'écotolérance, un apport de silicate, sous forme Na_2SiO_3 , a donc été vérifiée.

Des travaux préparatoires ont donc été conduits pendant 4 à 7 j pour apprécier l'influence de ces différents facteurs. Les conditions d'expériences étaient les suivantes : température et salinité constantes respectivement égale à 20°C et 35‰, agitation orbitale, intensité lumineuse et teneur en silicate variables avec des valeurs respectivement comprises entre 0 et 80 rpm, 50 et $150 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ et 0 et $40 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ eau de mer.

Les résultats issus de ces essais préliminaires ont servi à définir les conditions expérimentales suivantes utilisées au cours des expériences d'écotolérance: eau de mer naturelle (35‰) enrichie en milieu de Conway mais sans d'apport de silicate, absence d'agitation et intensité lumineuse maintenue à $50 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Deux extrêmes de température et de salinité ont été appliqués : 8 et 35°C pour les premiers et 5‰ et 40‰ pour les seconds. L'abaissement de salinité était obtenu par adjonction d'eau osmosée tandis que son élévation était opérée par ajout de NaCl.

Les expériences étaient conduites pendant 5j. Les critères de discrimination des espèces testées sont :

- La couleur de l'espèce ; microalgues brunes, rouges et vertes.
- L'adaptation à une agitation orbitale de 80 rpm préalablement testée.
- L'adaptation aux couples « salinité – température » suivants:

(40‰ et 8°C) - (5‰ et 8°C) - (40‰ et 35°C) - (5‰ et 35°C)

6.2. Résultats

Quelle que soit l'intensité lumineuse, l'eau de mer reconstituée ASM ne semble pas convenir à la culture de la plupart des espèces testées y compris des espèces considérées comme résistantes comme les *Tetraselmis* (tableau 13). Par ailleurs, on constate qu'en eau de mer naturelle un éclairage incident de $150 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ et une agitation orbitale de 80 rpm, est néfaste au développement de quatre diatomées à l'issue de quatre jours de culture : *Chaetoceros sp. tenuissimus like*, *C. calcitrans* forma *pumilum*, *Thalassiosira pseudonana* et *Skeletonema costatum* (tableau 13).

Espèces	Eclairage						
	$150 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$		$150 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$		$50 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$		
	eau mer naturelle		ASM		ASM		
	T0	T+96h	T0	T+96h	T0	T+120 h	T+168h
<i>Chaetoceros sp. tenuissimus like</i>	1192	1110	1252	1205	1465	194	0
<i>C. calcitrans</i> forma <i>pumilum</i>	1718	632	1758	1199	846	653	187
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	939	313	859	0	427	47	0
<i>Skeletonema costatum</i>	273	180	726	0	293	254	80
<i>Pavlova lutheri</i>					280	1898	
<i>Isochrysis galbana</i>	773	1319	606	1825			
<i>Chaetoceros mulleri</i>	600	779	760	1778			
<i>T-iso</i>	1272	5027	280	2544			
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	553	1226	720	1419			
<i>Rhodomonas salina</i>	120	560	147	340			
<i>Tetraselmis striata</i>	160	340	214	80	493	453	453
<i>Tetraselmis suecica</i>	140	467	673	293	220	227	254
<i>Tetraselmis chui</i>	320	467			380	134	134

Tableau 13 : Première série d'expériences préliminaires réalisées en eau de mer naturelle et en eau de mer reconstituée (ASM) à deux niveaux d'éclairages différents, avec une agitation orbitale de 80 rpm et sans apport de silice. La température et la salinité constantes étaient égales à 20°C et 35‰. Les valeurs grisées correspondent à des croissances de la concentration cellulaire.

Sans apport de silicate et en maintenant l'agitation à 80 rpm, une diminution sensible de l'intensité lumineuse (50 au lieu de $150 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) n'améliore pas la croissance de ces quatre diatomées (tableau 14). A l'inverse, sans agitation, leur développement est assuré (tableau 14). De plus, dans ce contexte expérimental (erlenmeyers en verre), l'adjonction de silicate ne semble pas nécessaire.

Tableau 14 : Deuxième série d'expériences préliminaires réalisées en eau de mer naturelle avec ou sans agitation orbitale (80 rpm), avec ou sans apport de silicate ($40\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$), sous éclairage incident de $50 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, température de 20°C et salinité de 35% . T0 : nombre de cellules par mL à l'inoculation. Les valeurs grisées correspondent à des croissances de la concentration cellulaire.

Eclairage $50 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$						
Espèces	agitation 80 tpm		sans agitation			
	Sans silice		Avec ajout silice		Sans silice	
	T0	T+168h	T0	T+144 h	T0	T+144 h
<i>Chaetoceros sp 'minus'</i>	1266	0	893	686	1485	2604
<i>C. calcitrans forma pumilum</i>	766	520	1126	3070	1152	2842
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	633	626	600	1152	546	1079
<i>Skeletonema costatum</i>	160	267	234	1405	120	1965
<i>Pavlova lutheri</i>	300	1432				
<i>Isochrysis galbana</i>	140	1064				
<i>Chaetoceros muelleri</i>	720	1412				
<i>T-iso</i>	500	2983				
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	819	1698				
<i>Rhodomonas salina</i>	340	913				
<i>Tetraselmis striata</i>	580	700				
<i>Tetraselmis suecica</i>	254	333				
<i>Tetraselmis chui</i>	227	566				

Les modalités expérimentales de notre étude ayant été définies, l'adaptation des différentes espèces aux conditions extrêmes de température et de salinité a été recherchée à travers deux expériences conduites à l'identique mais séparées dans le temps. Seule la concentration des inoculum (nombre de cellules à T0) diffère d'une expérience à l'autre (tableaux 15 et 16).

Tableau 15 : Influence des seuils extrêmes température/salinité sur la croissance de 13 microalgues fourrage (Exp. 1). Conditions d'expérience eau de mer naturelle sans apport de silicate, absence d'agitation, éclaircissement incident de 50 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. T0 : nombre de cellules par mL à l'inoculation. Les valeurs grisées correspondent à des croissances de la concentration cellulaire.

1ère Expérience écotolérance - durée 120 heures

Groupe	croissance avec agitation 80 rpm			T0	sal 40‰ - T°8	sal 5‰ - T°8	sal 40‰ - T°35	sal 5‰ - T°35
				nombre de cellules par mL				
Gr 1.1	<i>Chaetoceros sp "minus"</i>	brune		1712	946	507	1838	1838
	<i>C. sp tenuissimus like</i>	brune	non	1399	1179	560	0	0
	<i>C. calcitrans forma pumilum</i>	brune	non	147	939	899	0	0
	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	brune	non	373	307	140	0	0
	<i>Skeletonema costatum</i>	brune	non	200	1032	0	0	0
Gr 1.2	<i>Pavlova lutheri</i>	brune	oui	273	713	194	0	0
	<i>Isochrysis galbana</i>	brune	oui	74	147	254	0	0
	<i>Chaetoceros mulleri</i>	brune	oui	593	706	433	1618	433
	<i>T-iso</i>	brune	oui	307	507	134	1322	0
	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	brune	oui	483	486	207	1192	0
Gr 2	<i>Rhodomonas salina</i>	rouge	oui	40	194	60	0	0
Gr 3	<i>Tetraselmis striata</i>	verte	oui	167	40	427	40	60
	<i>Tetraselmis suecica</i>	verte	oui	140	267	214	140	34
	<i>Tetraselmis chui</i>	verte	oui	174	600	107	54	0

2ème Expérience écotolérance - durée 120 heures

Groupe	croissance avec agitation 80 rpm			T0	sal 40‰ - T°8	sal 5‰ - T°8	sal 40‰ - T°35	sal 5‰ - T°35
				nombre de cellules par mL				
Gr 1.1	<i>Chaetoceros sp "minus"</i>	brune		1345	803	0	3049	3000
	<i>C. sp tenuissimus like</i>	brune	non	912	250	110	0	0
	<i>C. calcitrans forma pumilum</i>	brune	non	833	1592	1172	0	0
	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	brune	non	401	400	0	0	0
	<i>Skeletonema costatum</i>	brune	non	207	580	0	0	0
Gr 1.2	<i>Pavlova lutheri</i>	brune	oui	1092	1126	912	0	0
	<i>Isochrysis galbana</i>	brune	oui	420	513	520	0	0
	<i>Chaetoceros mulleri</i>	brune	oui	496	560	300	1425	14
	<i>T-iso</i>	brune	oui	733	799	194	1066	0
	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	brune	oui	590	600	241	1412	0
Gr 2	<i>Rhodomonas salina</i>	rouge	oui	273	387	187	0	0
Gr 3	<i>Tetraselmis striata</i>	verte	oui	507	240	660	40	327
	<i>Tetraselmis suecica</i>	verte	oui	194	720	333	127	94
	<i>Tetraselmis chui</i>	verte	oui	460	560	214	147	100

Tableau 16 : Influence des seuils extrêmes température/salinité sur la croissance de 13 microalgues fourrage (Exp. 2). Conditions d'expérience eau de mer naturelle sans apport de silicate, absence d'agitation, éclaircissement incident de 50 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. T0 : nombre de cellules par mL à l'inoculation. Les valeurs grisées correspondent à des croissances de la concentration cellulaire.

Les résultats de ces deux expériences sont reproductibles.

Le critère couleur de l'espèce permet d'identifier trois groupes [Gr 1 – Gr 2 – Gr 3].

1. Le groupe microalgue brune [Gr 1].

Ce groupe peut être subdivisé en deux sous-groupes : les espèces qui ne présentent pas de croissance de la densité cellulaire avec une agitation orbitale de 80 rpm [Gr 1.1] et celles qui supporte cette agitation [Gr 1.2]. Ce critère permet en particulier de discriminer deux binômes de *Chaetoceros* : *C. sp. tenuissimus like* et *C. calcitrans forma pumilum* d'une part [Gr 1.1] et *C. muelleri* et *C. calcitrans* d'autre part [Gr 1.2].

Au sein de [Gr 1.1], *C. calcitrans forma pumilum* et *S. costatum* sont les seules espèces qui présentent une croissance cellulaire à (8°C et 40‰), *C. forma pumilum* ayant également une croissance à (5‰ et 8°C).

Le plan d'expérience ne permet pas de discriminer les deux autres espèces de ce groupe *Chaetoceros. sp. tenuissimus like* et *Thalassiosira pseudonana*. Il n'y a aucune croissance cellulaire observée quelles que soient les conditions testées.

Au sein de [Gr 1.2], toutes les espèces ont une croissance cellulaire à (40‰ et 8°C) à l'exception de *C. calcitrans. Isochrysis galbana* est la seule pour qui cela se vérifie aussi à (5‰ et 8°C). Le plan d'expérience ne permet pas en revanche de discriminer *C. muelleri* et *T-iso* qui ont toutes les deux une croissance cellulaire à 40‰ aux deux températures testées.

2. Le groupe microalgue rouge [Gr 2].

Une seule espèce de microalgue de cette couleur (*Rhodomonas salina*) a été testée dans le cadre de cette expérience. On peut remarquer que la température de 35°C ne permet pas la culture de cette espèce. A 8°C une eau dessalée n'est pas adaptée, une eau légèrement sur-salée permet sa croissance cellulaire.

3. Le groupe microalgue verte [Gr 3].

Les trois espèces testées appartenant à ce groupe sont du genre *Tetraselmis*. Le plan d'expérience permet de discriminer les trois espèces : *T. striata* ne présente une croissance cellulaire qu'à (5‰ et 8°C), *T. suecica* à (5‰ et 8°C) et (40‰ et 8°C), *T. chui* uniquement à (40‰ et 8°C).

Ce plan d'expérience couplé au paramètre agitation permet de discriminer l'ensemble des microalgues testées à l'exception de deux couples [*Chaetoceros sp. tenuissimus like* et *Thalassiosira. pseudonana*] d'une part, et [*Chaetoceros muelleri* et *T-iso*] d'autre part, qui peuvent l'être aisément par un simple examen microscopique.

Conclusion générale

Ce travail avait pour but de vérifier d'une part la conformité des souches utilisées à l'écloserie d'Argenton (auprès de laquelle se fournissent la plupart des éclosiers commerciaux françaises) en comparant les espèces utilisées à celles issues d'une collection référencée. Un premier balayage avait été réalisé avant la mise en place de cette étude puisque sur les 45 espèces et clones détenus originellement, Argenton ne possédait plus que 15 espèces. La plupart de ces dernières ayant leur équivalent en collection référencée notre souche est désormais parfaitement identifiée. D'autre part, la confrontation de plusieurs approches, caractéristique de la croissance et de taille, description cytomorphologique, établissement des profils biochimique et biomoléculaire, écotolérance, signature cytofluorimétrique, pour discriminer les différentes espèces de microalgues fourrage a été globalement couronnée de succès. Seule cette dernière technique n'a pas permis de caractériser les espèces entre elles, les paramètres mesurés en cytométrie de flux étant particulièrement sensibles à l'état physiologique des microalgues, très variable d'un échantillon à un autre. Nous disposons dorénavant d'une méthode d'identification qu'il serait souhaitable de transférer, au niveau national voire international, auprès des organismes en charge des collections. De plus, nous disposons dorénavant de données pertinentes pour établir pour chacune des microalgues d'intérêt aquacole une véritable carte d'identité.

Références bibliographiques

- Adachi M., Y. Sako, Y. Ishida, 1994. Restriction fragment length polymorphism of ribosomal DNA internal transcribed spacer and 5,8S regions in Japanese *Alexandrium* species (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 30, 857-863.
- Barrett S.M., Volkman J.K., Dunstan G.A., LeRoi J.M., 1995. Sterols of 14 species of marine diatoms (bacilliarophyta). *J. Phycol.* 31, 360-369.
- Carr M.R., Tarran G.A., Burkhill P.H., 1996. Discrimination of marine phytoplankton species through the statistical analysis of their flow cytometric signatures. *J. Plankton Res.*, 18, 1225-1238.
- Cembella A.D., C. Destombe, 1996. Genetic differentiation among *Alexandrium* populations from Eastern Canada. *Harmful and Toxic Algal Blooms*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. Yasumoto, Oshima and Kukuyo, 447-450.
- Chrétiennot-Dinet M.J., Robert R. & His E., 1986. Utilisation des algues-fourrage en aquaculture. *Ann. Biol.*, 25 (2), 97-119.
- Chrétiennot-Dinet M.J., Vaultot D., Galois R., Spano A.M., Robert R., 1991. Analysis of larval oyster grazing by flow cytometry. *J. Shellfish Res.*, 10, 457-463.
- Collier A., Murphy A., 1962. Very small diatoms : preliminary notes and description of *Chaetoceros galvestonensis*. *Science*, 136, 780-781.
- Coutteau P., Sorgeloos P., 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs : an international survey. *J. Shellfish Res.*, 11 (2), 467-476.
- De Vienne D., 1998. Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. INRA, 200 pp.
- Donalson J., 1991. Commercial production of microalgae at Coast Oyster Company. Rotifer and microalgae culture systems. *Proceedings of a U.S.-Asia Workshop*. Honolulu, H : 229-236.
- Doyle J.J., Doyle J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin*, 19, 11-15.
- Decobecq S., 1999. Optimisation des conditions de culture de la micro-algue *T-Iso* (*Tahiti Isochrysis affinis galbana*). Rapport de stage d'ingénieur, 2^e année, Université de Compiègne, 59pp.
- Folch J., Lees, M. Sloane Stanley G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 266, 497-509.
- Gladu P.K., Patterson G.W., Wickfors G.H., Luby W.R., 1991. Free and combined sterols of *Pavlova gyraus*. *Lipids* 26, 656-659.
- Hasle G.R., Syvertsen E.E., 1996. Marine Diatoms. *In* : Identifying marine diatoms and dinoflagellates, (C. Tomas ed.), vol. I, Academic Press, Inc., San Diego, p. 1-385.
- Holden M.J., Patterson G.W., 1991. Absence of sterol biosynthesis in oyster tissue culture. *Lipids* 26, 81-82.
- Holfstraat J.W., van Zeijl W.J.M., Peeters J.C.H., Peperzack L., 1990. Flow cytometry and other optical methods for characterization and quantification of phytoplankton in seawater. *Environnement and Pollution Measurement Sensors and Systems*, 1269, 116-132.
- Holfstraat J.W., Vreeze M.E.J., Zeijl van W.J.M., Perperzak L., Peeters J.C.H., Balfourt H.W., 1991. Flow cytometry discrimination of phytoplankton classes by fluorescence emission and excitation properties. *J. Fluorescence*, vol 1, 249-265.
- Hong Y.K., C.H. Sohn, K.W. Lee, H.G. Kim, 1997. Nucleic acid extraction from seaweed tissues for polymerase chain reaction. *Journal of Marine Biotechnology*, 5, 95-99.

- Hustedt F., 1930. Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Dr.L. Rabenhorsts Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, 7 (1): 1-920.
- Lemmermann E., 1898. Der grosse Waterneverstorfer Binnensee. Eine biologische Studie. Forschungsber. Biol. Station Plön, 6 (2), 166-205.
- Mansour M.P., Volkman J.K., Blackburn S.I., 2003. The effect of growth phase on the lipid class, fatty acid and sterol composition in the marine dinoflagellate, *Gymnodinium* sp. in batch culture. *Phytochemistry* 63, 145-153.
- Marino D., Giuffré G., Montresor M. & Zingone A., 1991. An electron microscope investigation on *Chaetoceros minimus* (Levander) comb. nov. and new observations on *Chaetoceros thronsenii* (Marino, Montresor et Zingone) comb. nov. *Diatom Research*, 6, 317-326.
- Marty Y., 1976. Méthode de dosage des acides gras libres dissous dans l'eau de mer. Application à l'étude de leurs variations dans les eaux de la rade de Brest. Thèse de spécialité, Université de Bretagne Occidentale, 50pp.
- Meunier A., 1913. Microplancton de la Mer Flamande. 1ère partie : le genre *Chaetoceros* Ehr. Mémoires du Musée Royal d'Histoire Naturelle de Belgique. 7 (2), 1-49.
- Olson R.J, Zettler E.R, Anderson O.K, 1989. *Cytometry*, 10, 636-643.
- Ostenfeld C.H., 1901. Phytoplankton fra det Kaspiske Hav (Phytoplankton from the Caspian Sea). Videnskablige Meedeleser fra den naturhistoriske Forening i København 1901, 129-139.
- Ostenfeld C.H., 1910. List of diatoms and flagellates. Meedeleser om Grønland 43 : 259-285.
- Patterson G.W., Tzitzia-tzardis E., Wikfors G.H., Gladu P.K., Chitwood D.J., Harrison D., 1994. Sterols and alkenones of *Isochrysis*. *Phytochemistry* 35, 1233-1236.
- Paulsen O., 1905. On some Peridineae and Plankton-Diatoms. Meedeleser fra Kommissionen for Havundersøgelser, Serie Plankton 1 (3), 1-7.
- Ponis E., Parisi G., Robert R., 2002. Valeur alimentaire de *Tetraselmis striata* et *T. chui* pour les larves de *Crassostrea gigas*. *Haliotis*, 31, 57-62.
- Rines J.E.B., Hargraves P.E., 1988. The *Chaetoceros* Ehrenberg (Bacillariophyceae) Flora of Narragansett Bay, Rhode Island, USA. *Bibliotheca Phycologica*, 79, 1-196.
- Robert R, Trintignac P, 1997. Microalgues et nutrition larvaire en éclosion de mollusques. *Haliotis*, 26, 1-13.
- Roussot O., 1999. Caractérisation moléculaire des micro-algues fourrage utilisées en conchyliculture. Mémoire de DAA et DEA, Université de Brest et Rennes, 19p.
- Sambrook J., E.F. Fritch, T. Maniatis, 1989. *Molecular cloning : a laboratory Manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, vols. 1-3.
- Scherrer, 1984. *Biostatistiques*
- Scholin C.A., Anderson D.M., 1994. Identification of group- and strain-specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). RFLP analysis of SSU rDNA genes. *Journal of Phycology*, 30, 744-754.
- Scholin C.A., D.M. Anderson, 1996. LSU rDNA-based RFLP assays for discriminating species and strains of *Alexandrium* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 32, 1022-1035.
- Schütt F., 1895. Arten von *Chaetoceros* und *Peragallia*. Ein Beitrag zur Hochseeflora. *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, 13, 35-48.
- Sogin M.L., 1990. Amplification of ribosomal RNA genes for molecular evolution studies. *PCR Protocols : A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, 37, 307-314.
- Soudant P., Val Sanles M., Queré C., Le Coz J.R., Marty Y., Moal J., Samain J.F., Sorgeloos, P., 2000. The use of lipid emulsions for sterol supplementation of spat of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 184, 315-326.

- Spalter R.A., D. Walsch, R.A. Reeves, D.J. Saul, R.D. Gray, P.L. Bregquist, L. Mackenzieii, P.R. Bergquist, 1997. Sequence heterogeneity of the ribosomal RNA intergenic region *Alexandrium species*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 25, 3, 231-239.
- Takano H., 1968. On the diatom *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) emend. and its dwarf form *pumilus* forma nov. *Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*, 100, 35-43.
- Teshima S.I., Patterson G.W., 1981. Sterol biosynthesis in the oyster, *Crassostrea virginica*. *Lipids* 16, 234-239.
- Trider D.J., Castell J.D., 1980. Effect of dietary lipids on growth tissue composition and metabolism of the oyster (*Crassostrea virginica*). *Journal of Nutrition* 110, 1303-1309.
- Tsitsa-Tzardis E., Patterson G.W., Wickfors G.H., Gladu P.K., Harrison D., 1993. Sterols of *Chaetoceros* and *Skeletonema*. *Lipids* 28, 465-467.
- Vaulot D, Courties C, Partensky F, 1989. A simple method to preserve oceanic phytoplankton for flow cytometric analyses. *Cytometry*, 10, 629-635.
- Volkman J.K., Farmer C.L., Barrett S.M., Sikes E.L., 1997. Unusual dihydroxysterols as chemotaxonomic markers for microalgae from the order of Pavlovaales (Haptophyceae). *Journal of Phycology* 33, 1016-1023.
- Volkman J.K., Jeffrey S.W., Nichols P.D., Rogers G.I., Garland C.D., 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. exp. Mar. Biol. Ecol*; 128, 219-240.
- Walne P.R., 1966. Large scale culture of larvae *Ostrea edulis*. *Fisheries investigations*, Série 2, 25, 1-52.
- Zhu C.J., Lee Y.K., Chao T.M., 1997. Effects of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of *Isochrysis galbana* TK1. *Journal of Applied Phycology* 9, 451-457.

ANNEXE 1 : LA SOLUTION DE CONWAY

MILIEU DE BASE

Solution principale pour un litre :

Na ₂ EDTA	5 g
NaNO ₃	100 g
H ₃ BO ₃	33,6 g
NaH ₂ PO ₄	20 g
MnCl ₂ + 4H ₂ O	0,36 g
FeCl ₃ + 6H ₂ O	1,3 g
H ₂ O	1000 ml

Solution de traces de métaux 1 ml

Dosage : 1 ml par litre d'eau de mer

Solution de traces de métaux :

ZnCl ₂	2,1 g
CoCl ₂ + 6H ₂ O	2,0 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ + 4H ₂ O	0,9 g
CuSO ₄ + H ₂ O	2,0 g
Eau distillée	100 ml

Solution vitaminique :

Thiamine aneurine hydrochloride (B1)	200 mg
Cyanocobalamine (B12)	10 mg
Eau distillée	100 ml

Dosage : 0,1 ml par litre d'eau de mer

SOLUTION SILICATEE (pour les diatomées)

Na ₂ SiO ₃ + 5H ₂ O	4,g
Eau distillée	100 ml

Dosage : 1 ml par litre d'eau de mer

ANNEXE 2: LE COMPTEUR DE PARTICULES

Matériel :

Coulter Diluter DD III C, (Coultronics).
Coulter Counteur ZM, fine particle, (Coultronics).
Coulter Channelizer 256, (Coultronics).
Module de détection, stand II A, (Coultronics).

Méthodes :

Pour compter directement le nombre de particules, il faut que la concentration de l'échantillon traité soit inférieure à 100 000 particules dans 500 μ l. Il est donc régulièrement nécessaire d'utiliser le diluteur automatique (Coulter Diluter DD III C) qui permet de diluer les échantillons au 100^{ème} ou au 500^{ème}. Cette dilution est effectuée avec de l'eau de mer filtrée à 1 μ m.

L'échantillon dilué est placé dans le module de détection (stand II A) qui, couplé au Coulter Counter, permet de compter le nombre total de particules (algues et autres matières en suspension), d'un diamètre minimum (Dia T_L) jusqu'à un diamètre maximum (Dia T_U), dans un volume précis (Manometer select).

Le réglage des paramètres est le suivant :

Man.select : 500 μ l.

Diamètre de l'orifice (App.Dia) : 100 μ m.

A (atténuation) : 1 pour (*T.iso*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*)

4 pour *Rhodomonas salina*

8 pour *Tetraselmis suecica*

G (gain) : 1

I (position du commutateur de courant) : 1000

T_L (seuil bas) : 4.5

T_U (seuil haut) : 99.9

Kd (coefficient d'étalonnage en diamètre) : 14,97

La solution est aspirée au travers d'un orifice dans un tube. Le passage d'une cellule augmente momentanément la résistance électrique entre deux électrodes immergées. Cette différence de potentiel est proportionnelle au volume des particules. On obtient ainsi le nombre total de particules et sa distribution en taille dans les 500 μ l aspirés.

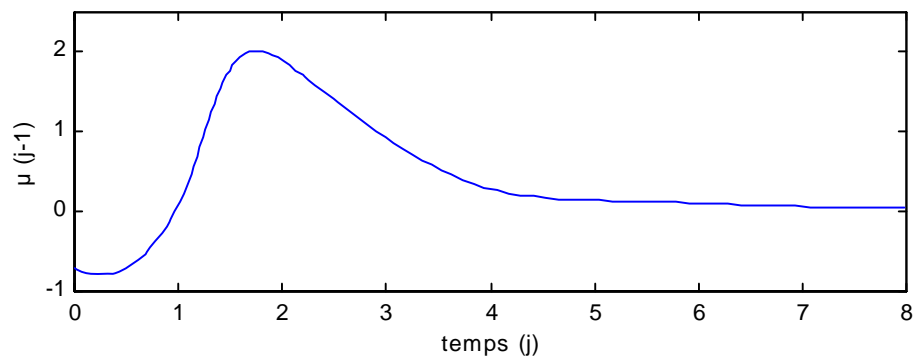
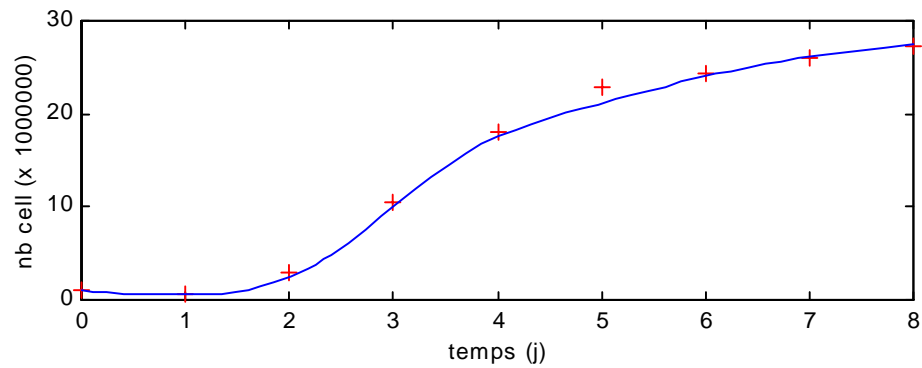
Le compteur compte un nombre précis de particules correspondant au diamètre sélectionné.

Il peut effectuer une correction d'erreur de comptage de 6% correspondant au passage simultané de deux particules en même temps (position corr.count).

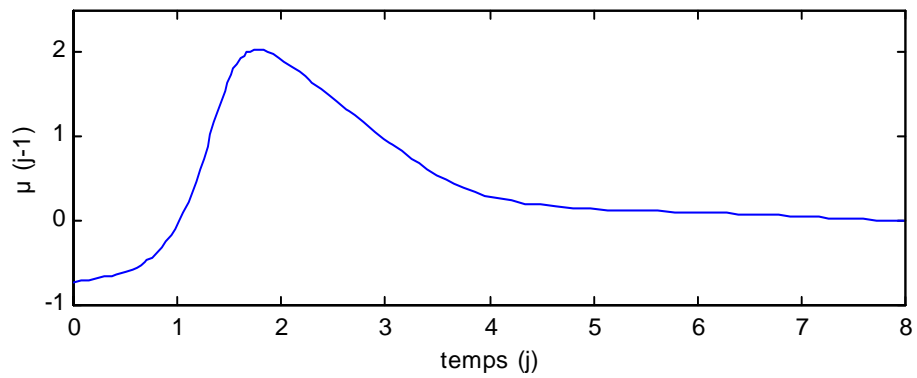
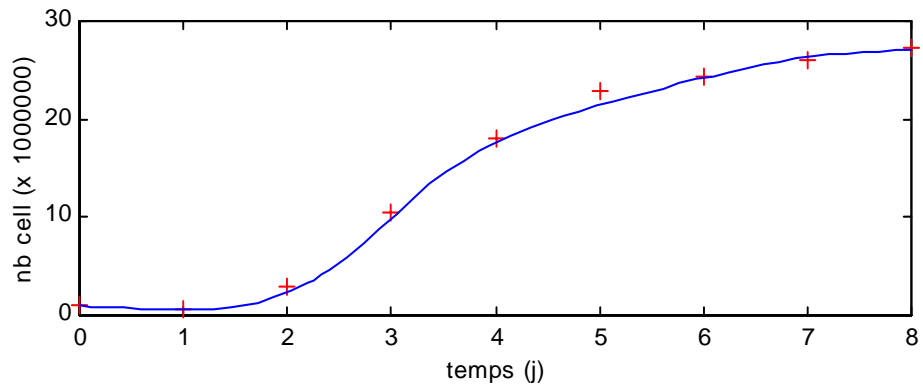
Le Channelyser permet la visualisation et la transcription de la répartition du nombre de particules en fonction de la taille. Les données sont alors transférées sur ordinateur où elles sont analysées.

ANNEXE 3 : CARACTERISATION CROISSANCE PHYTOPLANCTONIQUE MODELISATION

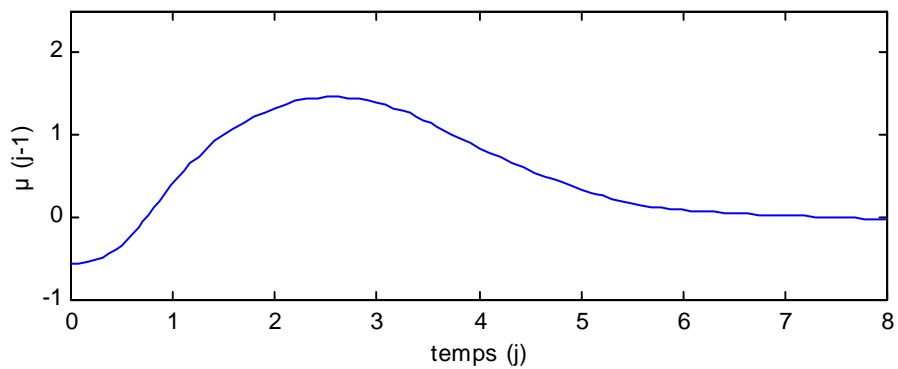
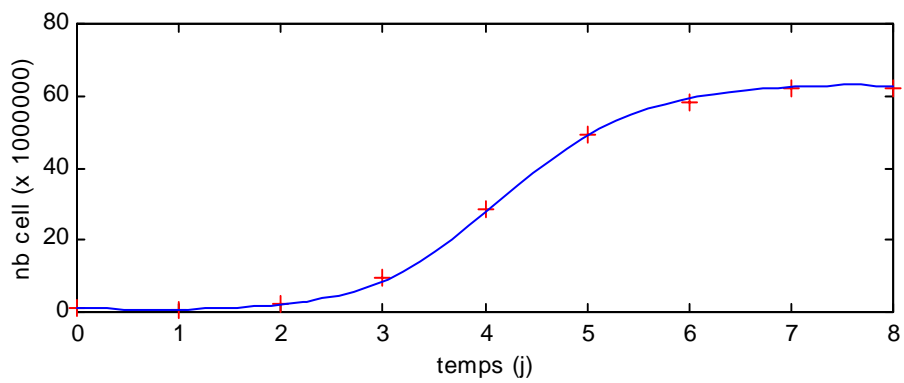
Chaetoceros calcitrans A : $\mu_{\max} = 2,02 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,80 j.



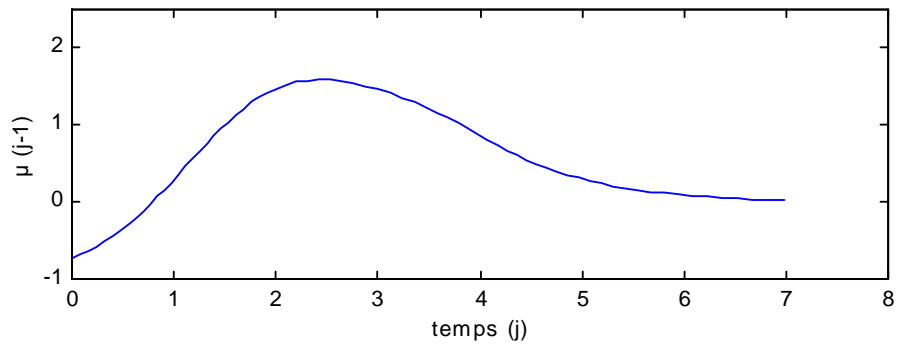
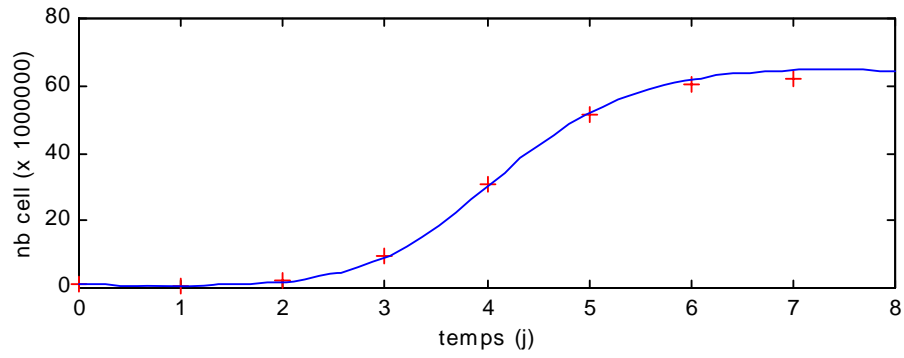
Chaetoceros calcitrans B : $\mu_{\max} = 2,03 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,80 j.



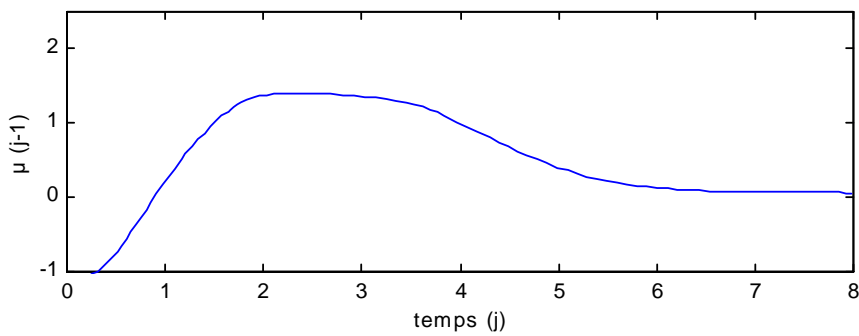
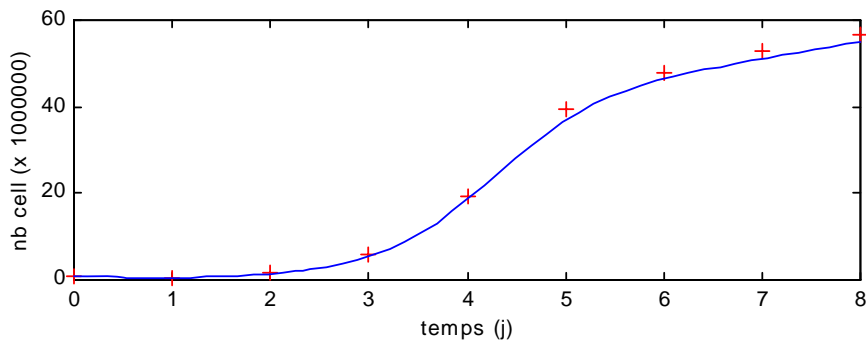
Chaetoceros sp. tenuissimus like A : $\mu_{\max} = 1,46 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 2,52 j.



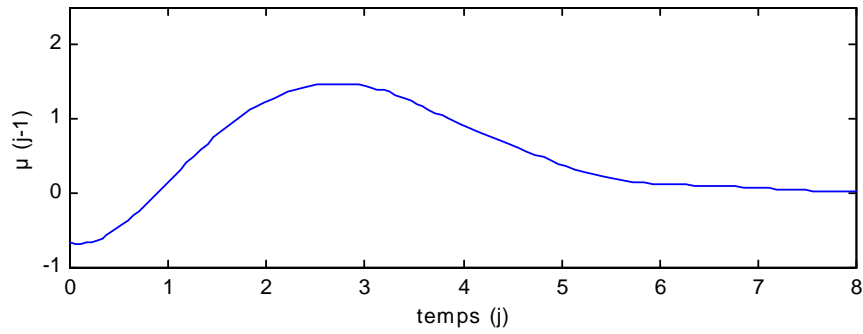
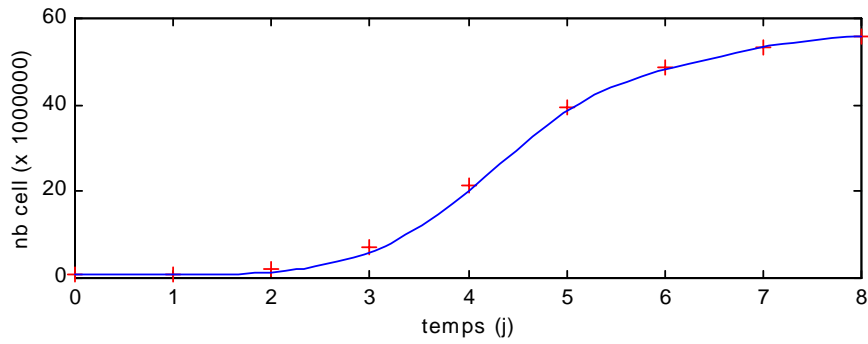
Chaetoceros sp. tenuissimus B : $\mu_{\max} = 1,59 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 2,41 j.



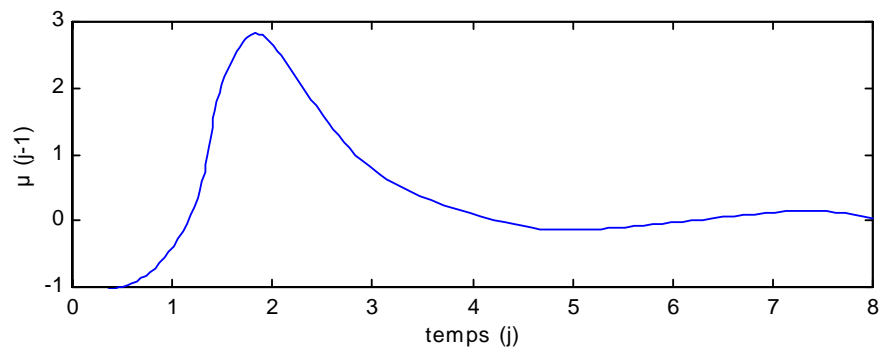
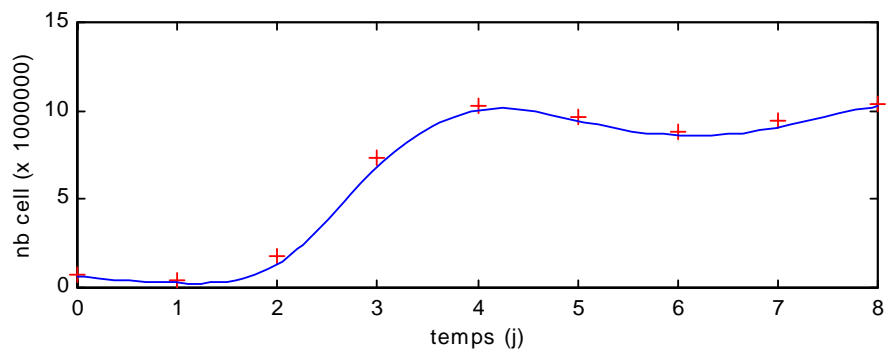
Chaetoceros calcitrans forma *pumilum* A : $\mu_{\max} = 1,40 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 2,36 j.



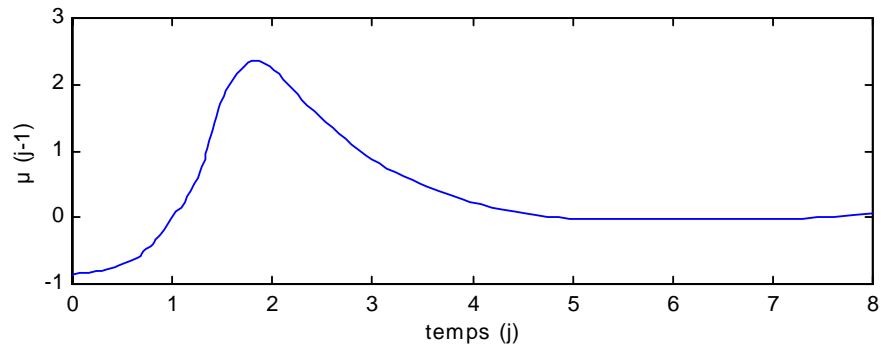
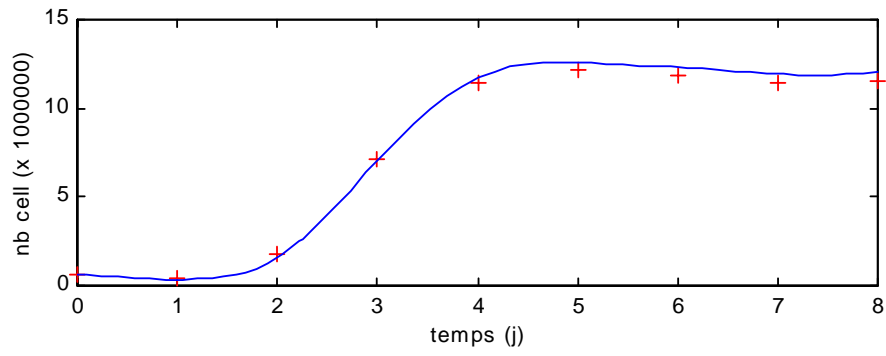
Chaetoceros calcitrans forma *pumilum* B : $\mu_{\max} = 1,48 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 2,73 j.



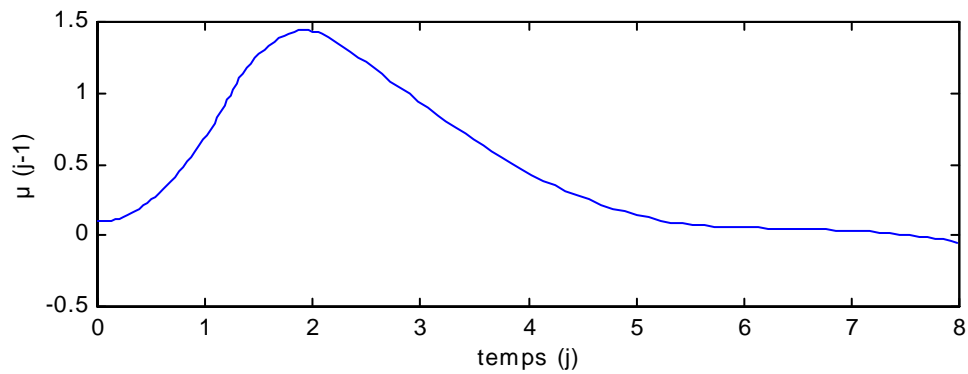
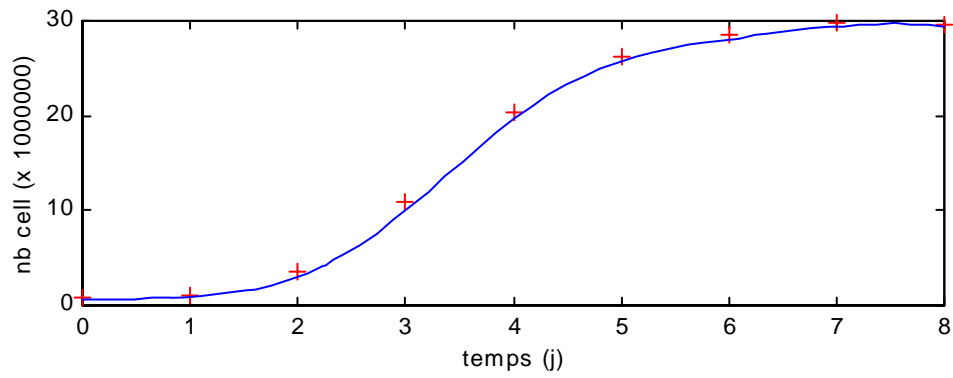
Thalassiosira pseudonana A : $\mu_{\max} = 2,82 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,83 j.



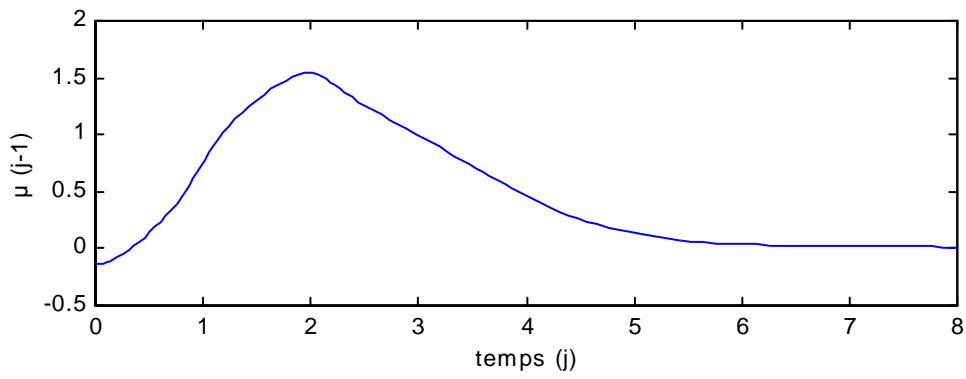
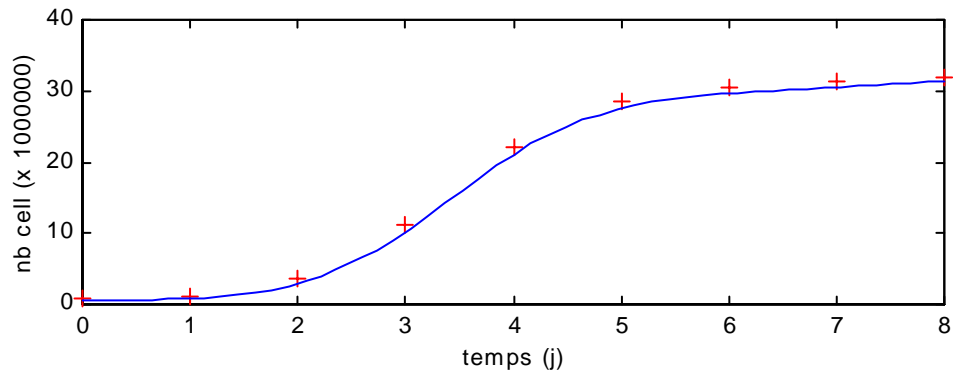
Thalassiosira pseudonana B : $\mu_{\max} = 2,36 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,83 j.



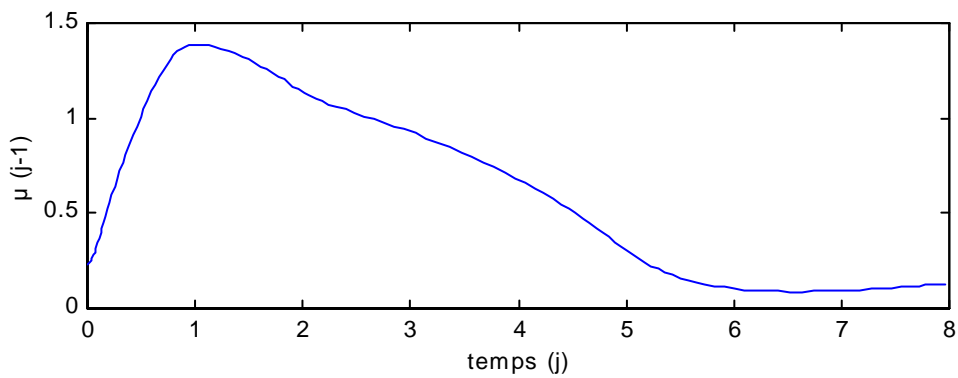
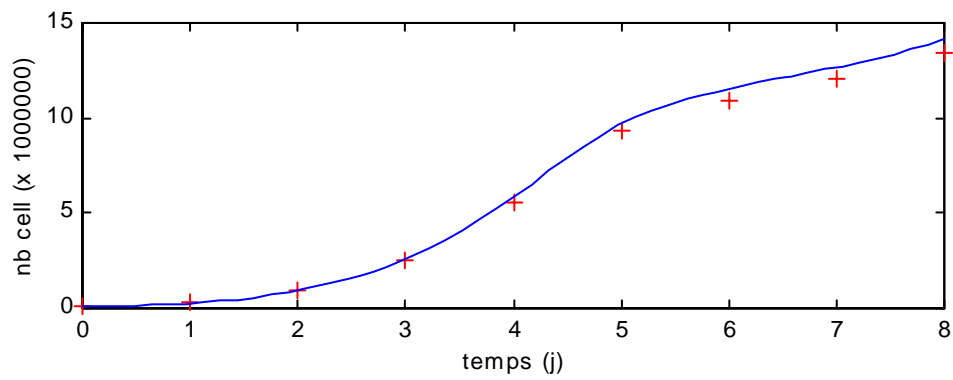
Chaetoceros gracilis A : $\mu_{\max} = 1,44 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,92 j.



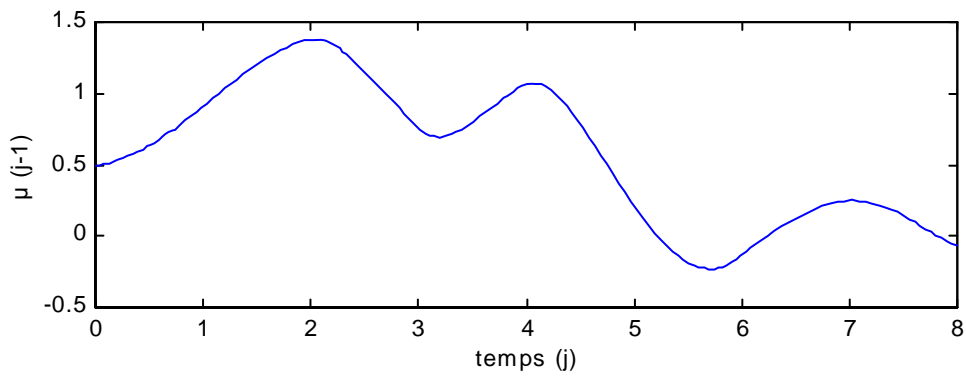
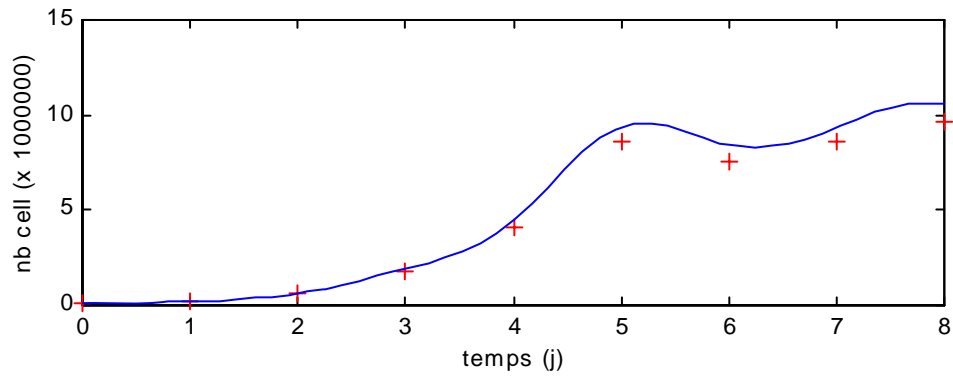
Chaetoceros gracilis B : $\mu_{\max} = 1,54 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,98 j.



Skeletonema costatum A : $\mu_{\max} = 1,38 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,03 j.

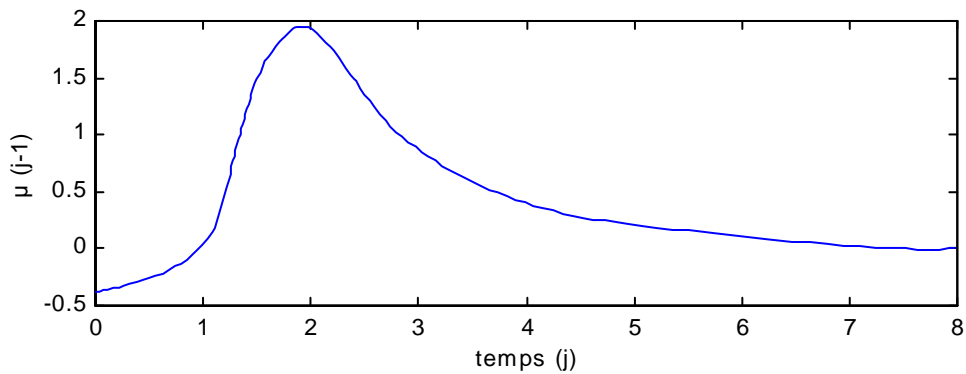
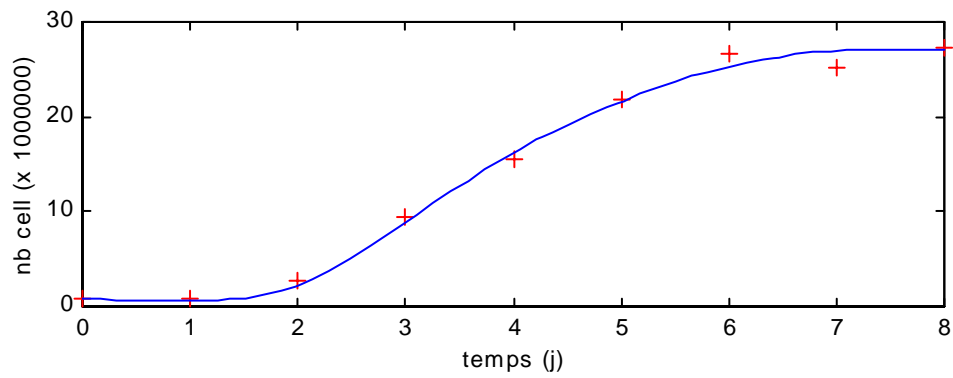


Skeletonema costatum B : $\mu_{\max} = 1,38 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 2,03 j.

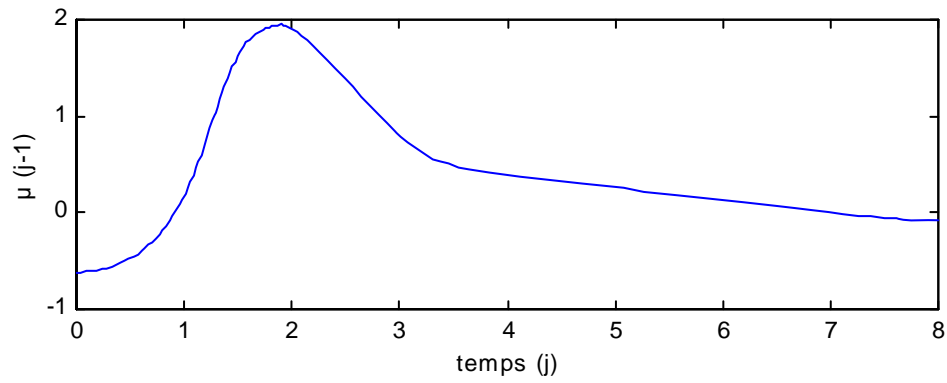
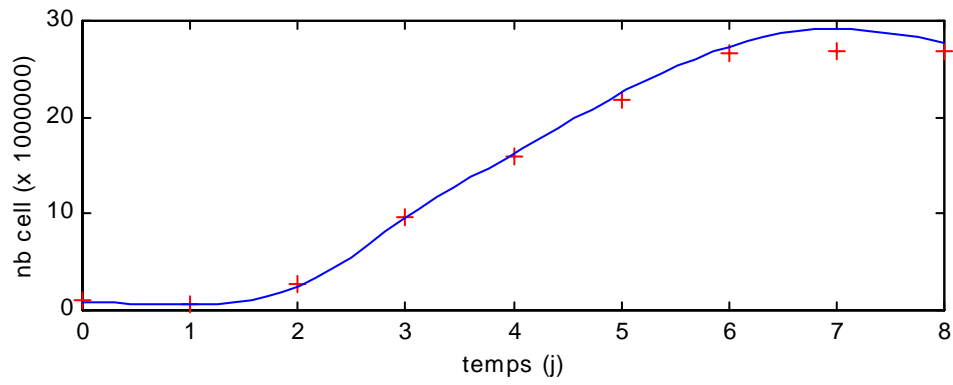


Modélisation de croissance de cultures issues d'Argenton (série 1 : A et B : 2001). Traitement G. Bougaran (Ifremer LPBA Nantes)

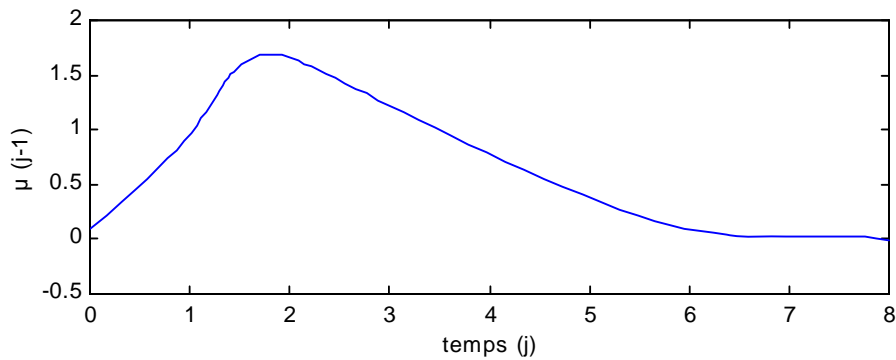
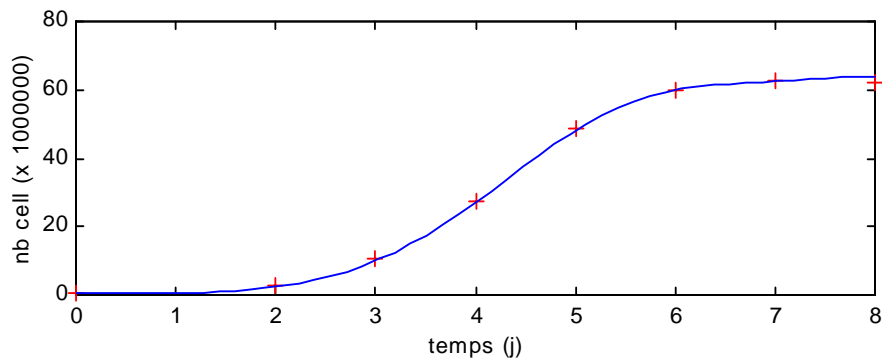
Chaetoceros calcitrans C : $\mu_{\max} = 1,95 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,9 j.



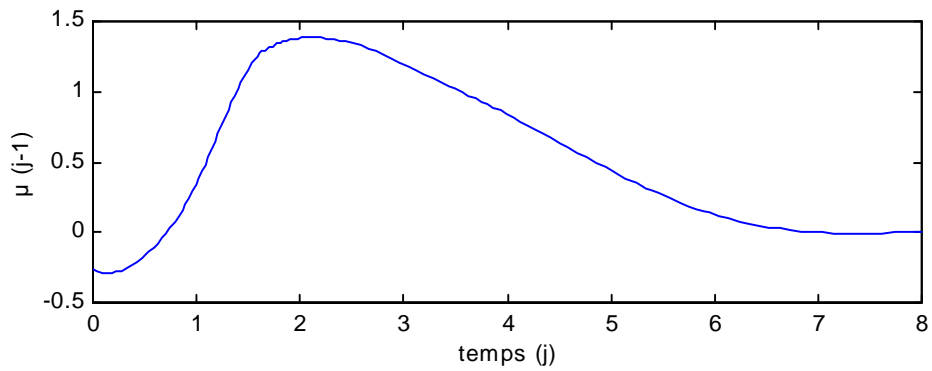
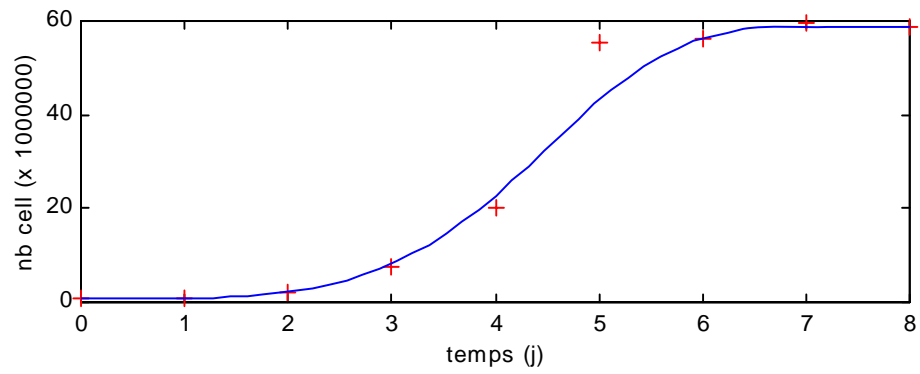
Chaetoceros calcitrans D : $\mu_{\max} = 1,95 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,9 j.



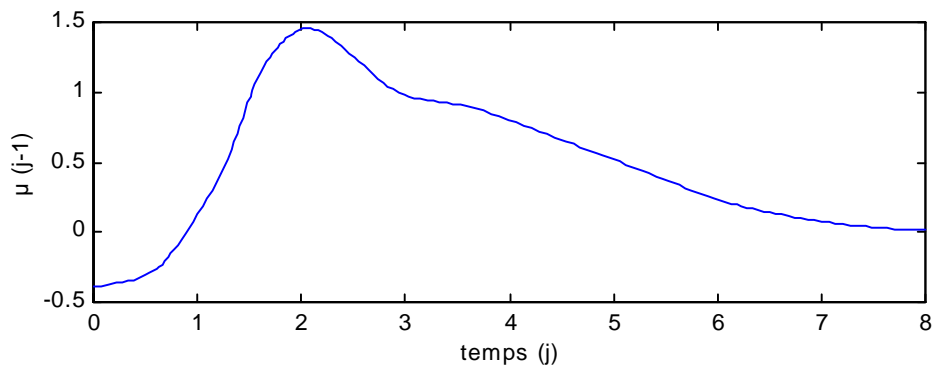
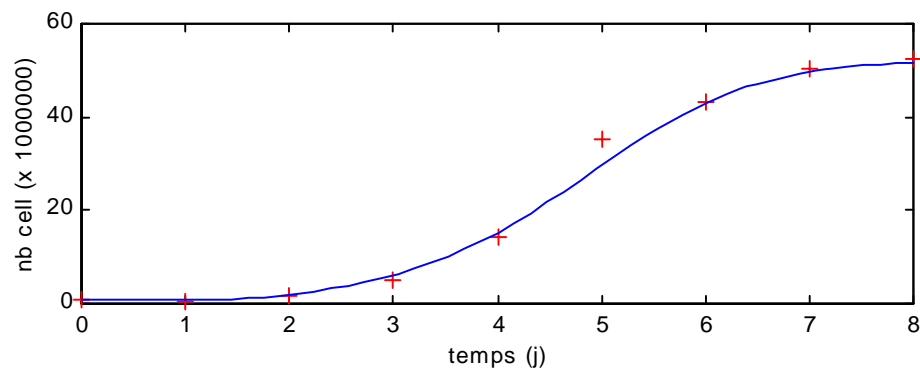
Chaetoceros sp. tenuissimus like C : $\mu_{\max} = 1,69 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,8 j.



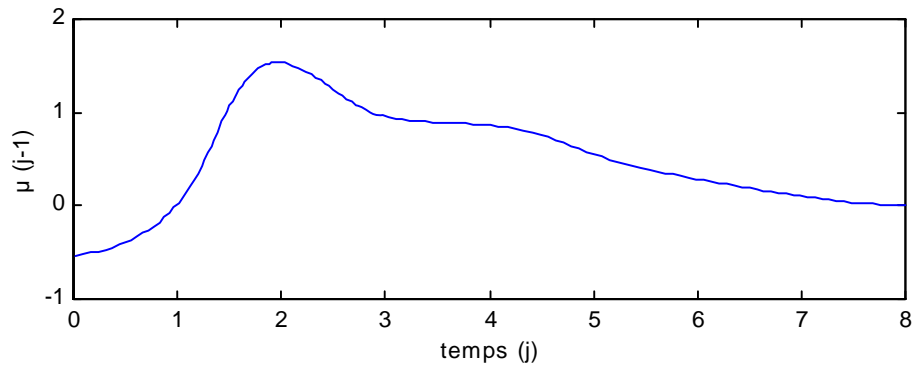
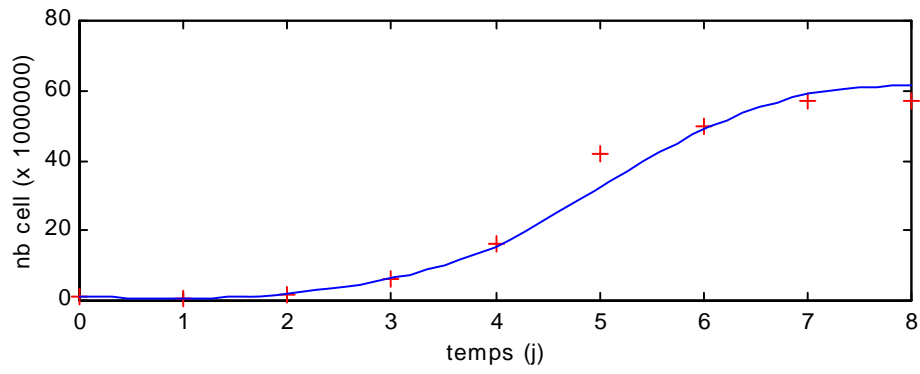
Chaetoceros sp. tenuissimus like D : $\mu_{\max} = 1,39 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 2,1 j.



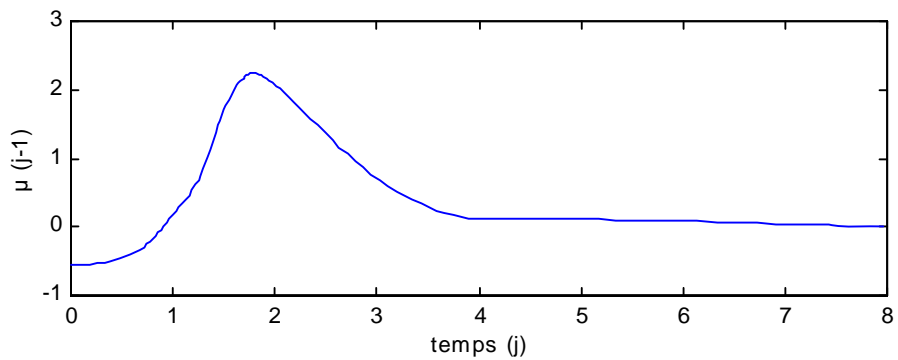
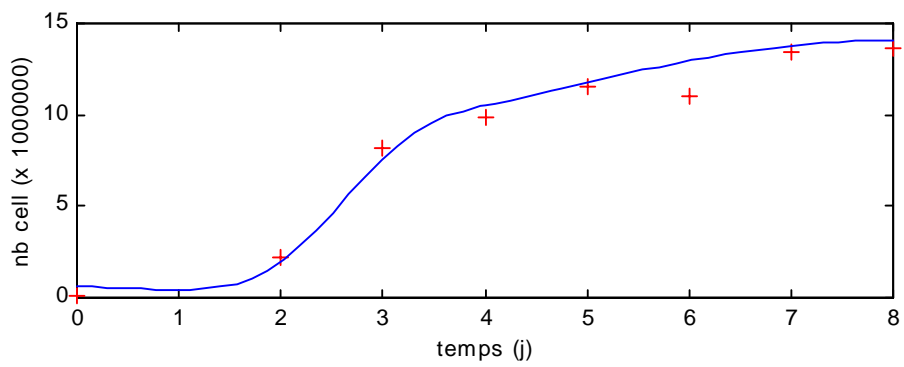
Chaetoceros calcitrans forma *pumilum* C : $\mu_{\max} = 1,45 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 2,0 j.



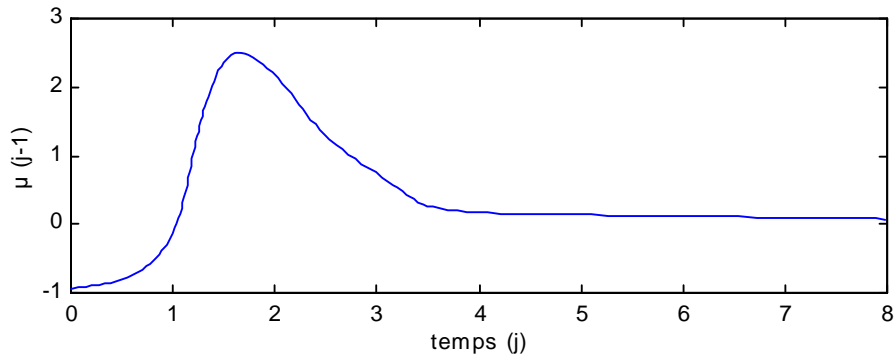
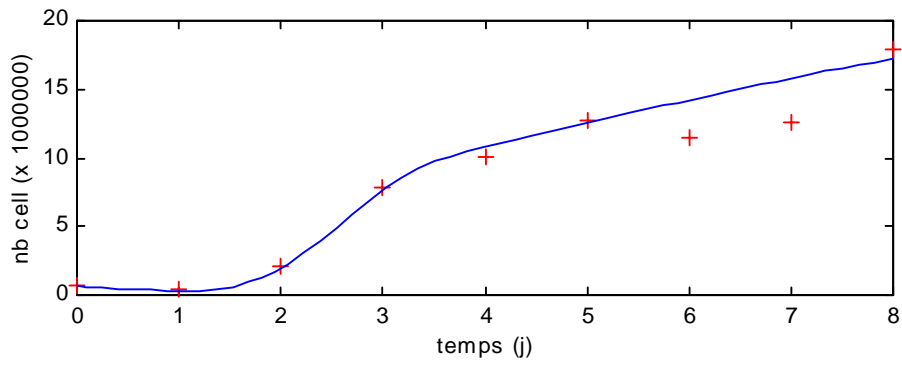
Chaetoceros calcitrans forma *pumilum* D : $\mu_{\max} = 1,54 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 2,0 j.



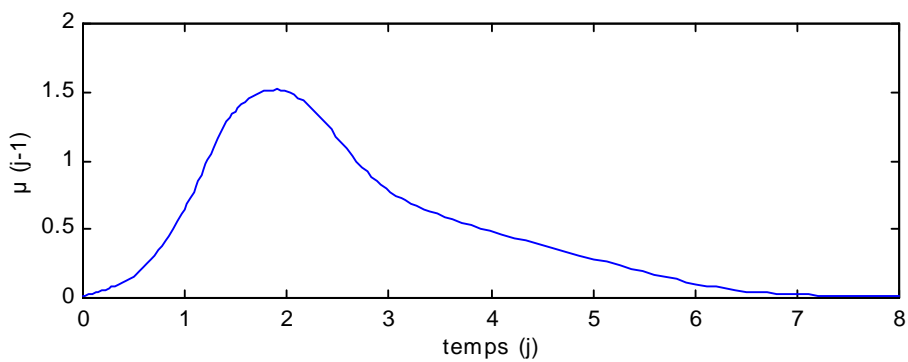
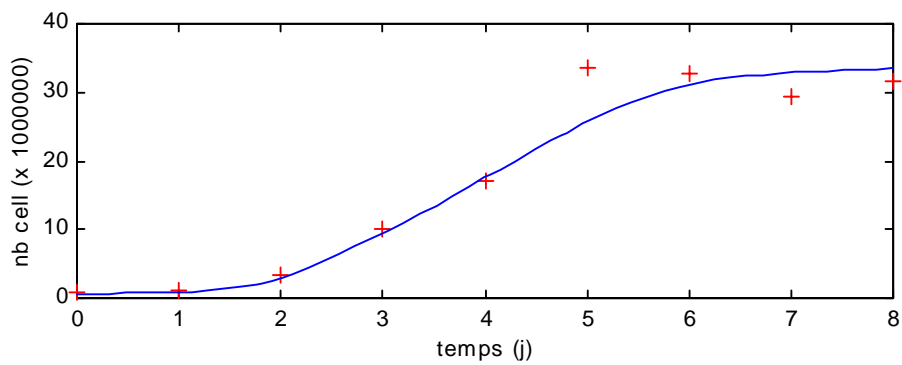
Thalassiosira pseudonana C : $\mu_{\max} = 2,24 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,8 j.



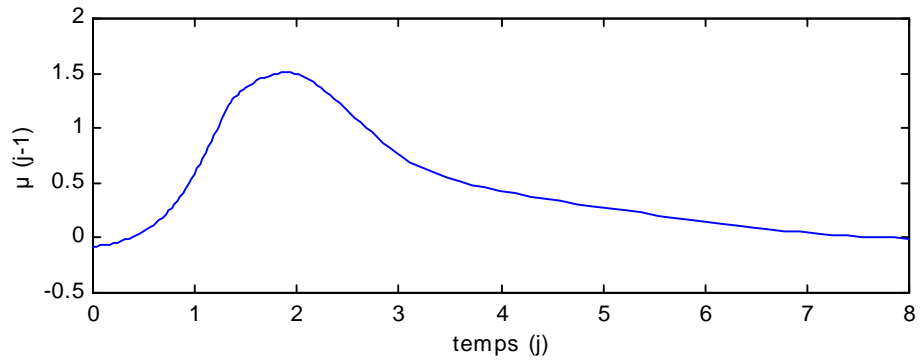
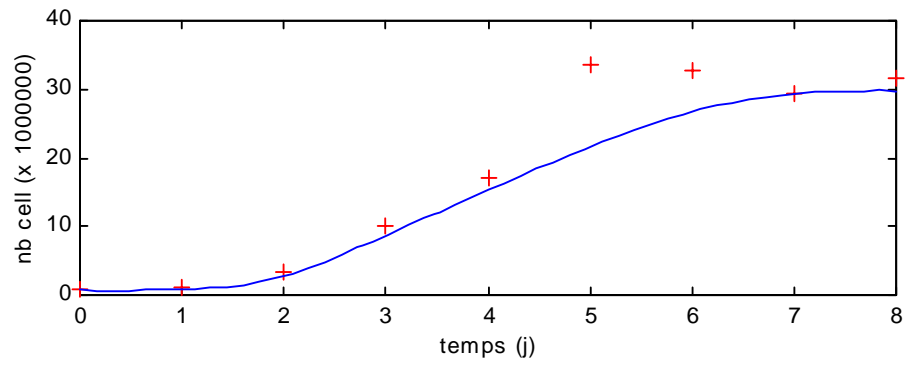
Thalassiosira pseudonana D : $\mu_{\max} = 2,50 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,6 j.



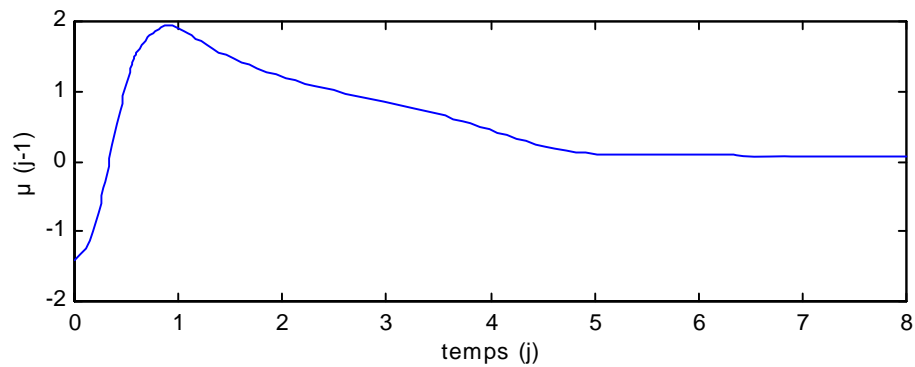
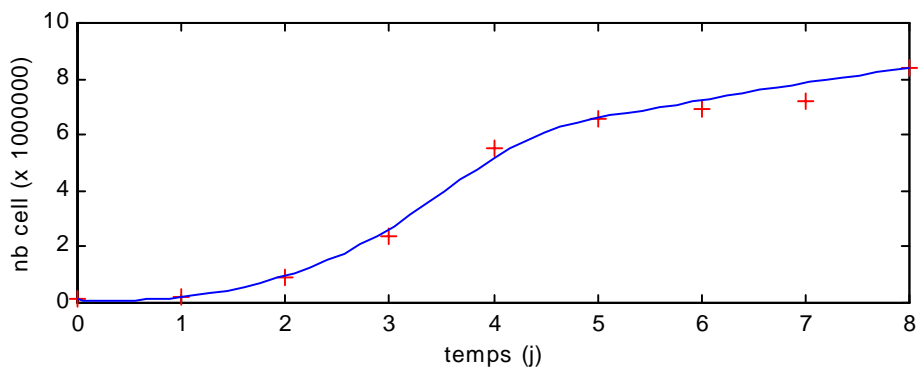
Chaetoceros gracilis C : $\mu_{\max} = 1,52 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,9 j.



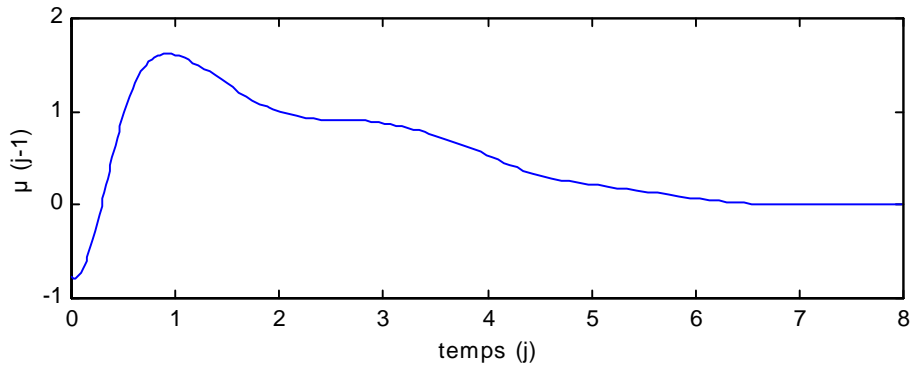
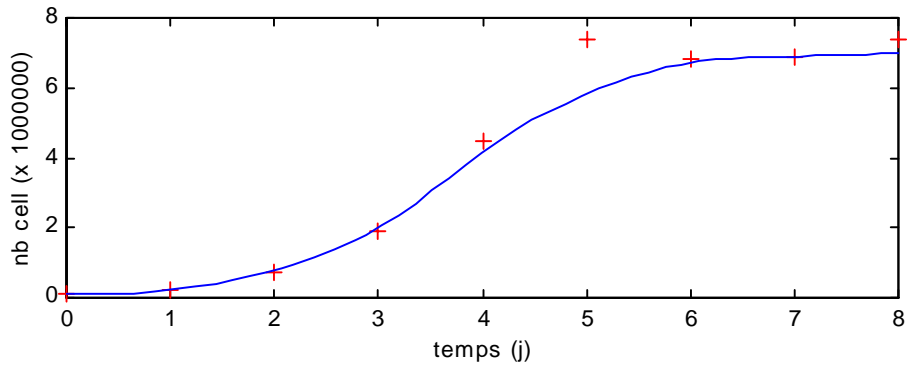
Chaetoceros gracilis D : $\mu_{\max} = 1,51 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 1,9 j.



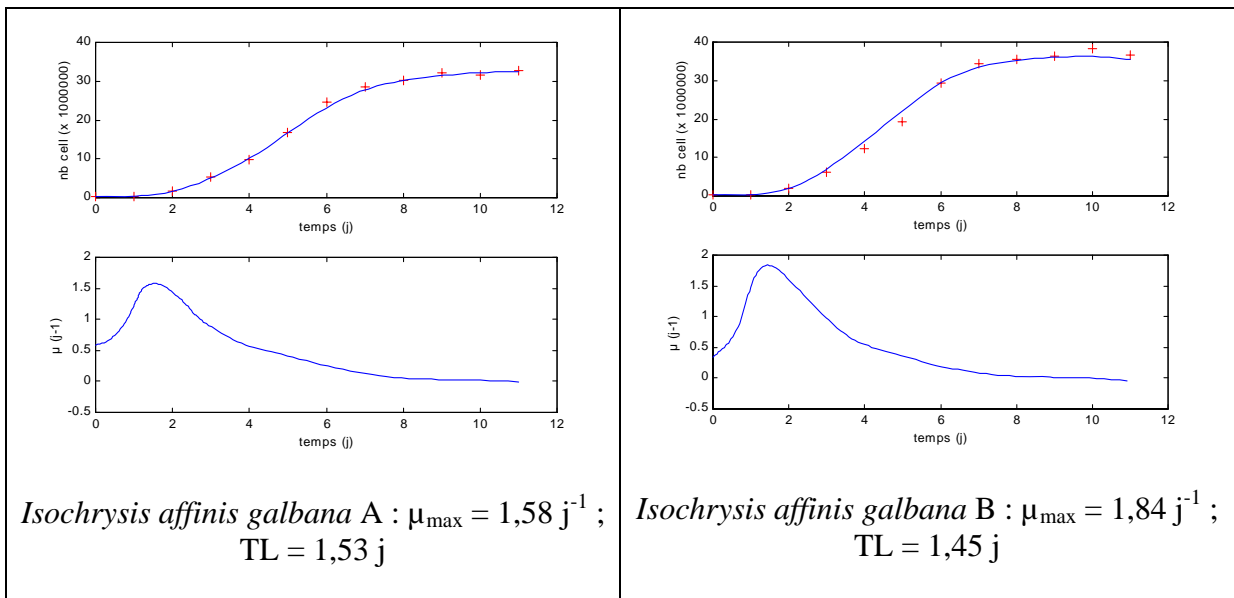
Skeletonema costatum C : $\mu_{\max} = 1,95 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 0,9 j.

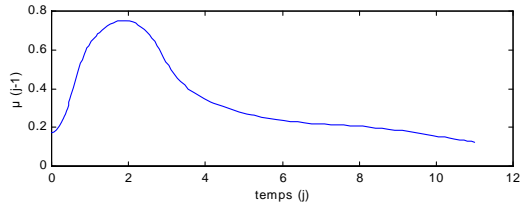
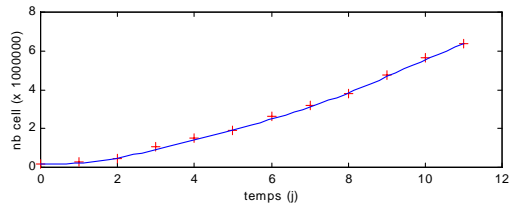


Skeletonema costatum D : $\mu_{\max} = 1,62 \text{ j}^{-1}$; Temps de latence = 0,9 j.

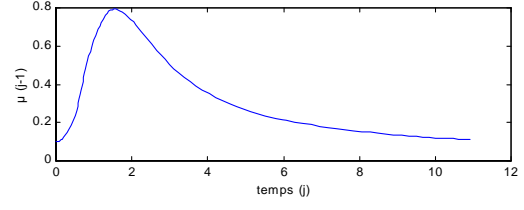
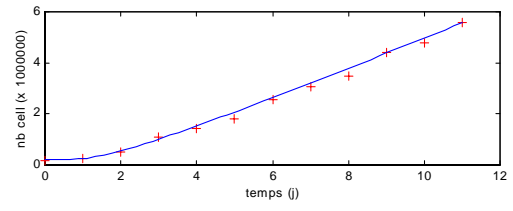


Modélisation de croissance de cultures issues d'Argenton (série 2 : C et D : 2001). Traitement G. Bougaran (Ifremer LPBA Nantes).

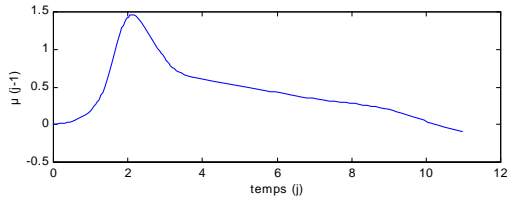
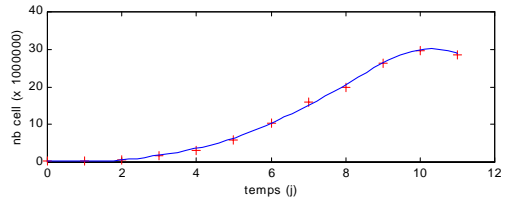




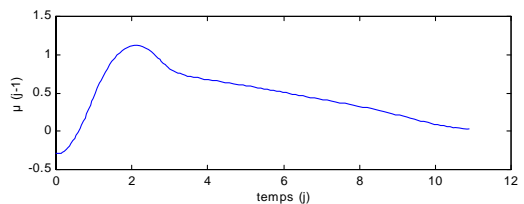
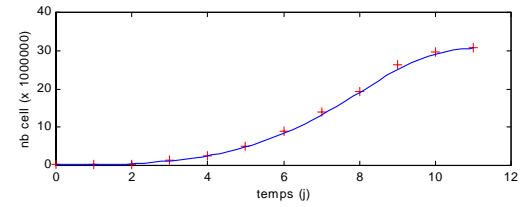
Isochrysis galbana A :
 $\mu_{\max} = 0,75 \text{ j}^{-1}$; TL = 1,87 j



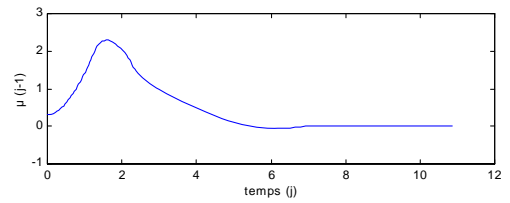
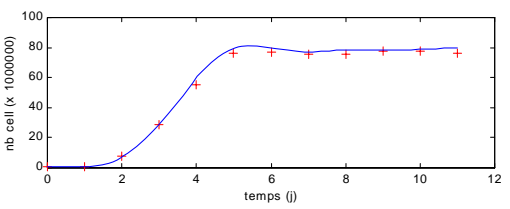
Isochrysis galbana B :
 $\mu_{\max} = 0,79 \text{ j}^{-1}$; TL = 1,53 j



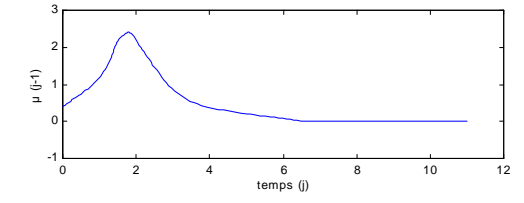
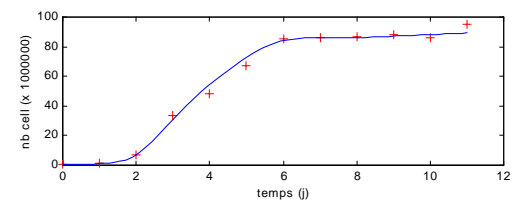
Pavlova lutheri A :
 $\mu_{\max} = 1,46 \text{ j}^{-1}$; TL = 2,13 j



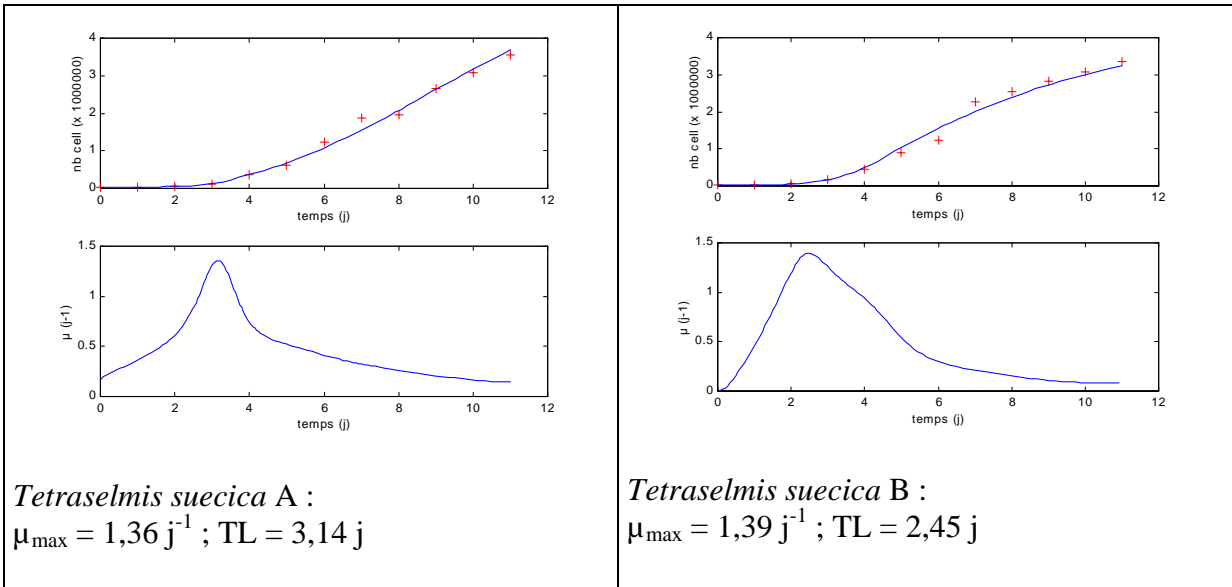
Pavlova lutheri B :
 $\mu_{\max} = 1,12 \text{ j}^{-1}$; TL = 2,11 j



Chaetoceros sp 'minus' A :
 $\mu_{\max} = 2,29 \text{ j}^{-1}$; TL = 1,57 j



Chaetoceros sp 'minus' B :
 $\mu_{\max} = 2,40 \text{ j}^{-1}$; TL = 1,78 j



Modélisation de croissance de cultures issues de la collection du CCAP (série 1 : A et B : 2002). Traitement G. Bougaran (Ifremer LPBA Nantes).

ANNEXE 4 : CARACTERISATION TAILLES MOYENNES

Jour	SOUCHE	Taille moyenne	Ecart-type
3	<i>I. aff. galbana</i> A S1	4.07	0.41
6	<i>I. aff. galbana</i> A S1	4.38	0.36
10	<i>I. aff. galbana</i> A S1	4.59	0.44
3	<i>I. aff. galbana</i> B S1	4.16	0.41
6	<i>I. aff. galbana</i> B S1	4.28	0.38
10	<i>I. aff. galbana</i> B S1	4.42	0.47
3	<i>I. aff. galbana</i> A S2	4.16	0.36
6	<i>I. aff. galbana</i> A S2	4.04	0.34
10	<i>I. aff. galbana</i> A S2	4.43	0.41
3	<i>I. aff. galbana</i> B S2	4.23	0.39
6	<i>I. aff. galbana</i> B S2	4.08	0.35
10	<i>I. aff. galbana</i> B S2	4.5	0.42
3	<i>I. galbana</i> A S1	4.82	0.49
6	<i>I. galbana</i> A S1	4.68	0.55
10	<i>I. galbana</i> A S1	4.38	0.44
3	<i>I. galbana</i> B S1	4.91	0.5
6	<i>I. galbana</i> B S1	4.6	0.52
10	<i>I. galbana</i> B S1	4.43	0.5
3	<i>I. galbana</i> A S2	4.82	0.5
6	<i>I. galbana</i> A S2	4.54	0.57
10	<i>I. galbana</i> A S2	4.6	0.58
3	<i>I. galbana</i> B S2	4.81	0.48
6	<i>I. galbana</i> B S2	4.55	0.57
10	<i>I. galbana</i> B S2	4.62	0.58
3	<i>P. lutheri</i> A S1	4.3	0.42
6	<i>P. lutheri</i> A S1	4.41	0.45
10	<i>P. lutheri</i> A S1	4.13	0.51
3	<i>P. lutheri</i> B S1	4.29	0.43
6	<i>P. lutheri</i> B S1	4.32	0.45
10	<i>P. lutheri</i> B S1	4.05	0.5
3	<i>P. lutheri</i> A S2	4.57	0.48
6	<i>P. lutheri</i> A S2	3.92	0.41
10	<i>P. lutheri</i> A S2	3.99	0.38
3	<i>P. lutheri</i> B S2	4.49	0.41
6	<i>P. lutheri</i> B S2	3.93	0.43
10	<i>P. lutheri</i> B S2	3.99	0.39

Tableau des tailles moyennes (diamètre équivalent en μm) d'*Isochrysis* aff. *galbana*, *Isochrysis galbana* et *Pavlova lutheri* (A et B) étudiées lors des séries 1 et 2 (2002: microalgues originaire du CCAP).

3	<i>T. suecica</i> A S1	8.7	0.94
6	<i>T. suecica</i> A S1	8.19	1.02
10	<i>T. suecica</i> A S1	7.97	0.89
3	<i>T. suecica</i> B S1	8.49	0.82
6	<i>T. suecica</i> B S1	8.75	1.1
10	<i>T. suecica</i> B S1	7.72	0.91
3	<i>T. suecica</i> A S2	9.45	1.09
6	<i>T. suecica</i> A S2	8.33	1.15
10	<i>T. suecica</i> A S2	8	1
3	<i>T. suecica</i> B S2	9.15	0.98
6	<i>T. suecica</i> B S2	7.96	1.19
10	<i>T. suecica</i> B S2	8.26	1.03
3	<i>R. salina</i> A S1	7.43	0.69
6	<i>R. salina</i> A S1	7.61	0.81
10	<i>R. salina</i> A S1	6.71	0.77
3	<i>R. salina</i> B S1	7.31	0.68
6	<i>R. salina</i> B S1	7.49	0.79
10	<i>R. salina</i> B S1	6.61	0.8
3	<i>C. "minus"</i> A S1	3.06	0.44
6	<i>C. "minus"</i> A S1	3.64	0.54
10	<i>C. "minus"</i> A S1	4.17	0.6
3	<i>C. "minus"</i> B S1	3.07	0.43
6	<i>C. "minus"</i> B S1	3.37	0.56
10	<i>C. "minus"</i> B S1	3.97	0.63

Tableau des tailles moyennes (diamètre équivalent en μm) de *Tetraselmis suecica*, *Rhodomonas salina* et *Chaetoceros minus* (A et B) étudiées lors des séries 1 et 2 (2002: microalgues originaire du CCAP).

ANNEXE 5 : ANOVA CARACTERISATION CROISSANCE

Effet : Série

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Espèce	1	0.003	0.003	0.001	0.976	0.001	0.05
Résidu	46	152.406	3.313				
T.iso	1	0.018	0.018	0.498	0.4964	0.498	0.096
Résidu	10	0.352	0.035				
I.galbana	1	0.001	0.001	0.04	0.8455	0.04	0.054
Résidu	10	0.3	0.03				
P.lutheri	1	0.031	0.031	0.581	0.4634	0.581	0.104
Résidu	10	0.533	0.053				
T.suecica	1	0.147	0.147	0.525	0.4851	0.525	0.098
Résidu	10	2.805	0.281				

Tableau ANOVA taille moyenne pour effet Série.

Effet : Phase

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
T.iso	1	0.257	0.257	22.649	0.0008	22.649	0.994
Résidu	10	0.113	0.011				
I.galbana	1	0.116	0.116	6.286	0.0311	6.286	0.618
Résidu	10	0.185	0.018				
P.lutheri	1	0.105	0.105	2.285	0.1616	2.285	0.266
Résidu	10	0.459	0.046				
T.suecica	1	1.092	1.092	5.871	0.0359	5.871	0.587
Résidu	10	1.86	0.186				
R.salina	1	0.853	0.853	65.894	0.0013	65.894	1
Résidu	4	0.052	0.013				
C.minus	1	0.696	0.696	7.41	0.0529	7.41	0.541
Résidu	4	0.376	0.094				

Tableau ANOVA taille moyenne pour effet Exponentielle et Stationnaire.

	Phase		Erreur standard	
	Exponentielle (ou crois 1)	Stationnaire (ou crois 2)	Exponentielle (ou crois 1)	Stationnaire (ou crois 2)
T.iso	4.175	4.485	0.041	0.039
I.galbana	4.716	4.507	0.05	0.06
P.lutheri	4.241	3.99	0.071	0
T.suecica	8.627	7.987	0.175	0.11
R.salina	7.46	6.66	0.071	0.05
C.minus	3.065	3.788	0.005	0.177

Taille moyenne en μm de chaque espèce, en phase exponentielle (ou crois 1) et en phase stationnaire (ou crois 2).

Effet : Espèce

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Espèce	5	188.117	37.623	329.541	<0.0001	1647.707	1
Résidu	54	6.165	0.114				

Tableau ANOVA pour taille moyenne.

Espèce	Nombre	Moyenne	Déviatiion Standard	Erreur Standard
T.iso	12	4.278	0.183	0.053
I.galbana	12	4.647	0.165	0.048
P.lutheri	12	4.199	0.227	0.065
T.suecica	12	8.414	0.518	0.15
R.salina	6	7.193	0.425	0.174
C.minus	6	3.547	0.463	0.189

Tableau des tailles moyennes en μm pour les différentes microalgues étudiées.

	T.iso	I.galbana	P.lutheri	T.suecica	R.salina	C.minus
T.iso	1	NS	NS	***	***	**
I.galbana		1	NS	***	***	***
P.lutheri			1	***	***	*
T.suecica				1	***	***
R.salina					1	***
C.minus						1

Tests de comparaison de moyennes de Scheffé pour taille moyenne.

Effet : Espèce

NS : Non Significatif

*** = $P < 0,001$: Très fortement significatif

** = $P < 0,01$: Fortement significatif

* = $P < 0,05$: Significatif

ANNEXES 6 : CARACTERISATION BIOCHIMIQUE

Les résultats dans les tableaux sont donnés en pourcentage de chacun des acides gras ou stérols par rapport au total de la classe (neutre, polaire ou total) pour les phases exponentielle et stationnaire. Il est également indiqué le poids total en fg par cellule de chacune des classes.

Pour chacun des acides gras ou stérols est indiquée la moyenne et l'écart type.

Pour les stérols et acides gras, seuls les plus caractéristiques sont indiqués.

Pour les acides gras, on trouve également quelques données caractéristiques :

- TO.SAT. total des acides gras saturés
- TO.MONO. total des acides gras monoinsaturés
- TO.(n-9) total des acides gras monoinsaturés en (n-9)
- TO.(n-7) total des acides gras monoinsaturés en (n-7)
- TO.POLY. total des acides gras polyinsaturés
- TO.(n-4) total des acides gras polyinsaturés en (n-4)
- TO.(n-6) total des acides gras polyinsaturés en (n-6)-
- TO.(n-3) total des acides gras polyinsaturés en (n-3)
- (n-3)/(n-6) Rapport des insaturés en (n-3) et (n-6)
- (22:6)/(20:5) Rapport des acides gras en 22:6 et 20:5
- (22:5)/(20:4) Rapport des acides gras en 22:5 et 20:4

Les graphes représentent les acides gras et stérols totaux des phases exponentielle et stationnaire avec en ordonnée le pourcentage de chacun des constituants par rapport au total de la classe (p 128-136).

Une seconde série de graphes (p.137-139) représente le pourcentage de cholestérol et acides gras essentiels dans chacune des algues.

Chaetoceros calcitrans forma *pumilum* (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
14:0"	13,77	1,52	7,03	5,20	10,70	2,84	11,97	0,33	10,31	2,52	11,47	0,55
16:0"	16,19	3,54	11,47	2,29	12,82	0,58	22,52	1,16	11,96	0,29	19,09	0,42
18:0"	0,63	0,07	0,79	0,54	0,66	0,23	0,45	0,03	0,29	0,02	0,40	0,03
20:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:0"	0,06	0,07	0,02	0,03	0,03	0,05	0,11	0,01	-	-	0,08	0,00
24:0"	0,02	0,03	-	-	-	-	0,12	0,01	-	-	0,08	0,01
16:1(n-9)"	0,19	0,22	0,04	0,06	0,16	0,14	-	-	-	-	-	-
16:1(n-7)"	27,15	1,25	28,75	3,80	27,39	1,54	38,32	0,17	32,16	1,03	36,32	0,61
16:1(n-13)t"	-	-	0,53	0,46	0,23	0,20	0,16	0,01	0,39	0,10	0,23	0,02
18:1(n-9)"	0,23	0,05	0,55	0,15	0,39	0,06	0,20	0,03	0,50	0,05	0,30	0,03
18:1(n-7)"	0,35	0,15	2,08	0,60	1,14	0,08	0,43	0,02	1,95	0,00	0,92	0,06
16:2(n-7)"	2,24	0,15	5,35	0,29	3,81	0,26	2,41	0,03	5,35	0,10	3,36	0,13
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	2,05	0,38	3,79	0,24	3,03	0,18	1,74	0,10	3,55	0,08	2,33	0,05
16:3(n-4)"	5,37	0,63	9,84	1,11	7,81	0,84	2,52	0,06	7,91	0,38	4,26	0,22
16:4(n-3)"	0,50	0,58	-	-	0,38	0,33	0,51	0,01	-	-	0,34	0,02
16:4(n-1)"	0,11	0,13	0,14	0,24	0,11	0,20	-	-	-	-	0,00	0,00
18:2(n-6)"	0,24	0,03	0,54	0,12	0,39	0,04	0,25	0,01	0,67	0,08	0,38	0,02
18:2(n-4)"	0,00	0,00	0,07	0,12	0,04	0,07	0,23	0,05	0,23	0,04	0,23	0,05
18:3(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3(n-3)"	0,22	0,26	0,11	0,10	0,22	0,13	0,12	0,02	0,26	0,04	0,16	0,02
18:4(n-3)"	1,13	0,11	2,11	0,35	1,57	0,06	0,42	0,03	0,95	0,05	0,59	0,02
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,15	0,03	0,09	0,09	0,13	0,04	0,09	0,00	0,15	0,03	0,11	0,01
20:5(n-3)"	27,62	4,29	21,22	1,43	25,34	2,88	15,83	0,54	18,34	1,32	16,63	0,73
22:5(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:5(n-3)"	0,08	0,09	0,13	0,11	0,09	0,08	0,10	0,02	0,15	0,02	0,12	0,02
22:6(n-3)"	0,64	0,09	2,78	0,46	1,70	0,04	0,74	0,07	2,76	0,06	1,39	0,08
TO.SAT.	31,02	4,50	19,57	2,43	24,58	2,29	35,67	0,83	22,98	2,24	31,59	0,95
TO.MONO	27,93	1,11	31,94	4,79	29,32	1,88	39,15	0,11	35,01	1,19	37,80	0,57
TO.(n-9)	0,42	0,27	0,58	0,17	0,55	0,20	0,20	0,03	0,50	0,05	0,30	0,03
TO.(n-7)	27,51	1,38	30,83	4,18	28,54	1,51	38,79	0,10	34,11	1,03	37,27	0,52
TO.POLY	40,89	5,58	47,29	2,61	45,44	0,73	25,01	0,65	40,39	1,29	29,97	0,46
TO.(n-4)	7,42	0,99	13,69	1,44	10,87	1,07	4,49	0,22	11,69	0,26	6,82	0,12
TO.(n-6)	0,42	0,06	0,63	0,11	0,52	0,06	0,34	0,01	0,82	0,11	0,49	0,03
TO.(n-3)	30,24	5,08	26,61	1,81	29,47	3,21	17,77	0,46	22,53	1,54	19,29	0,68
(n-3)/(n-6)	71,95	12,08	42,87	7,88	57,21	4,44	52,59	0,36	27,74	1,95	39,33	1,13
22:6/20:5	0,02	-	0,13	0,02	0,07	0,01	0,05	0,01	0,15	0,01	0,08	0,01
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	495,11	62,67	535,57	211,35	1048,97	153,39	835,07	43,30	400,41	68,19	1235,48	111,49
STEROLS												
Réplicats	4				4		2				2	
Cholestérol	21,48	-	-	-	21,48	-	33,73	1,18	-	-	33,73	1,18
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	0,66	0,76	-	-	0,66	0,76	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	1,71	0,27	-	-	1,71	0,27
24 Methylène	59,73	2,40	-	-	59,73	2,40	32,10	3,65	-	-	32,10	3,65
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	3,64	0,28	-	-	3,64	0,28	7,47	0,40	-	-	7,47	0,40
Isofucostérol	14,48	1,38	-	-	14,48	1,38	25,00	1,80	-	-	25,00	1,80
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	34,98	5,03	-	-	34,98	5,03	38,12	3,51	-	-	38,12	3,51

Chaetoceros gracilis (Origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
14:0"	10,64	1,08	8,62	0,63	9,61	1,22	6,62	-	3,86	1,35	5,80	0,46
16:0"	23,88	5,36	19,47	5,38	21,40	6,13	41,49	-	20,88	0,20	35,44	0,53
18:0"	1,17	0,37	0,66	0,36	0,89	0,45	1,09	-	0,94	0,25	1,04	0,08
20:0"	0,07	0,09	-	-	0,04	0,05	-	-	-	-	-	-
22:0"	0,17	0,04	0,13	0,04	0,15	0,05	0,15	-	-	-	0,11	-
24:0"	0,30	0,11	0,08	0,04	0,18	0,11	0,19	-	-	-	0,13	-
16:1(n-9)"	0,96	1,29	0,17	0,33	0,67	0,85	-	-	-	-	-	-
16:1(n-7)"	35,02	4,36	28,29	4,27	31,27	5,56	36,72	-	19,79	0,84	31,74	0,63
16:1(n-13)"	-	-	0,17	0,20	0,06	0,07	0,00	-	0,47	0,11	0,14	0,04
18:1(n-9)"	0,52	0,48	0,54	0,37	0,54	0,42	0,30	-	0,82	0,04	0,45	0,00
18:1(n-7)"	0,38	0,27	1,79	0,46	1,07	0,21	0,38	-	2,33	0,05	0,95	0,06
16:2(n-7)"	2,17	0,31	4,66	0,71	3,41	0,24	1,30	-	2,29	0,25	1,59	0,05
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	2,34	0,35	3,48	0,82	3,03	0,83	1,25	-	1,84	0,18	1,42	0,04
16:3(n-4)"	5,13	4,32	8,35	2,36	6,68	3,77	1,73	-	6,51	0,44	3,13	0,02
16:4(n-3)"	-	-	0,01	0,02	0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
16:4(n-1)"	0,18	0,22	0,23	0,26	0,21	0,25	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	0,19	0,08	0,42	0,09	0,30	0,05	0,49	-	1,82	0,08	0,88	0,05
18:2(n-4)"	0,14	0,09	0,16	0,31	0,17	0,23	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	0,04	0,07	0,63	0,46	0,31	0,21	0,50	-	2,40	0,28	1,06	0,13
18:3(n-3)"	0,03	0,07	0,01	0,01	0,03	0,04	-	-	-	-	-	-
18:4(n-3)"	0,34	0,14	0,71	0,12	0,54	0,19	0,43	-	1,42	0,20	0,72	0,08
18:5(n-3)"	0,02	0,04	-	-	0,01	0,03	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,20	0,08	0,33	0,03	0,26	0,05	0,28	-	1,12	0,09	0,53	0,04
20:5(n-3)"	13,30	9,13	17,36	9,28	15,55	9,95	5,78	-	27,44	2,09	12,16	1,11
22:5(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:5(n-3)"	-	-	0,02	0,03	0,02	0,02	-	-	-	-	-	-
22:6(n-3)"	0,28	0,08	2,01	0,59	1,30	0,71	0,33	-	3,51	0,46	1,27	0,21
TO.SAT.	36,82	7,68	29,41	6,83	32,81	8,60	50,06	-	26,04	1,81	42,99	1,08
TO.MONO	37,71	6,33	31,08	5,48	34,20	7,14	37,40	-	23,42	0,73	33,29	0,53
TO.(n-9)	1,49	1,56	0,73	0,65	1,23	1,14	0,30	-	0,82	0,04	0,45	0,00
TO.(n-7)	35,52	4,49	30,13	4,78	32,43	5,63	37,10	-	22,12	0,79	32,69	0,57
TO.POLY	24,71	13,89	39,05	12,28	32,41	15,71	12,35	-	50,00	2,55	23,43	1,61
TO.(n-4)	7,60	4,68	11,98	3,29	9,88	4,71	2,97	-	8,35	0,62	4,55	0,06
TO.(n-6)	0,46	0,14	1,60	0,64	0,99	0,20	1,40	-	6,03	0,52	2,76	0,26
TO.(n-3)	14,25	8,95	20,37	9,84	17,74	10,59	6,68	-	33,34	2,90	14,53	1,46
(n-3)/(n-6)	31,19	16,86	16,90	14,17	19,52	14,31	4,77	-	5,53	-	5,26	0,04
22:6/20:5	0,03	0,01	0,13	0,04	0,09	0,01	0,06	-	0,13	0,01	0,10	0,01
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	980,89	508,90	1145,89	371,28	2126,78	231,46	1781,64	-	739,37	45,49	2521,00	41,27
STEROLS												
Réplicats	4				4		2				2	
Cholestérol	54,87	7,06	-	-	54,87	7,06	50,94	1,99	-	-	50,94	1,99
Brassicatérol	0,34	0,40	-	-	0,34	0,40	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	0,08	0,16	-	-	0,08	0,16	-	-	-	-	-	-
Campestérol	0,40	0,49	-	-	0,40	0,49	-	-	-	-	-	-
24 Méthylène	9,58	1,36	-	-	9,58	1,36	6,61	1,94	-	-	6,61	1,94
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	0,35	0,41	-	-	0,35	0,41	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	30,55	4,79	-	-	30,55	4,79	37,26	0,64	-	-	37,26	0,64
Isofucostérol	3,82	1,30	-	-	3,82	1,30	5,19	0,70	-	-	5,19	0,70
Méthylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	110,57	17,04	-	-	110,57	17,04	103,39	13,22	-	-	103,39	13,22

Chaetoceros sp tenuissimus like (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
14:0"	9,75	4,87	8,56	4,55	10,40	1,09	13,09	0,35	11,45	0,90	12,63	0,50
16:0"	15,00	1,20	10,11	2,82	11,61	2,19	22,36	1,28	12,28	0,26	19,52	0,85
18:0"	1,17	0,36	0,76	0,65	0,90	0,60	0,43	0,01	-	-	0,31	0,01
20:0"	0,09	0,10	-	-	0,06	0,07	-	-	-	-	-	-
22:0"	0,22	0,05	0,04	0,04	0,12	0,02	0,12	-	-	-	0,08	0,00
24:0"	0,24	0,20	0,01	0,03	0,15	0,14	0,15	-	-	-	0,11	0,00
16:1(n-9)"	1,64	1,90	0,35	0,70	1,20	1,41	0,14	0,20	0,00	0,00	0,10	0,14
16:1(n-7)"	25,64	2,25	29,84	2,53	27,26	1,06	37,86	0,46	26,87	0,13	34,77	0,36
16:1(n-13)t"	0,11	0,13	0,46	0,54	0,23	0,27	0,15	0,05	0,35	0,00	0,21	0,04
18:1(n-9)"	1,41	1,54	0,90	0,81	1,29	1,22	0,20	0,04	0,20	0,29	0,20	0,11
18:1(n-7)"	0,45	0,05	1,85	0,74	1,09	0,09	0,46	0,03	1,69	0,13	0,80	0,05
16:2(n-7)"	2,42	0,32	5,59	0,13	4,19	0,62	2,61	0,17	5,08	0,24	3,30	0,19
16:2(n-6)"												
16:2(n-4)"	2,64	0,39	4,69	0,36	3,86	0,53	2,32	0,23	4,99	0,01	3,07	0,17
16:3(n-4)"	5,63	1,00	9,66	0,50	7,95	0,44	2,72	0,27	9,15	0,30	4,54	0,11
16:4(n-3)"	0,08	0,17	-	-	0,06	0,11	-	-	-	-	-	-
16:4(n-1)"	0,62	0,71	1,02	1,18	0,92	1,07	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	0,32	0,09	0,26	0,22	0,30	0,10	0,25	-	0,57	0,03	0,34	0,01
18:2(n-4)"	-	-	0,05	0,06	0,04	0,05	0,23	0,05	-	-	0,16	0,04
18:3(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3(n-3)"	0,13	0,26	0,03	0,04	0,11	0,16	0,09	0,01	-	-	0,06	-
18:4(n-3)"	1,06	0,33	1,66	0,37	1,29	0,21	0,51	0,04	1,02	0,02	0,65	0,02
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,00	0,00	0,03	0,03	0,02	0,03	-	-	-	-	-	-
20:5(n-3)"	27,68	8,08	20,19	5,96	22,54	2,26	14,37	0,88	20,84	1,84	16,20	1,15
22:5(n-6)"	0,00	0,00	0,02	0,03	0,01	0,03	-	-	-	-	-	-
22:5(n-3)"	0,10	0,07	0,03	0,03	0,06	0,04	0,09	0,02	-	-	0,07	0,01
22:6(n-3)"	0,74	0,17	1,83	0,39	1,31	0,20	0,88	0,08	2,51	0,01	1,34	0,06
TO.SAT.	27,50	5,01	19,90	3,46	24,06	2,97	36,66	1,68	24,22	0,68	33,16	1,40
TO.MONO	29,57	2,20	33,40	5,00	31,29	2,54	38,91	0,04	29,10	0,02	36,15	0,02
TO.(n-9)	3,05	3,44	1,25	1,47	2,49	2,63	0,34	0,24	0,20	0,29	0,30	0,26
TO.(n-7)	26,22	2,09	31,69	3,06	28,44	0,88	38,42	0,34	28,56	0,26	35,64	0,31
TO.POLY	41,79	6,84	46,03	6,96	43,62	5,42	24,20	1,63	44,48	1,39	29,91	1,57
TO.(n-4)	8,27	1,32	14,40	0,22	11,84	0,84	5,27	0,55	14,14	0,29	7,77	0,32
TO.(n-6)	0,46	0,34	0,31	0,23	0,44	0,15	0,25	-	0,57	0,03	0,34	0,01
TO.(n-3)	29,87	8,20	24,16	6,64	25,69	2,83	16,05	0,94	24,47	1,71	18,42	1,16
(n-3)/(n-6)	93,34	60,66	-	-	64,66	25,49	64,54	4,43	43,06	0,48	54,35	2,19
22:6/20:5	0,03	0,01	0,09	0,02	0,06	0,00	0,06	-	0,12	0,01	0,08	-
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	504,90	326,59	556,21	176,37	1061,11	151,51	913,22	163,86	358,22	63,41	1271,45	227,27
STEROLS												
Réplicats	4				4		2				2	
Cholestérol	38,64	15,53	-	-	38,64	15,53	37,48	1,00	-	-	37,48	1,00
Brassicatérol	0,09	0,18	-	-	0,09	0,18	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	0,38	0,44	-	-	0,38	0,44	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 Méthylène	34,59	3,23	-	-	34,59	3,23	12,58	1,09	-	-	12,58	1,09
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	0,11	0,23	-	-	0,11	0,23	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	6,59	1,74	-	-	6,59	1,74	11,51	0,33	-	-	11,51	0,33
Isofucostérol	19,60	10,07	-	-	19,60	10,07	38,43	0,43	-	-	38,43	0,43
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	41,30	6,46	-	-	41,30	6,46	35,83	3,61	-	-	35,83	3,61

Chaetoceros calcitrans (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
14:0"	24,37	6,62	19,59	3,46	22,24	4,30	18,81	4,41	11,67	1,64	17,42	3,95
16:0"	12,89	6,01	13,58	4,73	13,35	5,36	26,07	0,49	14,05	0,61	23,70	0,36
18:0"	1,02	0,54	0,80	0,69	0,90	0,60	0,49	0,09	0,80	0,21	0,55	0,11
20:0"	0,03	0,05	-	-	0,02	0,03	0,03	0,01	-	-	0,03	0,00
22:0"	0,10	0,02	0,07	0,08	0,10	0,03	0,07	0,01	0,07	0,09	0,07	0,01
24:0"	0,15	0,04	0,03	0,03	0,11	0,03	0,11	0,02	-	-	0,09	0,01
16:1(n-9)"	0,23	0,29	-	-	0,17	0,20	0,19	-	-	-	0,16	0,01
16:1(n-7)"	28,60	1,80	23,13	3,93	26,14	3,54	31,26	1,17	19,42	0,43	28,92	0,87
16:1(n-13)t"	0,06	0,07	0,33	0,38	0,13	0,16	0,07	0,02	0,39	0,00	0,13	0,01
18:1(n-9)"	0,63	0,40	2,03	0,43	1,24	0,28	0,55	0,05	1,81	0,33	0,80	0,12
18:1(n-7)"	0,17	0,03	1,66	0,62	0,73	0,17	0,15	0,01	1,45	0,07	0,41	0,04
16:2(n-7)"	2,03	0,64	4,21	0,88	2,89	0,97	0,98	0,08	0,71	1,00	0,92	0,14
16:2(n-6)"	0,08	0,15	-	-	0,03	0,07	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	1,07	0,40	1,68	0,28	1,32	0,41	0,46	0,00	1,44	0,04	0,65	0,02
16:3(n-4)"	3,78	2,06	5,53	1,77	4,47	2,21	1,53	0,14	3,46	0,82	1,90	0,02
16:4(n-3)"	0,26	0,46	0,06	0,07	0,21	0,31	-	-	-	-	-	-
16:4(n-1)"	0,05	0,06	0,04	0,05	0,05	0,06	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	0,61	0,24	1,58	0,33	1,01	0,16	0,76	0,06	2,11	0,17	1,03	0,10
18:2(n-4)"	0,22	0,29	-	-	0,10	0,13	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	0,53	0,62	2,26	1,07	1,20	0,52	1,84	0,13	4,95	0,09	2,45	0,16
18:3(n-3)"	0,27	0,55	0,01	0,03	0,20	0,38	0,01	0,02	-	-	0,01	0,01
18:4(n-3)"	0,96	0,31	1,47	0,20	1,18	0,22	1,67	0,01	2,33	0,32	1,80	0,06
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	1,98	0,39	2,22	0,49	2,07	0,44	1,96	0,36	4,97	0,39	2,55	0,41
20:5(n-3)"	17,41	5,92	15,70	6,73	16,92	5,87	10,44	1,76	23,70	0,89	13,03	1,41
22:5(n-6)"	-	-	0,01	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-
22:5(n-3)"	0,04	0,04	0,05	0,06	0,04	0,05	0,04	-	0,06	0,09	0,04	0,01
22:6(n-3)"	0,53	0,17	2,86	0,61	1,53	0,67	0,51	0,05	3,71	0,16	1,14	0,04
TO.SAT.	38,95	5,89	34,32	3,19	37,06	5,09	46,05	3,83	26,91	0,89	42,30	3,49
TO.MONO	30,23	2,82	27,58	5,35	28,91	4,34	33,50	1,28	23,07	0,83	31,44	1,06
TO.(n-9)	0,95	0,66	2,05	0,38	1,46	0,39	0,83	0,07	1,81	0,33	1,03	0,13
TO.(n-7)	28,85	1,91	24,79	4,54	26,92	3,66	31,55	1,29	20,87	0,51	29,44	1,00
TO.POLY	30,28	7,72	38,02	7,88	33,66	8,82	20,44	2,56	49,91	0,22	26,23	2,48
TO.(n-4)	5,07	2,55	7,21	1,99	5,89	2,66	1,99	0,15	4,91	0,78	2,56	0,00
TO.(n-6)	3,60	1,40	6,30	1,80	4,67	1,23	4,64	0,56	14,29	3,47	6,56	1,26
TO.(n-3)	19,52	6,03	20,18	7,40	20,12	6,53	12,84	1,77	30,00	1,47	16,19	1,36
(n-3)/(n-6)	6,10	3,04	3,58	1,92	4,57	1,91	2,77	0,05	2,18	0,63	2,50	0,27
22:6/20:5	0,03	0,00	0,20	0,06	0,09	0,01	0,05	0,00	0,16	0,00	0,09	0,01
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	1250,96	402,55	911,37	476,93	2162,33	512,76	4120,64	812,84	1002,63	118,01	5123,27	930,85
STEROLS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
Cholestérol	48,86	2,98	-	-	48,86	2,98	50,04	0,29	-	-	50,04	0,29
Brassicatérol	0,28	0,32	-	-	0,28	0,32	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	0,10	0,11	-	-	0,10	0,11	-	-	-	-	-	-
Campestérol	0,13	0,16	-	-	0,13	0,16	-	-	-	-	-	-
24 Méthylène	11,80	0,88	-	-	11,80	0,88	5,18	0,21	-	-	5,18	0,21
Stigmastérol	0,09	0,11	-	-	0,09	0,11	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	34,69	1,78	-	-	34,69	1,78	39,79	0,07	-	-	39,79	0,07
Isofucostérol	4,05	0,57	-	-	4,05	0,57	4,98	0,01	-	-	4,98	0,01
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	128,31	16,20	-	-	128,31	16,20	112,69	3,76	-	-	112,69	3,76

Chaetoceros sp 'minus' (Origine COP Tahiti via Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	5		5		5		5		5		5	
14:0"	19,44	2,22	18,23	2,52	17,83	0,78	17,91	2,53	18,94	2,00	17,94	0,60
16:0"	13,54	3,96	9,55	5,32	9,06	1,14	26,75	9,80	16,79	5,26	23,67	3,27
18:0"	1,14	0,76	0,74	0,35	0,77	0,36	0,29	0,44	0,56	0,50	0,48	0,40
20:0"	-	-	-	-	-	-	0,06	0,04	0,02	0,05	0,04	0,04
22:0"	0,20	0,19	0,20	0,10	0,19	0,04	0,23	0,10	0,23	0,11	0,22	0,10
24:0"	0,07	0,14	0,07	0,14	0,03	0,04	0,07	0,14	0,07	0,10	0,04	0,05
16:1(n-9)"	0,44	0,45	0,23	0,39	0,18	0,12	0,30	0,38	0,13	0,09	0,25	0,16
16:1(n-7)"	25,47	2,76	27,37	2,12	26,79	1,55	37,10	7,07	28,37	7,32	33,93	2,20
16:1(n-13)t"	0,10	0,24	0,38	0,21	0,35	0,06	0,09	0,23	0,11	0,09	0,09	0,06
18:1(n-9)"	1,94	0,86	0,82	0,43	1,08	0,51	1,00	0,24	1,33	0,50	1,15	0,23
18:1(n-7)"	0,31	0,50	0,76	0,51	0,67	0,36	0,06	0,48	0,71	0,56	0,38	0,26
16:2(n-7)"	1,37	0,90	2,77	0,81	2,59	0,47	1,60	0,90	2,04	0,42	1,75	0,08
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	2,72	1,39	4,12	1,77	4,22	1,01	1,41	1,17	2,58	0,97	1,88	0,41
16:3(n-4)"	2,08	1,78	3,31	1,69	3,37	0,22	1,24	1,73	3,27	1,66	1,86	0,55
16:4(n-3)"	1,17	0,50	0,29	0,51	0,39	0,16	0,10	0,71	0,10	0,11	0,08	0,11
16:4(n-1)"	0,10	0,16	0,15	0,09	0,13	0,06	0,02	0,16	0,10	0,06	0,04	0,01
18:2(n-6)"	0,73	0,23	0,54	0,08	0,58	0,05	0,39	0,13	0,48	0,19	0,41	0,09
18:2(n-4)"	0,00	0,00	0,08	0,20	0,08	0,18	0,09	0,00	0,11	0,14	0,08	0,10
18:3(n-6)"	0,94	0,49	0,77	0,86	0,88	0,67	1,09	0,13	0,87	0,99	0,76	0,65
18:3(n-3)"	0,04	0,10	0,11	0,10	0,10	0,07	0,07	0,09	0,15	0,07	0,10	0,05
18:4(n-3)"	0,85	0,14	0,76	0,39	0,75	0,33	0,06	0,45	0,15	0,13	0,12	0,07
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	0,03	0,05	-	-	0,02	0,03
20:4(n-6)"	2,65	0,52	2,93	0,81	2,76	0,77	1,41	1,21	2,55	1,18	1,75	0,67
20:5(n-3)"	14,08	2,74	16,34	3,00	16,09	1,77	5,07	6,57	10,06	4,16	6,69	1,72
22:5(n-6)"	0,10	0,17	0,14	0,10	0,15	0,09	0,02	0,17	0,18	0,17	0,07	0,04
22:5(n-3)"	0,12	0,29	-	-	0,04	0,10	-	-	-	-	-	-
22:6(n-3)"	0,88	0,43	0,99	0,41	1,03	0,31	0,66	0,45	1,07	0,41	0,80	0,07
TO.SAT.	35,94	6,49	29,66	8,38	28,94	1,27	46,25	9,61	37,46	6,47	43,29	3,57
TO.MONO	30,27	2,02	30,67	1,94	30,59	1,50	39,63	5,43	31,66	6,94	36,85	1,69
TO.(n-9)	2,46	0,68	1,13	0,60	1,34	0,48	1,32	0,43	1,48	0,47	1,41	0,28
TO.(n-7)	27,42	2,01	28,44	2,01	28,26	1,49	37,47	5,60	29,41	7,04	34,59	2,10
TO.POLY	31,98	6,13	36,83	6,85	37,38	1,43	14,02	11,74	27,71	8,66	18,53	2,93
TO.(n-4)	4,79	3,14	7,52	3,29	7,67	1,01	2,74	2,90	5,96	2,64	3,82	0,95
TO.(n-6)	4,77	0,36	4,64	1,70	4,69	1,50	3,22	1,75	4,49	1,30	3,34	1,36
TO.(n-3)	20,63	3,18	19,17	3,09	19,90	1,36	6,45	7,95	12,02	4,73	8,31	1,63
(n-3)/(n-6)	4,35	0,77	4,40	1,04	4,48	0,94	2,20	0,78	2,75	0,97	2,67	0,59
22:6/20:5	0,06	0,03	0,06	0,01	0,06	0,01	0,14	0,06	0,11	0,01	0,12	0,02
22:5/20:4	0,04	0,07	0,05	0,05	0,06	0,03	0,00	0,07	0,08	0,09	0,05	0,04
fg/cell	129,26	84,29	267,53	100,06	402,58	47,48	683,61	328,02	458,23	81,13	1159,11	124,69
STEROLS												
Réplicats	5		5		5		5		5		5	
Cholestérol	42,99	5,02	-	-	42,99	5,02	44,40	1,20	-	-	44,40	1,20
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 Methylène	27,37	3,31	-	-	27,37	3,31	13,12	2,70	-	-	13,12	2,70
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	1,97	0,57	-	-	1,97	0,57	3,28	0,22	-	-	3,28	0,22
Isofucostérol	27,68	5,76	-	-	27,68	5,76	39,20	2,76	-	-	39,20	2,76
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	13,26	2,42	-	-	13,26	2,42	24,72	5,27	-	-	24,72	5,27

Thalassiosira pseudonana (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
14:0"	8,52	4,65	10,99	7,46	12,26	1,05	6,17	0,81	14,68	1,13	8,34	0,89
16:0"	14,34	3,54	9,66	1,09	12,99	3,41	22,95	0,25	12,15	0,16	20,19	0,22
18:0"	0,37	0,04	0,57	0,65	0,33	0,11	0,39	0,01	0,38	0,08	0,39	0,03
20:0"	-	-	-	-	-	-	0,01	0,02	-	-	0,01	0,01
22:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24:0"	0,13	0,02	0,04	0,05	0,10	0,02	0,06	0,02	0,20	0,02	0,09	0,01
16:1(n-9)"	0,11	0,13	0,02	0,05	0,10	0,11	0,13	0,03	-	-	0,10	0,02
16:1(n-7)"	25,33	1,31	13,11	4,05	20,89	2,61	36,33	0,24	13,26	0,60	30,43	0,00
16:1(n-13)t"	0,13	0,15	0,09	0,18	0,13	0,15	-	-	0,21	0,01	0,05	0,00
18:1(n-9)"	0,26	0,06	0,62	0,45	0,35	0,05	0,34	0,01	0,80	0,15	0,46	0,04
18:1(n-7)"	0,31	0,19	1,47	0,59	0,74	0,05	0,19	0,02	2,60	0,37	0,81	0,08
16:2(n-7)"	2,81	0,39	2,36	0,78	2,70	0,38	1,88	0,04	0,77	1,08	1,60	0,31
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	3,87	0,54	4,55	2,42	4,69	0,76	1,58	0,02	3,99	0,01	2,20	0,02
16:3(n-4)"	6,87	1,80	4,58	2,73	6,07	0,98	2,00	0,03	5,48	0,32	2,89	0,10
16:4(n-3)"	-	-	0,03	0,03	0,02	0,02	0,04	0,00	-	-	0,03	0,00
16:4(n-1)"	0,57	0,18	0,34	0,25	0,49	0,11	0,19	0,01	0,41	0,03	0,25	0,01
18:2(n-6)"	0,14	0,01	0,58	0,53	0,24	0,03	0,13	0,00	0,53	0,08	0,23	0,02
18:2(n-4)"	0,15	0,05	0,14	0,09	0,15	0,04	-	-	0,05	0,07	0,01	0,02
18:3(n-6)"	0,06	0,07	0,25	0,32	0,09	0,10	0,16	0,01	0,25	0,05	0,18	0,02
18:3(n-3)"	0,08	0,05	0,05	0,05	0,08	0,02	0,06	0,01	0,10	0,01	0,07	0,01
18:4(n-3)"	4,31	0,32	5,63	1,94	4,47	0,50	5,65	0,43	7,15	0,52	6,03	0,45
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,61	0,35	0,24	0,28	0,31	0,05	0,13	0,00	0,16	0,02	0,14	0,01
20:5(n-3)"	26,49	6,96	34,02	8,40	26,56	3,26	18,47	0,71	26,26	1,38	20,46	0,89
22:5(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:5(n-3)"	0,01	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,22	0,26	0,10	0,02	0,19	0,19
22:6(n-3)"	2,63	0,88	9,39	5,49	4,42	0,92	1,38	0,17	7,76	0,61	3,01	0,03
TO.SAT.	23,66	8,43	21,70	7,36	26,18	2,56	30,29	0,57	28,07	0,97	29,72	0,67
TO.MONO	26,81	2,02	15,53	3,12	22,77	3,31	37,41	0,07	17,48	1,22	32,32	0,28
TO.(n-9)	0,56	0,28	0,77	0,39	0,62	0,22	0,81	0,18	0,96	0,08	0,85	0,16
TO.(n-7)	25,71	1,45	14,57	3,47	21,69	2,63	36,60	0,25	15,85	0,96	31,30	0,08
TO.POLY	48,83	9,61	62,57	10,55	50,64	5,70	32,19	0,56	53,26	1,23	37,57	0,75
TO.(n-4)	10,89	1,94	9,28	5,20	10,91	1,74	3,59	0,01	9,52	0,38	5,10	0,10
TO.(n-6)	0,89	0,25	1,09	1,07	0,70	0,20	0,47	0,00	0,94	0,14	0,59	0,04
TO.(n-3)	33,62	7,49	49,36	15,74	35,70	3,62	26,04	0,64	41,63	2,58	30,02	1,15
(n-3)/(n-6)	38,35	3,67	87,41	62,33	56,00	22,12	55,40	1,12	44,79	4,04	51,01	1,36
22:6/20:5	0,10	0,02	0,26	0,08	0,17	0,02	0,07	0,01	0,30	0,01	0,15	0,00
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	1886,17	1388,19	1142,68	539,28	3028,85	950,24	5655,07	1669,31	1938,33	562,47	7593,39	2231,78
STEROLS												
Réplicats	4				4		2				2	
Cholestérol	2,97	2,28	-	-	2,97	2,28	6,10	0,08	-	-	6,10	0,08
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	7,76	0,77	-	-	7,76	0,77	6,96	0,05	-	-	6,96	0,05
24 Methylène	83,72	3,22	-	-	83,72	3,22	79,46	0,34	-	-	79,46	0,34
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	1,86	0,28	-	-	1,86	0,28	3,52	0,06	-	-	3,52	0,06
Isofucostérol	3,69	1,37	-	-	3,69	1,37	3,97	0,14	-	-	3,97	0,14
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	98,36	6,76	-	-	98,36	6,76	135,04	36,74	-	-	135,04	36,74

Skeletonema costatum (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
14:0"	7,80	1,93	7,69	3,69	7,75	2,79	12,25	0,90	13,62	1,58	12,66	1,13
16:0"	4,63	2,71	19,04	6,19	8,42	2,00	2,96	0,04	12,99	3,29	5,85	0,71
18:0"	0,54	0,57	1,62	1,42	0,83	0,72	0,26	0,02	0,15	0,22	0,23	0,05
20:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:1(n-9)"	0,41	0,57	-	-	0,46	0,52	0,10	0,14	-	-	0,07	0,10
16:1(n-7)"	13,74	4,48	18,68	2,32	13,79	4,59	15,78	0,16	14,67	1,48	15,44	0,57
16:1(n-13)t"	0,04	0,09	0,35	0,61	0,11	0,20	0,00	0,00	1,36	0,05	0,40	0,04
18:1(n-9)"	0,74	0,86	1,12	1,14	1,07	0,57	0,28	0,17	2,53	0,03	0,93	0,18
18:1(n-7)"	0,16	0,19	2,49	1,33	0,64	0,19	0,07	0,10	1,30	0,02	0,43	0,09
16:2(n-7)"	2,95	0,16	1,20	1,19	2,55	0,16	1,80	2,55	0,00	0,00	1,25	1,76
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	3,36	0,27	2,01	0,66	2,98	0,15	3,19	0,49	1,89	0,21	2,81	0,38
16:3(n-4)"	26,82	2,25	4,76	2,33	20,77	1,39	28,30	2,83	6,40	0,95	21,96	2,22
16:4(n-3)"	0,51	0,63	-	-	0,56	0,53	-	-	-	-	-	-
16:4(n-1)"	3,00	0,91	0,21	0,36	2,60	0,95	2,57	0,17	0,68	0,20	2,02	0,14
18:2(n-6)"	0,94	0,52	5,09	0,78	2,09	0,03	0,92	0,26	7,35	0,35	2,79	0,43
18:2(n-4)"	0,04	0,08	-	-	-	-	0,05	0,07	-	-	0,03	0,05
18:3(n-6)"	0,03	0,05	0,10	0,17	0,06	0,11	0,14	0,03	0,44	0,03	0,23	0,04
18:3(n-3)"	0,59	0,38	1,53	0,11	0,90	0,31	0,67	0,10	2,09	0,19	1,08	0,05
18:4(n-3)"	2,16	1,64	9,93	1,86	4,46	0,63	0,87	0,15	10,12	0,88	3,55	0,06
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,21	0,14	0,09	0,16	0,17	0,15	0,36	0,09	0,46	0,08	0,39	0,09
20:5(n-3)"	26,04	3,93	10,74	5,47	21,58	2,54	24,28	0,10	11,12	1,72	20,47	0,14
22:5(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:5(n-3)"	0,03	0,06	0,02	0,03	0,01	0,01	-	-	0,26	0,37	0,07	0,10
22:6(n-3)"	1,64	1,09	9,98	2,99	3,78	0,71	1,37	0,39	9,19	0,19	3,64	0,51
TO.SAT.	13,36	2,94	28,35	4,12	17,45	2,48	15,82	0,97	27,02	1,47	19,05	0,50
TO.MONO	17,59	0,73	25,58	1,97	19,31	0,81	17,28	0,40	20,39	0,67	18,18	0,16
TO.(n-9)	1,15	1,42	1,12	1,14	1,53	1,09	0,47	0,31	2,70	0,26	1,12	0,34
TO.(n-7)	13,91	4,38	21,17	1,14	14,45	4,46	15,85	0,06	15,97	1,50	15,87	0,47
TO.POLY	68,61	3,15	45,86	5,20	62,85	2,77	64,69	1,47	50,27	2,35	60,50	1,40
TO.(n-4)	30,22	2,52	6,78	2,94	23,75	1,26	31,54	2,28	8,29	1,16	24,81	1,79
TO.(n-6)	1,41	0,69	5,31	0,53	2,57	0,48	1,47	0,45	8,30	0,55	3,46	0,63
TO.(n-3)	30,99	1,52	32,20	0,78	31,31	1,69	27,31	0,57	32,99	0,44	28,96	0,66
(n-3)/(n-6)	25,93	11,26	6,11	0,67	12,41	1,75	19,43	5,60	3,98	0,21	8,49	1,37
22:6/20:5	0,07	0,05	1,16	0,68	0,18	0,05	0,06	0,02	0,84	0,11	0,18	0,02
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	1983,57	166,02	582,81	687,27	2727,16	880,28	1826,43	427,82	742,13	95,38	2568,56	523,20
STEROLS												
Réplicats	4				4		2				2	
Cholestérol	14,12	4,47	-	-	14,12	4,47	11,85	2,43	-	-	11,85	2,43
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	0,97	0,55	-	-	0,97	0,55	1,89	0,12	-	-	1,89	0,12
Campestérol	31,80	6,82	-	-	31,80	6,82	36,68	1,56	-	-	36,68	1,56
24 Methylène	40,62	1,53	-	-	40,62	1,53	36,72	4,06	-	-	36,72	4,06
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	5,25	0,78	-	-	5,25	0,78	4,76	0,20	-	-	4,76	0,20
Fucostérol	0,83	0,98	-	-	0,83	0,98	3,02	1,80	-	-	3,02	1,80
Isofucostérol	6,42	2,63	-	-	6,42	2,63	5,08	1,66	-	-	5,08	1,66
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	85,01	12,67			85,01	12,67	58,46	4,71			58,46	4,71

Tetraselmis striata (origine USA 2000, Milford)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		3		3		3	
14:0"	0,51	0,59	0,40	0,28	0,47	0,32	0,57	0,49	0,21	0,18	0,44	0,38
16:0"	22,26	9,04	30,15	6,16	28,87	4,76	34,06	5,18	28,79	6,94	31,70	6,54
18:0"	2,25	1,61	1,21	0,39	1,51	0,67	1,23	0,42	0,70	0,62	1,06	0,10
20:0"	-	-	-	-	-	-	0,11	0,10	0,09	0,15	0,10	0,11
22:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24:0"	0,17	0,35	0,24	0,29	0,23	0,30	0,07	0,12	-	-	0,04	0,08
16:1(n-9)"	3,82	3,31	0,96	0,70	1,39	1,00	1,75	0,14	0,98	0,62	1,46	0,29
16:1(n-7)"	0,00	0,00	0,26	0,51	0,24	0,48	0,00	0,00	0,68	0,61	0,25	0,22
16:1(n-13)t"	0,00	0,00	0,87	0,59	0,69	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18:1(n-9)"	14,24	6,98	9,54	2,19	10,80	3,62	29,01	0,53	10,65	1,19	21,32	2,76
18:1(n-7)"	1,13	1,30	2,62	0,44	2,42	0,46	0,98	0,85	1,73	1,50	1,02	0,98
16:2(n-7)"	-	-	0,09	0,18	0,06	0,11	0,12	0,10	0,26	0,24	0,17	0,15
16:2(n-6)"	-	-	0,22	0,25	0,18	0,22	0,06	0,10	-	-	0,03	0,05
16:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:3(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,27	0,24	1,03	0,90	0,55	0,48
16:4(n-3)"	13,95	11,67	9,22	2,22	10,07	2,27	6,34	2,46	9,57	1,18	7,61	2,02
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	3,69	2,55	5,68	0,99	5,42	0,89	7,21	0,76	6,31	1,96	6,91	1,25
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,13	0,22	0,36	0,63	0,22	0,20
18:3(n-6)"	7,38	12,81	0,45	0,18	0,98	0,68	1,02	1,48	0,97	0,87	0,93	1,06
18:3(n-3)"	9,13	2,66	14,78	2,22	13,81	2,02	10,17	0,52	17,66	0,36	13,34	0,92
18:4(n-3)"	13,47	11,52	8,56	3,29	9,40	2,89	3,04	2,21	5,60	1,37	4,07	2,06
18:5(n-3)"	0,71	0,82	0,33	0,23	0,47	0,33	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,23	0,27	0,84	0,10	0,75	0,11	0,61	0,06	1,23	0,18	0,89	0,18
20:5(n-3)"	2,83	0,08	5,84	1,33	5,21	1,10	2,32	0,11	8,50	0,31	4,93	0,58
22:5(n-6)"	0,00	0,00	1,45	2,13	1,22	1,91	-	-	0,18	0,32	0,10	0,17
22:5(n-3)"	0,17	0,35	0,04	0,08	0,07	0,08	-	-	-	-	-	-
22:6(n-3)"	-	-	0,06	0,12	0,04	0,09	-	-	0,34	0,59	0,19	0,32
TO.SAT.	25,51	10,50	32,38	5,95	31,46	4,99	36,05	6,22	29,79	6,69	33,34	7,08
TO.MONO	21,58	10,30	15,99	2,97	17,14	4,32	32,21	1,11	16,03	1,26	25,29	2,80
TO.(n-9)	18,07	8,75	11,51	3,48	12,97	4,94	31,06	0,66	12,54	1,08	23,12	2,66
TO.(n-7)	3,51	3,23	3,38	0,59	3,29	0,70	1,15	0,56	3,36	0,44	2,10	0,27
TO.POLY	52,65	19,46	50,23	6,94	50,15	6,54	31,71	7,15	53,21	6,12	40,81	8,89
TO.(n-4)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	0,39	1,40	1,32	0,77	0,67
TO.(n-6)	12,09	9,79	9,54	0,86	9,48	0,21	9,12	2,22	8,91	3,51	9,12	2,79
TO.(n-3)	40,57	24,70	40,51	7,94	40,52	6,52	22,07	5,41	42,01	3,05	30,42	6,31
(n-3)/(n-6)	5,93	6,29	4,33	1,30	4,27	0,65	2,03	0,51	5,10	1,51	3,40	0,30
22:6/20:5	-	-	0,01	0,02	0,01	0,01	-	-	0,04	0,07	0,03	0,06
22:5/20:4	-	-	2,00	3,11	1,93	3,14	-	-	0,13	0,22	0,09	0,16
fg/cell	580,97	258,98	2839,19	1320,43	3420,16	1209,55	5129,17	3833,55	3281,43	1895,00	8410,61	5705,88
STEROLS												
Réplicats	4		4		4		3		3		3	
Cholestérol	2,64	1,78	20,74	41,47	1,74	1,54	1,59	0,26	-	-	1,51	0,30
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	20,42	5,80	31,83	37,61	23,12	4,30	20,84	2,56	37,55	37,29	21,77	3,51
24 Methylène	76,94	4,68	18,17	22,45	75,13	4,08	77,56	2,50	62,45	37,29	76,72	3,37
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	342,46	249,78	9,38	9,27	423,79	222,10	255,93	159,32	9,90	8,05	265,83	158,32

Tetraselmis chui (origine USA 2000, Milford)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		3		3		3	
14:0"	0,61	0,73	0,27	0,20	0,35	0,05	0,43	0,38	0,22	0,20	0,29	0,25
16:0"	15,49	6,19	24,44	3,76	21,48	1,53	15,28	3,84	26,90	1,94	23,49	1,89
18:0"	1,24	1,47	0,77	0,17	0,88	0,47	1,04	0,97	0,42	0,36	0,61	0,21
20:0"	-	-	0,11	0,12	0,08	0,09	0,39	0,35	0,14	0,13	0,22	0,19
22:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24:0"	-	-	-	-	-	-	0,33	0,35	0,00	0,00	0,11	0,12
16:1(n-9)"	4,46	4,39	1,40	0,57	1,62	0,68	3,84	1,02	2,39	0,60	2,83	0,75
16:1(n-7)"	-	-	0,13	0,25	0,12	0,24	-	-	-	-	-	-
16:1(n-13)t"	-	-	0,74	0,50	0,61	0,45	-	-	-	-	-	-
18:1(n-9)"	11,47	4,40	10,34	3,07	10,19	3,39	20,36	7,30	13,60	0,92	15,75	2,92
18:1(n-7)"	0,71	1,42	4,08	0,69	3,35	0,93	2,97	2,60	3,83	1,46	3,59	1,75
16:2(n-7)"	-	-	0,32	0,37	0,24	0,28	0,08	0,15	0,72	0,63	0,52	0,45
16:2(n-6)"	-	-	0,16	0,33	0,15	0,31	-	-	0,23	0,39	0,17	0,29
16:2(n-4)"	-	-	0,29	0,34	0,22	0,26	-	-	-	-	-	-
16:3(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,19	0,18	0,66	0,58	0,51	0,45
16:4(n-3)"	17,77	10,28	9,09	2,87	12,06	4,76	11,29	0,84	8,56	1,42	9,34	0,87
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	3,13	2,40	5,55	0,92	5,26	0,97	3,91	0,85	4,32	0,26	4,21	0,20
18:2(n-4)"	-	-	0,28	0,33	0,22	0,25	0,35	0,31	0,31	0,53	0,33	0,43
18:3(n-6)"	0,55	0,46	0,45	0,25	0,49	0,25	1,90	3,28	0,67	0,65	0,97	1,31
18:3(n-3)"	10,41	3,11	16,75	1,93	15,77	2,21	10,94	0,71	13,47	0,35	12,70	0,50
18:4(n-3)"	15,43	7,69	10,46	2,55	12,52	2,27	10,13	0,38	7,20	0,16	8,07	0,17
18:5(n-3)"	0,16	0,32	0,06	0,12	0,10	0,12	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,23	0,45	0,45	0,52	0,40	0,36	0,92	0,14	0,91	0,07	0,92	0,08
20:5(n-3)"	7,82	3,70	8,18	0,63	7,80	0,70	6,62	0,94	8,07	0,90	7,62	0,86
22:5(n-6)"	-	-	0,29	0,20	0,21	0,14	-	-	0,49	0,68	0,32	0,44
22:5(n-3)"	0,39	0,46	0,21	0,24	0,25	0,29	-	-	0,27	0,46	0,20	0,34
22:6(n-3)"	0,38	0,44	0,23	0,27	0,27	0,31	-	-	0,26	0,45	0,19	0,33
TO.SAT.	18,24	7,84	26,11	3,94	23,40	2,81	17,48	5,00	27,69	2,18	24,72	2,59
TO.MONO	20,05	10,92	18,58	4,25	17,76	4,54	36,09	1,92	23,54	0,96	27,24	0,60
TO.(n-9)	16,27	8,09	12,02	3,14	12,15	3,90	25,37	9,34	17,68	2,98	20,10	4,98
TO.(n-7)	3,78	4,15	4,57	0,17	4,07	0,43	9,09	8,04	5,02	0,65	6,09	2,61
TO.POLY	58,06	20,21	54,51	7,16	57,80	7,16	46,34	2,95	47,87	1,41	47,35	1,94
TO.(n-4)	-	-	0,57	0,66	0,44	0,51	0,54	0,48	0,97	0,97	0,84	0,83
TO.(n-6)	4,81	3,21	7,58	1,65	7,29	1,33	6,73	2,53	7,11	1,99	6,95	2,08
TO.(n-3)	52,78	18,19	46,03	6,52	49,71	6,84	38,98	1,40	37,95	1,13	38,22	1,03
(n-3)/(n-6)	-	-	6,19	0,91	6,87	0,50	9,75	5,03	5,66	1,74	5,83	1,66
22:6/20:5	0,06	0,08	0,03	0,03	0,03	0,04	-	-	0,04	0,06	0,03	0,05
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	0,58	0,83	0,39	0,54
fg/cell	2066,87	2363,85	5517,37	2519,95	7584,24	4786,61	2120,97	728,39	4825,48	712,94	6946,46	1371,79
STEROLS												
Réplicats	4		4		4		3		3		2	
Cholestérol	3,20	0,94	12,50	10,22	4,80	1,11	5,91	4,95	0,00	0,00	5,70	5,54
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	69,24	3,66	78,01	8,73	70,28	2,76	63,49	5,78	81,38	3,06	65,49	7,04
24 Méthylène	27,56	3,24	9,50	6,73	24,92	2,95	30,60	0,87	18,62	3,06	28,81	1,91
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	404,61	277,12	68,96	38,10	473,56	311,59	267,28	113,71	32,65	16,08	299,94	99,79

Tetraselmis suecica (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		3		3		3	
14:0"	0,91	0,62	0,36	0,27	0,53	0,08	0,56	0,50	0,30	0,29	0,43	0,40
16:0"	22,32	5,29	27,70	5,96	26,08	3,85	24,44	2,58	27,42	3,52	25,99	1,01
18:0"	1,40	1,26	1,13	0,48	1,04	0,43	0,74	0,18	0,35	0,31	0,54	0,16
20:0"	-	-	0,03	0,07	0,02	0,05	0,12	0,10	0,06	0,05	0,09	0,08
22:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24:0"	0,25	0,29	0,06	0,12	0,14	0,16	0,17	0,16	-	-	0,08	0,08
16:1(n-9)"	4,68	1,52	2,07	0,38	2,67	0,54	6,50	1,38	4,70	1,48	5,58	1,42
16:1(n-7)"	-	-	0,17	0,35	0,16	0,31	-	-	-	-	-	-
16:1(n-13)t"	-	-	0,63	0,75	0,47	0,54	-	-	-	-	-	-
18:1(n-9)"	24,27	4,45	18,44	3,04	20,12	4,04	34,42	3,06	22,85	2,53	28,53	2,71
18:1(n-7)"	1,75	1,25	1,92	1,31	1,79	1,21	1,29	1,13	1,71	1,48	1,50	1,31
16:2(n-7)"	-	-	-	-	-	-	0,11	0,10	0,12	0,21	0,12	0,14
16:2(n-6)"	0,16	0,26	0,27	0,39	0,28	0,32	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	-	-	0,14	0,28	0,07	0,15	-	-	-	-	-	-
16:3(n-4)"	0,12	0,23	0,04	0,09	0,09	0,11	0,21	0,18	0,80	0,69	0,50	0,44
16:4(n-3)"	10,60	8,10	7,49	2,54	8,64	3,08	8,48	1,88	7,51	1,27	7,97	0,64
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	4,55	1,69	5,95	1,55	5,61	1,65	3,97	1,46	4,25	0,66	4,11	1,05
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,16	0,14	0,12	0,20	0,14	0,14
18:3(n-6)"	0,42	0,31	0,68	0,60	0,69	0,47	0,75	1,30	0,32	0,30	0,53	0,76
18:3(n-3)"	7,35	3,06	12,76	1,83	11,34	1,77	6,89	1,08	10,64	0,50	8,79	0,44
18:4(n-3)"	6,97	3,49	6,25	2,12	6,60	1,60	3,74	0,79	3,49	0,23	3,61	0,27
18:5(n-3)"	0,10	0,19	0,06	0,12	0,10	0,12	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,78	0,43	0,73	0,05	0,71	0,09	0,50	0,10	0,78	0,07	0,64	0,08
20:5(n-3)"	5,16	1,98	6,32	1,09	5,74	0,62	3,43	0,51	7,49	1,46	5,49	0,96
22:5(n-6)"	-	-	1,22	1,93	0,86	1,40	-	-	0,56	0,34	0,28	0,17
22:5(n-3)"	0,37	0,45	0,26	0,26	0,30	0,27	-	-	0,18	0,23	0,09	0,12
22:6(n-3)"	1,11	1,46	0,28	0,24	0,37	0,25	-	-	0,50	0,32	0,29	0,14
TO.SAT.	25,63	6,95	29,55	6,24	28,23	4,30	26,02	3,50	28,12	3,46	27,13	1,12
TO.MONO	33,38	6,19	25,62	3,39	27,75	4,93	45,39	2,54	32,00	4,95	38,56	3,65
TO.(n-9)	29,50	5,11	22,06	4,04	24,07	4,94	41,84	5,20	29,28	5,19	35,45	5,14
TO.(n-7)	2,82	2,25	2,53	0,76	2,45	0,96	2,94	1,74	2,02	0,94	2,46	0,37
TO.POLY	39,43	13,91	44,64	7,74	43,52	8,19	28,50	5,79	39,19	1,72	33,92	3,74
TO.(n-4)	0,12	0,23	0,18	0,26	0,16	0,24	0,36	0,31	0,91	0,80	0,64	0,56
TO.(n-6)	6,99	1,53	9,67	3,12	9,03	3,04	5,29	2,80	6,21	1,36	5,75	2,07
TO.(n-3)	32,23	12,86	34,72	6,09	34,25	5,46	22,74	3,47	29,93	2,77	26,37	1,29
(n-3)/(n-6)	4,55	1,08	3,84	1,14	3,98	0,79	3,11	0,18	5,02	1,41	4,93	1,48
22:6/20:5	0,17	0,17	0,04	0,03	0,06	0,04	0,01	0,01	0,07	0,06	0,06	0,04
22:5/20:4	-	-	1,66	2,62	1,22	1,95	-	-	0,73	0,48	0,45	0,30
fg/cell	1501,88	913,34	3681,71	1697,32	5183,58	2197,77	5697,63	1623,75	5867,77	1510,32	11565,40	3134,07
STEROLS												
Réplicats	4		4		4		3		3		3	
Cholestérol	4,08	1,78	11,46	13,25	4,56	2,20	1,72	0,80	-	-	1,45	0,79
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	82,53	3,31	80,96	4,91	82,92	1,49	88,00	2,67	94,93	4,50	88,92	2,14
24 Methylène	13,39	2,45	7,58	8,94	12,52	2,80	10,28	1,89	5,07	4,50	9,63	1,35
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	292,82	122,06	79,56	108,27	372,39	216,44	268,66	72,53	61,64	36,24	330,31	108,67

Pavlova lutheri (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
14:0"	5,03	1,69	9,65	2,23	8,18	2,52	5,52	0,14	15,81	2,76	8,82	0,99
16:0"	14,44	1,52	17,45	0,48	16,58	0,49	25,61	0,35	23,80	3,66	25,03	0,94
18:0"	0,91	0,44	0,59	0,66	0,69	0,57	0,56	0,01	0,84	0,19	0,65	0,05
20:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:0"	0,22	0,44	0,01	0,03	0,05	0,08	0,08	0,02	-	-	0,06	0,01
24:0"	0,09	0,10	0,04	0,05	0,06	0,06	0,02	0,00	0,01	0,02	0,02	0,01
16:1(n-9)"	0,14	0,16	-	-	0,06	0,05	-	-	-	-	-	-
16:1(n-7)"	24,08	1,85	12,77	0,46	16,55	1,65	28,62	0,56	11,66	1,33	23,19	0,82
16:1(n-13)t"	0,40	0,79	0,16	0,13	0,19	0,25	-	-	0,02	0,03	0,01	0,01
18:1(n-9)"	1,51	0,29	1,09	0,21	1,18	0,11	2,10	0,10	1,54	0,10	1,92	0,04
18:1(n-7)"	1,52	0,11	3,49	1,72	2,74	1,02	1,41	0,02	3,52	0,42	2,09	0,15
16:2(n-7)"	0,13	0,15	0,08	0,09	0,11	0,01	0,06	0,08	-	-	0,04	0,06
16:2(n-6)"	0,11	0,13	0,10	0,11	0,10	0,12	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	0,66	0,05	0,66	0,44	0,68	0,28	0,38	-	0,78	0,05	0,51	0,02
16:3(n-4)"	-	-	0,33	0,31	0,25	0,24	0,04	-	-	-	0,03	-
16:4(n-3)"	0,37	0,44	-	-	0,08	0,09	-	-	-	-	-	-
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	4,76	0,48	1,64	0,45	2,71	0,25	4,98	0,10	0,70	0,02	3,61	0,06
18:2(n-4)"	0,12	0,25	0,00	0,00	0,06	0,11	0,27	0,38	0,44	0,04	0,33	0,25
18:3(n-6)"	1,46	0,20	0,97	0,70	1,18	0,46	0,33	0,46	0,00	0,00	0,22	0,32
18:3(n-3)"	2,07	0,32	2,09	0,31	2,13	0,17	1,03	0,07	1,59	0,13	1,21	0,00
18:4(n-3)"	6,30	1,73	7,43	0,88	7,13	0,91	3,41	0,15	5,79	0,86	4,17	0,17
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,24	0,01	0,15	0,01	0,18	0,02	0,76	0,01	0,40	0,05	0,65	0,02
20:5(n-3)"	22,93	2,33	24,34	1,27	23,97	1,04	14,99	0,78	20,30	2,96	16,69	0,41
22:5(n-6)"	0,65	0,08	0,66	0,05	0,65	0,05	1,38	0,00	1,52	0,37	1,42	0,12
22:5(n-3)"	0,47	0,13	-	-	0,16	0,10	0,91	0,08	0,13	0,00	0,66	0,05
22:6(n-3)"	9,49	1,58	13,22	2,12	11,70	0,56	6,64	0,22	10,64	2,12	7,92	0,83
TO.SAT.	20,91	0,70	28,00	2,05	25,80	2,31	31,91	0,23	40,48	6,58	34,65	1,96
TO.MONO	28,15	1,69	17,90	1,17	21,10	1,57	32,23	0,64	16,77	0,88	27,28	0,73
TO.(n-9)	1,65	0,45	1,16	0,26	1,26	0,14	2,18	0,10	1,56	0,07	1,98	0,05
TO.(n-7)	26,11	1,62	16,38	1,22	19,49	1,88	30,05	0,54	15,18	0,91	25,29	0,67
TO.POLY	50,68	2,17	52,62	1,66	52,04	1,43	35,78	0,94	42,66	5,77	37,98	1,20
TO.(n-4)	0,78	0,21	1,02	0,74	1,01	0,43	0,69	0,39	1,23	0,01	0,86	0,27
TO.(n-6)	7,51	0,46	3,66	1,18	5,01	0,34	7,98	0,56	2,87	0,29	6,34	0,47
TO.(n-3)	42,21	2,45	47,13	3,69	45,34	2,22	27,05	0,68	38,48	6,12	30,71	1,48
(n-3)/(n-6)	5,65	0,68	14,43	6,58	9,10	1,00	0,40	0,10	13,60	3,53	4,86	0,60
22:6/20:5	0,42	0,10	0,54	0,07	0,49	0,01	0,05	0,01	0,52	0,03	0,47	0,04
22:5/20:4	2,72	0,34	4,50	0,19	3,69	0,35	0,22	0,06	3,89	1,37	2,20	0,25
fg/cell	758,07	185,46	1694,47	594,39	2452,54	481,67	1817,32	435,66	855,35	200,93	2672,66	636,59
STEROLS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
Cholestérol	0,22	0,26	0,18	0,27	0,22	0,25	0,39	0,00	0,41	0,26	0,40	0,06
Brassicatérol	-	-	0,25	0,18	0,08	0,06	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	2,42	0,49	-	-	1,69	0,40	2,36	0,01	0,05	0,05	1,57	0,11
Campestérol	4,26	1,74	2,52	0,53	3,67	1,17	4,00	0,16	0,80	1,21	2,90	0,07
24 Methylène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stigmastérol	11,52	0,82	25,04	5,49	15,53	1,57	19,56	1,68	10,40	10,51	16,43	1,95
MePoriféra	16,34	2,64	0,09	0,19	11,39	2,20	20,80	0,08	0,31	0,18	13,80	0,88
béta sitostérol	24,52	2,15	6,67	1,34	18,95	1,50	16,44	0,52	2,27	3,11	11,58	0,33
Fucostérol	1,62	0,84	0,04	0,07	0,81	0,98	1,08	0,02	0,30	0,19	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	31,11	4,46	47,43	2,34	36,21	3,05	26,64	0,56	54,22	4,44	36,08	1,90
Ethylpavlovol	7,98	1,94	17,76	5,46	11,12	3,34	8,73	0,48	31,25	10,18	16,43	1,44
fg/cell	944,74	632,47	413,43	286,57	1358,17	903,00	531,78	70,10	274,38	234,20	806,16	57,64

Rhodomonas salina (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		3		3		3	
14:0"	11,58	5,76	5,38	3,55	8,65	4,48	17,18	1,68	4,23	4,15	11,53	4,88
16:0"	21,37	5,52	15,83	7,20	18,67	5,65	24,74	1,69	15,91	1,14	21,07	2,23
18:0"	1,91	0,39	0,75	0,29	1,39	0,40	1,57	0,32	0,77	0,25	1,18	0,23
20:0"	0,04	0,08	-	-	0,02	0,04	0,03	0,03	-	-	0,02	0,02
22:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24:0"	0,06	0,07	-	-	0,02	0,03	0,02	0,02	0,74	1,18	0,48	0,77
16:1(n-9)"	0,60	0,45	0,24	0,19	0,40	0,29	0,89	0,12	0,27	0,24	0,60	0,22
16:1(n-7)"	1,44	1,05	0,76	0,56	1,06	0,76	0,83	0,73	1,24	0,67	1,05	0,36
16:1(n-13)t"	-	-	1,17	1,02	0,67	0,60	-	-	1,62	1,49	0,45	0,45
18:1(n-9)"	6,70	0,90	1,91	2,20	4,50	1,36	6,68	1,80	1,65	0,48	4,44	0,56
18:1(n-7)"	2,00	1,45	1,68	1,95	1,70	1,30	1,19	1,10	5,74	1,20	2,97	0,32
16:2(n-7)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	0,09	0,10	0,04	0,07	0,06	0,04	0,02	0,02	-	-	0,01	0,01
16:3(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,35	0,18	0,03	0,05	0,19	0,05
16:4(n-3)"	-	-	0,06	0,12	0,04	0,07	0,03	0,03	-	-	0,02	0,02
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	18,02	3,78	12,14	5,68	15,15	5,35	17,60	4,01	12,73	6,04	15,90	4,03
18:2(n-4)"	0,29	0,59	0,00	0,00	0,13	0,25	-	-	1,61	1,54	0,41	0,37
18:3(n-6)"	0,89	0,41	2,71	1,22	1,74	0,61	1,25	0,33	1,54	2,66	1,72	1,61
18:3(n-3)"	11,33	1,52	13,30	2,07	12,29	0,89	12,02	3,09	12,22	1,68	12,23	2,46
18:4(n-3)"	9,19	5,90	14,67	4,15	11,77	5,43	6,11	2,30	11,96	2,37	8,39	1,58
18:5(n-3)"	0,02	0,05	0,02	0,05	0,02	0,05	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,54	0,58	1,78	0,37	1,22	0,22	1,64	0,39	2,13	0,36	1,90	0,20
20:5(n-3)"	7,89	4,92	12,56	4,38	10,17	4,92	4,96	1,98	10,49	0,10	7,39	0,85
22:5(n-6)"	0,00	0,00	0,55	0,52	0,31	0,31	0,03	0,03	1,35	0,85	0,45	0,21
22:5(n-3)"	0,08	0,08	0,07	0,05	0,08	0,06	0,07	0,06	0,16	0,04	0,11	0,02
22:6(n-3)"	2,25	0,92	9,88	2,97	6,15	2,56	1,65	0,40	11,47	1,70	5,75	2,64
TO.SAT.	35,70	11,17	22,47	11,00	29,35	10,17	44,00	3,94	21,70	4,45	34,48	6,24
TO.MONO	12,35	2,95	7,46	1,88	9,86	2,01	9,94	0,12	11,18	3,22	9,96	1,29
TO.(n-9)	7,68	1,77	2,45	2,41	5,17	1,75	7,61	1,85	1,93	0,50	5,06	0,67
TO.(n-7)	3,98	1,30	3,05	2,25	3,28	1,18	2,07	1,72	7,12	1,58	4,13	0,29
TO.POLY	51,11	9,09	68,62	12,32	59,79	9,84	45,92	3,97	66,04	4,76	54,80	6,28
TO.(n-4)	0,38	0,66	0,04	0,07	0,19	0,27	0,37	0,16	1,64	1,59	0,62	0,40
TO.(n-6)	19,55	4,62	17,33	6,37	18,55	5,68	20,61	3,95	17,85	7,98	20,07	5,49
TO.(n-3)	31,18	13,28	51,22	12,51	41,04	13,74	24,88	7,71	46,35	2,41	33,95	4,07
(n-3)/(n-6)	1,79	1,11	3,32	1,60	2,53	1,46	0,41	0,29	2,98	1,30	1,78	0,57
22:6/20:5	0,33	0,10	0,80	0,11	0,62	0,14	0,17	0,21	1,09	0,17	0,77	0,31
22:5/20:4	-	-	0,28	0,27	0,27	0,27	-	-	0,68	0,52	0,24	0,14
fg/cell	2952,12	1085,55	2672,90	803,86	5625,02	660,48	14058,09	5343,09	12023,56	12445,37	26081,65	13746,85
STEROLS												
Réplicats	4		4		4		3		3		3	
Cholestérol	1,48	1,73	-	-	1,48	1,73	0,36	0,32	-	-	0,36	0,32
Brassicatérol	96,68	1,78	-	-	96,68	1,78	97,26	0,45	-	-	97,26	0,45
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	0,29	0,58	-	-	0,29	0,58	0,28	0,48	-	-	0,28	0,48
24 Methylène	1,55	1,31	-	-	1,55	1,31	2,10	0,31	-	-	2,10	0,31
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	354,67	132,14			354,67	132,14	434,26	193,97			434,26	193,97

T. isochrysis (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4	-	4	-	4	-	2	-	2	-	2	-
14:0"	28,10	4,73	22,05	5,23	25,40	4,42	23,94	11,00	10,25	3,20	20,06	8,83
16:0"	11,89	1,24	14,91	3,17	13,28	1,43	11,69	0,93	15,58	2,81	12,73	0,19
18:0"	0,95	0,12	0,60	0,51	0,79	0,29	0,75	0,75	0,41	0,10	0,60	0,47
20:0"	-	-	-	-	-	-	0,66	0,57	1,19	1,04	0,80	0,70
22:0"	0,69	0,12	-	-	0,38	0,07	0,28	0,24	-	-	0,20	0,17
24:0"	0,13	0,18	0,07	0,05	0,10	0,11	0,04	0,04	0,12	0,10	0,06	0,05
16:1(n-9)"	0,21	0,14	0,07	0,14	0,15	0,12	0,18	0,15	0,14	0,13	0,17	0,15
16:1(n-7)"	0,92	0,61	2,43	0,45	1,61	0,13	1,87	0,42	2,52	0,49	2,08	0,39
16:1(n-13)t"	-	-	-	-	-	-	0,10	0,08	0,07	0,11	0,09	0,08
18:1(n-9)"	29,98	4,72	11,71	7,86	21,61	6,13	31,15	3,90	15,67	1,51	25,76	0,51
18:1(n-7)"	0,00	0,00	0,28	0,55	0,13	0,25	-	-	-	-	-	-
16:2(n-7)"	0,06	0,07	0,19	0,13	0,12	0,08	-	-	-	-	-	-
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	0,07	0,14	0,22	0,26	0,14	0,17	0,08	0,07	0,30	0,26	0,14	0,12
16:3(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,32	0,28	0,18	0,16	0,28	0,24
16:4(n-3)"	0,00	0,00	0,02	0,04	0,01	0,02	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01	0,01
16:4(n-1)"	0,00	0,00	0,05	0,10	0,02	0,05	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	4,26	0,64	2,07	1,39	3,26	0,75	6,71	4,63	3,71	2,33	5,58	3,47
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,03	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04
18:3(n-6)"	0,48	0,85	0,17	0,17	0,34	0,52	0,04	0,07	0,37	0,64	0,19	0,26
18:3(n-3)"	1,42	0,08	6,71	0,62	3,83	0,32	2,33	0,67	6,35	0,72	3,56	0,59
18:4(n-3)"	8,04	0,71	15,84	1,02	11,59	0,20	9,41	2,77	12,36	4,58	10,26	3,19
18:5(n-3)"	0,91	0,63	1,28	0,96	1,09	0,75	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,11	0,08	-	-	0,06	0,04	0,30	0,27	0,09	0,10	0,22	0,19
20:5(n-3)"	0,28	0,04	0,52	0,08	0,39	0,02	0,34	0,13	0,43	0,25	0,38	0,18
22:5(n-6)"	0,96	0,12	3,36	0,31	2,06	0,24	0,35	0,30	4,99	2,06	2,01	1,03
22:5(n-3)"	0,15	0,10	0,22	0,04	0,18	0,07	0,18	0,03	0,12	0,10	0,15	0,05
22:6(n-3)"	5,63	1,07	15,80	1,76	10,27	1,12	5,78	0,59	21,05	2,85	10,84	2,54
TO.SAT.	42,39	3,17	38,15	7,83	40,53	4,62	37,36	10,17	27,54	6,36	34,45	9,40
TO.MONO	34,51	2,50	14,64	7,61	25,37	3,63	33,80	2,81	20,65	1,93	29,45	1,24
TO.(n-9)	30,63	4,98	11,80	7,91	22,00	6,30	31,43	3,67	15,81	1,61	26,00	0,34
TO.(n-7)	3,51	4,11	2,84	0,56	3,18	2,33	1,89	0,44	4,54	3,02	2,97	1,13
TO.POLY	22,97	1,84	46,99	1,08	33,92	1,52	28,79	7,27	51,59	4,37	35,99	8,04
TO.(n-4)	0,07	0,14	0,22	0,26	0,14	0,17	0,43	0,37	0,53	0,46	0,46	0,40
TO.(n-6)	6,06	0,57	6,06	1,36	6,06	0,88	9,32	7,35	10,28	6,80	9,60	7,23
TO.(n-3)	16,67	1,69	40,39	1,55	27,49	1,65	18,42	0,79	40,57	3,86	25,50	0,70
(n-3)/(n-6)	2,77	0,44	7,01	2,07	4,63	0,95	0,78	0,17	5,13	2,73	3,59	1,86
22:6/20:5	19,73	1,80	30,97	4,97	26,25	3,31	6,89	5,33	57,70	21,73	31,05	6,67
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	0,44	0,39	-	-	10,86	3,74
fg/cell	761,90	326,17	628,29	235,49	1390,19	556,26	1209,38	736,81	501,05	183,90	1710,43	920,55
STEROLS												
Réplicats	4	-	4	-	4	-	2	-	2	-	2	-
Cholestérol	4,34	2,78	-	-	4,31	2,73	0,68	0,09	-	-	0,67	0,09
Brassicatérol	95,66	2,78	tr	-	95,69	2,73	99,32	0,09	tr.	-	99,33	0,09
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 Methylène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	57,79	16,43	tr.	-	58,05	16,34	82,41	7,42	1,30	-	83,71	7,68

Isochrysis galbana (origine Argenton)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		3		3		3	
14:0"	14,93	3,05	24,57	13,50	17,26	5,62	19,52	11,94	32,20	14,81	20,83	5,06
16:0"	15,73	1,62	45,70	22,71	21,08	3,28	13,98	2,53	35,13	19,40	18,32	5,64
18:0"	1,80	1,25	3,72	2,53	2,05	1,09	1,60	1,30	1,99	1,47	1,67	1,29
20:0"	1,07	1,24	-	-	0,92	1,07	1,43	1,24	0,45	0,77	1,23	1,07
22:0"	0,94	0,14	-	-	0,74	0,19	0,90	0,62	-	-	0,71	0,52
24:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	0,29	0,51	0,12	0,21
16:1(n-9)"	0,03	0,06	0,39	0,52	0,14	0,17	0,06	0,11	0,00	0,00	0,05	0,09
16:1(n-7)"	1,75	0,55	0,62	1,23	1,58	0,37	1,64	0,53	1,01	1,48	1,55	0,76
16:1(n-13)t"	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07	0,12	0,03	0,05
18:1(n-9)"	32,85	3,19	8,42	10,33	28,07	4,99	32,84	4,93	6,33	6,51	26,54	4,66
18:1(n-7)"	0,00	0,00	0,87	1,73	0,26	0,52	-	-	0,28	0,49	0,12	0,20
16:2(n-7)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	0,26	0,20	0,23	0,45	0,27	0,25	0,18	0,15	0,15	0,26	0,20	0,01
16:3(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,15	0,25	-	-	0,08	0,15
16:4(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	9,90	0,43	2,63	3,19	8,38	0,79	7,69	2,27	1,57	1,45	6,31	1,90
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,08	0,07	-	-	0,07	0,06
18:3(n-6)"	0,16	0,33	0,70	1,21	0,32	0,38	0,12	0,20	0,17	0,30	0,14	0,24
18:3(n-3)"	2,11	0,30	1,95	2,56	2,18	0,61	2,11	0,12	2,51	3,46	2,51	1,15
18:4(n-3)"	5,50	1,47	2,20	3,13	4,82	0,73	5,70	1,91	6,14	9,68	6,47	4,63
18:5(n-3)"	0,63	1,26	0,87	1,73	0,70	1,40	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,50	0,06	0,06	0,12	0,41	0,09	0,39	0,18	-	-	0,30	0,17
20:5(n-3)"	0,48	0,18	0,20	0,39	0,44	0,13	0,38	0,07	0,12	0,20	0,33	0,01
22:5(n-6)"	1,38	0,11	5,31	2,01	2,33	0,78	1,43	0,50	4,03	1,59	2,27	0,45
22:5(n-3)"	0,58	0,26	0,09	0,17	0,50	0,26	0,45	0,29	0,04	0,07	0,37	0,22
22:6(n-3)"	5,03	0,34	8,41	13,89	6,36	4,04	5,57	0,34	6,16	8,00	6,41	2,61
TO.SAT.	34,51	0,43	65,51	43,98	39,54	11,21	37,62	6,80	70,06	35,12	43,00	3,74
TO.MONO	35,61	2,82	10,45	13,21	30,81	4,51	35,75	3,26	8,46	9,71	29,38	2,58
TO.(n-9)	33,04	3,01	8,81	10,41	28,32	4,76	33,00	4,88	6,33	6,51	26,65	4,66
TO.(n-7)	2,33	1,18	1,64	2,87	2,28	0,50	2,36	1,74	1,96	3,12	2,36	2,16
TO.POLY	29,84	2,67	23,94	30,93	29,59	9,37	26,51	3,58	21,19	24,99	27,42	5,48
TO.(n-4)	0,26	0,20	0,23	0,45	0,27	0,25	0,40	0,03	0,15	0,26	0,36	0,08
TO.(n-6)	14,79	1,02	9,84	8,35	13,96	2,45	11,55	4,43	5,81	3,32	10,58	2,79
TO.(n-3)	14,77	1,68	13,87	22,18	15,35	6,72	14,49	0,92	15,02	21,45	16,34	7,95
(n-3)/(n-6)	1,00	0,05	0,90	0,90	1,07	0,25	1,21	1,04	1,78	2,38	1,79	1,42
22:6/20:5	11,76	4,97	-	-	15,04	9,58	11,46	5,28	-	-	19,61	8,63
22:5/20:4	2,79	0,23	-	-	5,96	2,40	3,06	1,60	-	-	12,40	12,52
fg/cell	1227,62	490,17	317,37	101,03	1545,00	459,30	1632,73	195,20	687,87	530,30	2320,60	708,53
STEROLS												
Réplicats	4		4		4		2		2		2	
Cholestérol	6,46	2,87	-	-	6,46	2,87	6,94	1,17	-	-	6,94	1,17
Brassicatérol	93,54	2,87	-	-	93,54	2,87	93,06	1,17	-	-	93,06	1,17
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 Methylène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	32,62	10,20	-	-	32,62	10,20	33,85	0,59	-	-	33,85	0,59

Chaetoceros calcitrans forma *pumilum* (origine CCAP)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	2		2		2		2		2		2	
14:0"	13,05	13,06	20,50	4,83	17,33	1,27	18,07	0,84	20,74	1,74	19,42	0,45
16:0"	8,80	3,12	7,67	1,03	7,78	0,07	20,47	1,18	13,47	1,11	16,85	0,11
18:0"	1,24	0,47	0,38	0,03	0,61	0,07	1,03	0,04	1,17	0,13	1,10	0,08
20:0"	-	-	-	-	-	-	0,10	0,00	0,03	0,04	0,06	0,02
22:0"	0,09	0,13	0,31	0,03	0,24	0,04	0,26	0,00	0,33	0,15	0,30	0,08
24:0"	0,14	0,20	0,02	0,03	0,05	0,07	0,32	0,02	0,18	0,06	0,25	0,02
16:1(n-9)"	0,50	0,49	-	-	0,12	0,09	0,47	0,20	0,05	0,08	0,25	0,14
16:1(n-7)"	24,08	2,04	29,07	2,07	27,59	1,51	35,76	0,32	27,22	0,39	31,36	0,18
16:1(n-13)t"	-	-	1,10	0,02	0,77	0,10	0,28	0,25	0,36	0,05	0,32	0,14
18:1(n-9)"	0,83	0,45	0,42	0,09	0,51	0,02	0,82	0,17	1,28	0,01	1,06	0,07
18:1(n-7)"	0,37	0,09	0,67	0,11	0,58	0,07	0,50	0,05	1,23	0,03	0,88	0,03
16:2(n-7)"	1,31	0,40	2,86	0,15	2,44	0,16	2,19	0,17	3,12	0,21	2,67	0,04
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	2,92	1,42	3,70	0,09	3,54	0,40	2,50	0,12	4,26	0,21	3,41	0,08
16:3(n-4)"	7,62	4,39	9,36	2,57	9,23	0,71	2,86	0,47	7,10	1,24	5,06	0,48
16:4(n-3)"	0,24	0,33	0,04	0,05	0,12	0,09	-	-	-	-	-	-
16:4(n-1)"	0,14	0,07	0,20	0,00	0,19	0,01	0,11	0,00	0,22	0,02	0,16	0,01
18:2(n-6)"	0,49	0,05	0,67	0,04	0,62	0,06	0,41	0,04	0,82	0,02	0,63	0,02
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	0,11	0,16	0,26	0,03	0,22	0,01	-	-	0,06	0,00	0,03	0,00
18:3(n-3)"	0,06	0,09	0,07	0,10	0,07	0,10	0,16	0,01	0,25	0,01	0,21	0,00
18:4(n-3)"	2,44	1,14	2,49	0,59	2,57	0,08	0,31	0,01	0,51	0,10	0,42	0,05
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,68	0,25	0,34	0,00	0,46	0,11	0,22	0,03	0,29	0,01	0,26	0,01
20:5(n-3)"	30,99	8,72	16,20	2,85	21,20	2,18	9,58	0,65	13,28	1,96	11,50	0,75
22:5(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13	0,13	0,07	0,06
22:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	0,07	0,02	-	-	0,04	0,01
22:6(n-3)"	0,73	0,72	1,01	0,08	0,97	0,12	0,43	0,05	1,05	0,13	0,75	0,10
TO.SAT.	24,60	17,14	29,64	5,70	26,91	1,59	41,20	1,98	36,69	3,10	38,84	0,71
TO.MONO	27,14	0,16	32,39	1,19	30,76	0,22	39,39	0,40	31,10	0,49	35,12	0,58
TO.(n-9)	1,33	0,94	0,42	0,09	0,63	0,11	1,29	0,37	1,33	0,07	1,31	0,21
TO.(n-7)	25,07	1,26	29,92	1,91	28,45	1,19	36,68	0,26	28,59	0,41	32,51	0,21
TO.POLY	48,03	17,30	37,86	6,75	42,18	1,46	18,98	1,44	31,99	3,63	25,72	1,38
TO.(n-4)	10,54	5,80	13,06	2,48	12,77	0,31	5,37	0,59	11,36	1,45	8,47	0,56
TO.(n-6)	1,28	0,36	1,34	0,17	1,35	0,02	0,64	0,06	1,46	0,13	1,06	0,09
TO.(n-3)	34,61	10,61	20,20	3,92	25,25	1,94	10,55	0,61	15,56	2,12	13,15	0,87
(n-3)/(n-6)	26,89	0,71	15,03	1,06	18,71	1,68	16,54	0,71	10,79	2,42	12,48	1,83
22:6/20:5	0,02	0,02	0,06	0,01	0,05	0,00	0,04	0,01	0,08	0,00	0,06	0,00
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	0,46	0,45	0,25	0,24
fg/cell	224,75	97,01	657,93	558,44	882,68	655,44	935,95	65,57	991,63	5,08	1927,58	70,66
STEROLS												
Réplicats	2				2						2	
Cholestérol	12,34	1,00	-	-	12,34	1,00	22,09	1,16	-	-	22,09	1,16
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	2,83	0,23	-	-	2,83	0,23
24 Methylène	82,43	6,09	-	-	82,43	6,09	54,73	2,49	-	-	54,73	2,49
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	1,26	1,12	-	-	1,26	1,12	4,28	0,39	-	-	4,28	0,39
Isofucostérol	3,97	3,96	-	-	3,97	3,96	16,07	3,03	-	-	16,07	3,03
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	41,82	6,04	-	-	41,82	6,04	54,31	0,67	-	-	54,31	0,67

Chaetoceros muelleri (origine CCAP)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	2		2		2		2		2		2	
14:0"	11,09	6,31	14,43	1,23	12,93	1,75	5,13	0,22	6,93	0,26	5,51	0,18
16:0"	13,67	3,34	16,81	2,50	15,45	0,15	33,77	0,43	26,00	1,19	32,06	0,88
18:0"	2,04	0,91	0,96	0,06	1,31	0,21	1,56	0,04	1,09	0,15	1,46	0,05
20:0"	0,24	0,10	0,09	0,02	0,14	0,04	0,10	0,00	0,04	0,06	0,09	0,02
22:0"	0,32	0,10	0,40	0,24	0,38	0,20	0,21	0,01	0,31	0,10	0,23	0,03
24:0"	0,48	0,21	0,17	0,06	0,28	0,09	0,34	0,01	0,18	0,00	0,31	0,01
16:1(n-9)"	0,46	0,44	0,10	0,03	0,21	0,15	0,52	0,29	0,29	0,07	0,46	0,20
16:1(n-7)"	30,17	1,72	22,74	0,12	25,34	0,05	39,15	1,42	22,28	0,50	35,50	1,61
16:1(n-13)t"	0,00	0,00	0,49	0,04	0,31	0,01	0,44	0,21	0,41	0,02	0,43	0,16
18:1(n-9)"	0,79	0,60	0,93	0,19	0,85	0,11	0,74	0,06	1,55	0,09	0,92	0,10
18:1(n-7)"	0,31	0,05	0,34	0,06	0,32	0,02	0,93	0,01	0,57	0,01	0,85	0,02
16:2(n-7)"	1,85	0,72	2,51	0,60	2,32	0,18	1,07	0,09	1,89	0,05	1,24	0,11
16:2(n-6)"	0,24	0,02	0,09	0,13	0,14	0,11	0,27	0,06	-	-	0,21	0,04
16:2(n-4)"	1,54	0,26	2,06	0,06	1,88	0,01	0,57	0,01	1,28	0,05	0,72	0,03
16:3(n-4)"	6,57	4,92	5,72	2,36	6,31	0,32	0,53	0,03	4,97	0,05	1,50	0,19
16:4(n-3)"	0,31	0,44	0,15	0,21	0,21	0,30	0,01	0,01	-	-	0,01	0,01
16:4(n-1)"	0,07	0,10	0,14	0,04	0,12	0,00	0,02	0,00	0,08	0,00	0,04	0,00
18:2(n-6)"	0,44	0,19	1,14	0,21	0,87	0,01	0,90	0,01	2,45	0,04	1,24	0,07
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	0,49	0,09	2,07	0,12	1,50	0,01	0,83	0,01	3,43	0,02	1,40	0,09
18:3(n-3)"	-	-	0,03	0,04	0,02	0,02	0,04	0,00	0,03	0,04	0,04	0,01
18:4(n-3)"	1,02	0,50	1,49	0,13	1,34	0,06	0,50	0,01	1,02	0,05	0,61	0,02
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	3,50	0,51	3,01	0,17	3,20	0,33	2,40	0,04	5,31	0,15	3,04	0,17
20:5(n-3)"	19,82	7,15	18,78	2,15	19,52	1,28	6,04	0,18	14,93	0,38	7,99	0,26
22:5(n-6)"	-	-	0,28	0,19	0,17	0,10	0,01	0,02	0,47	0,17	0,11	0,01
22:5(n-3)"	-	-	0,12	0,03	0,07	0,01	0,05	0,00	0,08	0,02	0,06	0,00
22:6(n-3)"	0,63	0,45	2,39	0,53	1,75	0,36	0,66	0,42	1,79	0,04	0,92	0,28
TO.SAT.	29,60	11,03	33,82	3,53	31,72	2,05	41,80	0,11	35,46	1,11	40,40	0,55
TO.MONO	33,04	3,30	25,35	0,32	27,97	0,37	43,37	0,33	25,78	0,47	39,54	0,28
TO.(n-9)	1,61	1,00	1,06	0,12	1,21	0,24	1,30	0,39	1,84	0,02	1,41	0,33
TO.(n-7)	30,70	2,08	23,10	0,14	25,75	0,05	40,13	1,39	22,85	0,51	36,40	1,60
TO.POLY	36,82	14,71	40,72	3,85	40,05	2,52	14,32	0,37	38,53	0,65	19,62	0,72
TO.(n-4)	8,10	5,18	7,77	2,43	8,20	0,34	1,10	0,02	6,26	0,10	2,23	0,22
TO.(n-6)	4,80	0,26	6,81	0,74	6,07	0,40	4,55	0,16	11,98	0,01	6,17	0,39
TO.(n-3)	21,92	8,57	23,48	1,52	23,32	1,99	7,49	0,60	18,30	0,54	9,87	0,04
(n-3)/(n-6)	4,53	1,54	3,48	0,60	3,84	0,07	1,65	0,19	1,53	0,05	3,84	0,10
22:6/20:5	0,03	0,01	0,13	0,04	0,09	0,01	0,11	0,07	0,12	0,00	0,09	0,04
22:5/20:4	-	-	0,09	0,06	0,05	0,02	0,01	0,01	0,09	0,03	0,05	0,00
fg/cell	559,94	201,78	1098,61	725,82	1658,55	927,60	5290,72	704,58	1504,95	509,66	6795,66	1214,25
STEROLS												
Réplicats	2		-		2		-		-		2	
Cholestérol	48,40	1,58	-	-	48,40	1,58	50,22	0,65	-	-	50,22	0,65
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 Méthylène	10,67	0,48	-	-	10,67	0,48	3,09	0,12	-	-	3,09	0,12
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	0,50	0,71	-	-	0,50	0,71	0,70	0,05	-	-	0,70	0,05
Fucostérol	34,79	4,37	-	-	34,79	4,37	36,71	1,62	-	-	36,71	1,62
Isofucostérol	5,63	3,02	-	-	5,63	3,02	9,28	2,44	-	-	9,28	2,44
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	124,18	39,60	-	-	124,18	39,60	174,37	27,97	-	-	174,37	27,97

Tetraselmis suecica (origine CCAP)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	4		4		4		4		4		4	
14:0"	6,09	7,66	7,74	8,47	2,91	2,12	1,16	0,45	1,22	0,77	1,22	0,15
16:0"	22,84	5,92	18,48	6,87	25,03	3,23	30,50	3,56	29,74	3,94	30,82	1,23
18:0"	2,63	2,79	1,78	1,57	1,34	0,99	1,08	0,21	0,94	0,33	1,03	0,15
20:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:0"	0,31	0,40	0,22	0,39	0,33	0,38	0,13	0,17	0,07	0,11	0,11	0,11
24:0"	0,15	0,30	0,12	0,23	0,15	0,30	-	-	0,04	0,08	0,02	0,04
16:1(n-9)"	3,27	2,73	6,62	9,09	2,62	1,94	2,63	0,82	2,74	1,24	2,79	0,29
16:1(n-7)"	0,87	1,27	0,11	0,22	0,25	0,51	0,66	0,74	0,33	0,25	0,39	0,25
16:1(n-13)t"	1,21	1,41	1,63	1,89	1,88	1,31	0,34	0,41	0,34	0,43	0,34	0,25
18:1(n-9)"	12,60	9,09	8,61	3,21	12,06	9,46	24,81	12,10	27,16	11,60	26,39	4,51
18:1(n-7)"	1,69	1,20	1,03	0,81	1,99	0,63	2,96	0,70	2,52	1,74	2,83	0,90
16:2(n-7)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-6)"	0,49	0,35	0,26	0,30	0,41	0,30	0,60	0,32	0,52	0,22	0,55	0,10
16:2(n-4)"	0,18	0,36	0,09	0,19	0,18	0,36	0,04	0,06	-	-	0,01	0,01
16:3(n-4)"	0,40	0,80	0,52	1,05	0,40	0,80	-	-	-	-	-	-
16:4(n-3)"	11,18	4,13	14,16	1,94	11,96	4,51	7,42	3,59	4,13	5,87	5,81	3,91
16:4(n-1)"	-	-	0,04	0,08	0,04	0,07	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	3,57	3,06	2,14	0,57	3,85	1,96	3,55	0,44	3,53	0,82	3,55	0,46
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	0,30	0,28	0,33	0,40	0,33	0,24	0,42	0,18	0,38	0,07	0,41	0,14
18:3(n-3)"	10,41	5,20	10,19	5,16	12,29	3,49	9,77	4,09	10,60	5,40	9,69	1,32
18:4(n-3)"	8,80	3,73	11,63	1,78	8,96	3,77	3,90	1,82	4,53	2,67	4,15	1,02
18:5(n-3)"	0,69	0,47	0,77	0,11	0,62	0,43	0,05	0,06	0,13	0,13	0,09	0,07
20:4(n-6)"	0,17	0,20	0,16	0,18	0,23	0,16	0,48	0,13	0,52	0,16	0,51	0,08
20:5(n-3)"	2,99	1,30	2,66	1,20	3,42	0,63	4,30	2,05	4,92	2,76	4,44	0,62
22:5(n-6)"	0,57	0,95	0,78	1,15	0,71	0,88	0,39	0,45	0,28	0,43	0,42	0,29
22:5(n-3)"	0,27	0,41	0,03	0,05	0,29	0,40	0,02	0,05	-	-	0,01	0,01
22:6(n-3)"	0,39	0,45	0,68	0,90	0,80	0,70	0,24	0,21	0,22	0,20	0,23	0,08
TO.SAT.	32,85	7,71	28,78	3,47	30,22	5,12	33,01	4,03	32,07	4,86	33,29	1,31
TO.MONO	21,15	9,95	19,41	7,34	20,36	10,37	32,79	10,99	34,97	10,45	34,19	4,87
TO.(n-9)	16,88	10,62	15,94	9,41	15,94	11,01	28,74	12,19	31,43	11,51	30,44	4,71
TO.(n-7)	3,07	0,66	1,84	0,84	2,54	0,89	3,71	1,18	3,00	1,68	3,31	0,95
TO.POLY	42,74	17,18	49,05	13,98	48,03	15,03	33,75	13,83	32,60	14,88	32,14	5,05
TO.(n-4)	0,58	0,76	0,62	1,00	0,58	0,76	0,04	0,06	0,00	0,00	0,01	0,01
TO.(n-6)	5,74	4,23	5,64	3,91	7,13	2,21	6,01	1,38	6,53	2,56	6,23	0,75
TO.(n-3)	36,18	13,23	41,99	9,21	39,88	12,85	27,36	12,69	25,69	12,87	25,52	5,12
(n-3)/(n-6)	13,70	17,02	11,19	7,49	5,58	0,57	4,46	1,63	3,91	1,36	4,14	0,91
22:6/20:5	0,10	0,11	0,19	0,25	0,22	0,21	0,05	0,03	0,04	0,03	0,05	0,01
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	0,72	0,81	0,58	0,96	0,88	0,63
fg/cell	9891,56	8938,66	6901,91	7171,88	14658,68	8426,50	18561,73	16670,43	11876,55	6096,96	30438,28	18708,24
STEROLS												
Réplicats	4		4		4		4		4		4	
Cholestérol	1,81	3,62	-	-	1,81	3,62	1,24	1,55	0,00	0,00	1,22	1,52
Brassicatérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	22,41	4,18	tr	-	22,51	4,32	22,91	6,42	34,43	47,19	23,49	7,04
24 Methylène	75,78	4,87	tr	-	75,63	4,90	75,85	6,99	15,57	31,14	75,27	7,64
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	481,90	207,09	0,14		490,55	220,03	723,60	242,76	18,78	22,99	742,38	253,48

Pavlova lutheri (origine CCAP)

	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Replicats	4		4		4		4		4		4	
14:0"	8,61	4,45	8,18	4,33	8,36	3,91	8,05	3,61	7,63	3,31	7,83	0,63
16:0"	26,42	2,91	24,25	3,73	25,52	3,22	26,72	4,51	27,66	7,96	27,19	2,20
18:0"	0,76	0,21	0,72	0,16	0,77	0,07	0,62	0,08	0,64	0,12	0,63	0,10
20:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:1(n-9)"	0,21	0,18	0,13	0,15	0,18	0,13	0,29	0,40	0,10	0,16	0,18	0,24
16:1(n-7)"	22,96	12,22	21,00	11,60	22,14	8,76	21,05	11,58	21,80	11,51	21,47	4,21
16:1(n-13)t"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1(n-9)"	1,52	0,70	1,55	0,63	1,55	0,49	1,57	0,50	1,70	0,44	1,64	0,33
18:1(n-7)"	1,44	0,62	1,31	0,55	1,39	0,41	1,52	0,35	1,52	0,36	1,53	0,03
16:2(n-7)"	0,25	0,14	0,31	0,26	0,30	0,18	0,17	0,09	0,19	0,21	0,18	0,09
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	0,55	0,26	0,43	0,08	0,48	0,15	0,35	0,16	0,28	0,17	0,32	0,06
16:3(n-4)"	0,02	0,05	0,00	0,00	0,01	0,02	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,00
16:4(n-3)"	0,07	0,13	0,17	0,33	0,12	0,17	0,10	0,20	0,14	0,16	0,12	0,08
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	2,84	2,39	2,51	2,19	2,61	1,63	2,32	1,59	2,47	1,02	2,41	0,30
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	0,42	0,03	0,44	0,16	0,43	0,03	0,80	0,33	0,94	0,53	0,87	0,27
18:3(n-3)"	0,63	0,38	0,57	0,27	0,63	0,34	1,27	0,67	1,19	0,86	1,23	0,44
18:4(n-3)"	5,09	3,26	5,40	2,82	5,15	2,35	5,04	2,62	4,92	3,06	4,94	0,55
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20:4(n-6)"	0,28	0,06	0,23	0,07	0,26	0,05	0,68	0,38	0,66	0,32	0,67	0,35
20:5(n-3)"	14,96	5,95	15,90	6,83	15,14	3,93	17,58	5,94	17,12	8,14	17,34	2,08
22:5(n-6)"	0,95	0,22	0,98	0,21	0,98	0,05	1,08	0,44	0,99	0,26	1,04	0,26
22:5(n-3)"	0,12	0,24	0,22	0,25	0,18	0,23	0,07	0,12	0,05	0,10	0,07	0,06
22:6(n-3)"	7,54	4,28	8,87	6,01	7,91	1,73	7,91	5,35	7,75	4,51	7,82	0,39
TO.SAT.	36,12	3,10	33,60	4,65	35,08	4,52	35,61	2,69	36,12	5,20	35,87	1,68
TO.MONO	26,48	13,87	25,09	13,98	26,03	9,80	24,95	12,30	25,58	12,44	25,31	4,27
TO.(n-9)	1,82	0,80	1,78	0,92	1,83	0,65	1,96	0,46	1,84	0,50	1,90	0,11
TO.(n-7)	24,52	12,97	23,17	12,97	24,08	9,19	22,74	11,87	23,44	11,96	23,15	4,22
TO.POLY	35,73	11,63	38,75	12,45	36,66	7,66	38,80	12,23	37,94	15,87	38,32	2,87
TO.(n-4)	0,58	0,26	0,43	0,08	0,49	0,17	0,40	0,16	0,33	0,19	0,37	0,07
TO.(n-6)	4,82	2,54	4,77	2,67	4,74	1,87	5,44	1,68	5,54	1,13	5,50	0,77
TO.(n-3)	28,65	13,06	31,74	14,18	29,57	7,93	32,34	12,76	31,56	15,61	31,89	2,26
(n-3)/(n-6)	8,79	7,27	10,29	9,00	7,65	4,87	6,95	4,71	6,12	3,85	5,84	0,49
22:6/20:5	0,49	0,15	0,53	0,19	0,53	0,05	0,42	0,19	0,44	0,12	0,45	0,03
22:5/20:4	3,63	1,45	4,81	2,60	3,86	0,86	1,84	0,83	1,67	0,55	1,75	0,55
fg/cell	1083,70	400,90	2187,82	1407,57	3271,52	2188,82	921,12	160,54	891,31	291,83	1812,43	452,99
STEROLS												
Réplicats	3		4		3		4		4		4	
Cholestérol	0,14	0,24	-	-	0,08	0,13	0,08	0,10	-	-	0,04	0,05
Brassicatérol	0,74	0,44	0,81	0,29	0,72	0,27	0,27	0,10	0,77	0,32	0,31	0,12
Desmostérol	3,77	3,24	-	-	1,97	1,84	3,02	0,90	-	-	1,73	0,72
Campestérol	12,12	1,57	3,93	0,99	7,86	0,51	6,90	1,20	3,46	1,28	5,15	1,12
24 Methylène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stigmastérol	28,40	2,96	29,67	5,19	28,07	3,29	19,89	2,52	25,21	7,07	22,24	7,19
MePoriféra	14,10	1,86	3,71	4,02	9,83	0,57	16,28	2,40	0,12	0,24	9,00	0,51
béta sitostérol	25,96	3,61	2,49	3,02	13,76	0,54	19,69	3,02	5,37	1,09	18,16	8,90
Fucostérol	1,72	0,85	0,32	0,63	0,89	0,46	1,15	0,54	0,32	0,63	0,74	0,32
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	12,53	5,48	51,76	7,75	32,89	2,57	30,45	6,02	57,18	9,00	37,23	13,65
Ethylpavlovol	0,43	0,05	7,31	1,25	3,88	0,82	2,26	1,69	7,58	1,29	5,40	3,73
fg/cell	240,45	22,17	228,26	38,54	470,82	52,39	342,09	34,08	203,49	28,33	627,99	147,42

Rhodomonas salina (origine CCAP)

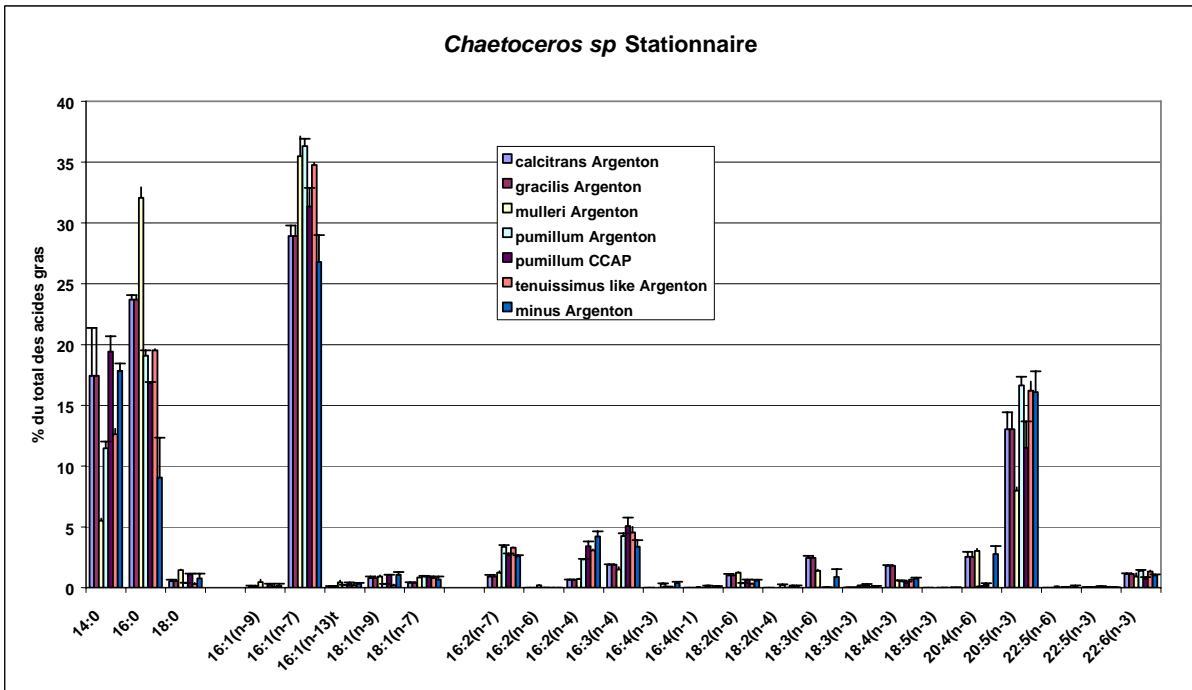
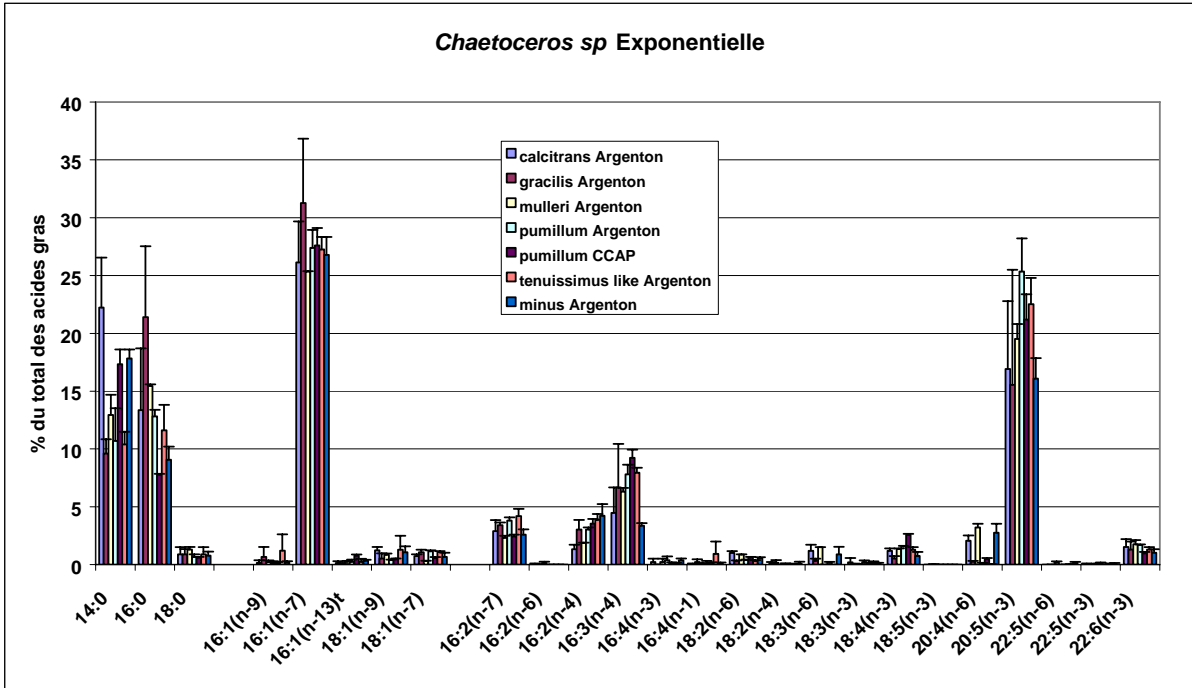
	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	2		2		2		2		2		2	
14:0"	8,95	9,85	10,66	8,19	12,93	0,20	10,10	9,97	14,96	3,02	14,82	0,96
16:0"	19,02	10,56	20,24	8,84	22,98	0,22	20,65	5,06	22,64	0,85	22,75	0,06
18:0"	1,14	0,80	1,08	0,13	1,29	0,23	2,15	0,44	2,47	0,34	2,43	0,15
20:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:0"	-	-	0,04	0,06	0,01	0,02	-	-	0,06	0,09	0,02	0,03
24:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:1(n-9)"	0,40	0,31	0,33	0,18	0,45	0,10	0,22	0,06	0,10	0,14	0,16	0,12
16:1(n-7)"	1,53	1,45	1,46	1,31	1,97	0,18	2,36	1,57	3,09	1,07	3,14	0,20
16:1(n-13)t"	0,66	0,94	0,94	1,33	0,42	0,18	0,55	0,78	0,22	0,31	0,20	0,05
18:1(n-9)"	5,11	5,59	6,40	2,85	7,26	0,04	7,78	7,71	11,66	4,18	11,66	1,06
18:1(n-7)"	3,38	2,11	1,00	1,41	1,98	0,81	4,88	5,52	2,12	3,00	2,11	0,75
16:2(n-7)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	0,37	0,53	0,01	0,02	0,30	0,40	0,02	0,04	0,02	0,03	0,03	0,02
16:3(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,54	0,76	-	-	0,11	0,16
16:4(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:4(n-1)"	-	-	0,05	0,07	0,01	0,02	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	8,44	2,36	7,78	2,68	8,96	0,56	7,89	2,93	8,58	1,35	8,95	0,19
18:2(n-4)"	0,00	0,00	0,61	0,87	0,18	0,25	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	1,03	0,56	0,25	0,35	0,58	0,33	1,39	0,74	0,93	0,29	0,98	0,15
18:3(n-3)"	16,51	3,56	16,64	2,89	15,46	0,48	10,32	1,64	11,44	1,75	11,37	0,54
18:4(n-3)"	14,11	7,38	14,18	7,41	11,62	0,54	9,52	2,22	7,92	0,60	8,22	0,57
18:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	0,07	0,02	0,03
20:4(n-6)"	0,96	0,38	0,83	0,22	0,79	0,04	0,92	0,42	0,80	0,32	0,75	0,00
20:5(n-3)"	9,91	7,65	8,93	6,04	7,04	0,16	11,00	9,78	6,09	2,68	6,32	1,00
22:5(n-6)"	0,27	0,37	0,18	0,26	0,11	0,01	0,07	0,10	0,42	0,59	0,17	0,20
22:5(n-3)"	0,05	0,07	0,10	0,00	0,09	0,02	0,16	0,14	0,09	0,03	0,09	0,01
22:6(n-3)"	6,55	7,84	5,63	6,39	3,62	0,19	6,24	6,95	3,55	2,98	3,22	0,28
TO.SAT.	29,41	21,37	32,30	17,20	37,54	0,28	33,37	15,47	40,66	4,09	40,52	1,23
TO.MONO	11,96	3,32	11,24	3,60	12,77	0,68	16,33	2,64	17,56	1,73	17,63	0,33
TO.(n-9)	5,82	5,46	7,14	2,54	7,92	0,04	8,05	7,84	11,86	3,91	11,89	0,93
TO.(n-7)	5,00	0,53	2,56	2,86	4,10	0,99	7,40	3,96	5,42	1,95	5,44	0,50
TO.POLY	58,60	24,73	55,69	21,00	49,25	0,40	49,44	17,63	40,98	5,17	41,17	1,57
TO.(n-4)	0,37	0,53	0,63	0,85	0,48	0,14	0,56	0,73	0,02	0,03	0,14	0,18
TO.(n-6)	10,70	1,05	9,08	2,61	10,48	0,89	10,47	1,55	10,85	0,10	10,98	0,16
TO.(n-3)	47,53	26,31	45,88	22,64	38,26	1,38	38,27	18,34	29,93	5,00	29,93	1,26
(n-3)/(n-6)	4,59	2,91	5,64	4,11	3,67	0,44	3,83	2,32	2,76	0,49	2,73	0,07
22:6/20:5	0,51	0,40	0,50	0,37	0,51	0,01	0,47	0,21	0,53	0,26	0,51	0,04
22:5/20:4	0,22	0,30	0,19	0,27	0,14	0,00	0,06	0,08	0,41	0,57	0,23	0,27
fg/cell	382,87	298,28	355,84	208,80	738,71	38,22	1008,79	818,86	418,87	148,53	1427,66	834,27
STEROLS												
Réplicats	2		2		2		2		2		2	
Cholestérol	1,94	1,58	-	-	1,94	1,58	1,93	0,31	-	-	1,81	0,46
Brassicatérol	98,06	1,58	tr	-	98,04	56,62	98,07	0,31	100,00	-	98,17	0,48
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 Methylène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	151,79	70,81	0,04	0,06	151,83	100,97	278,96	76,84	16,75	23,57	295,72	53,27

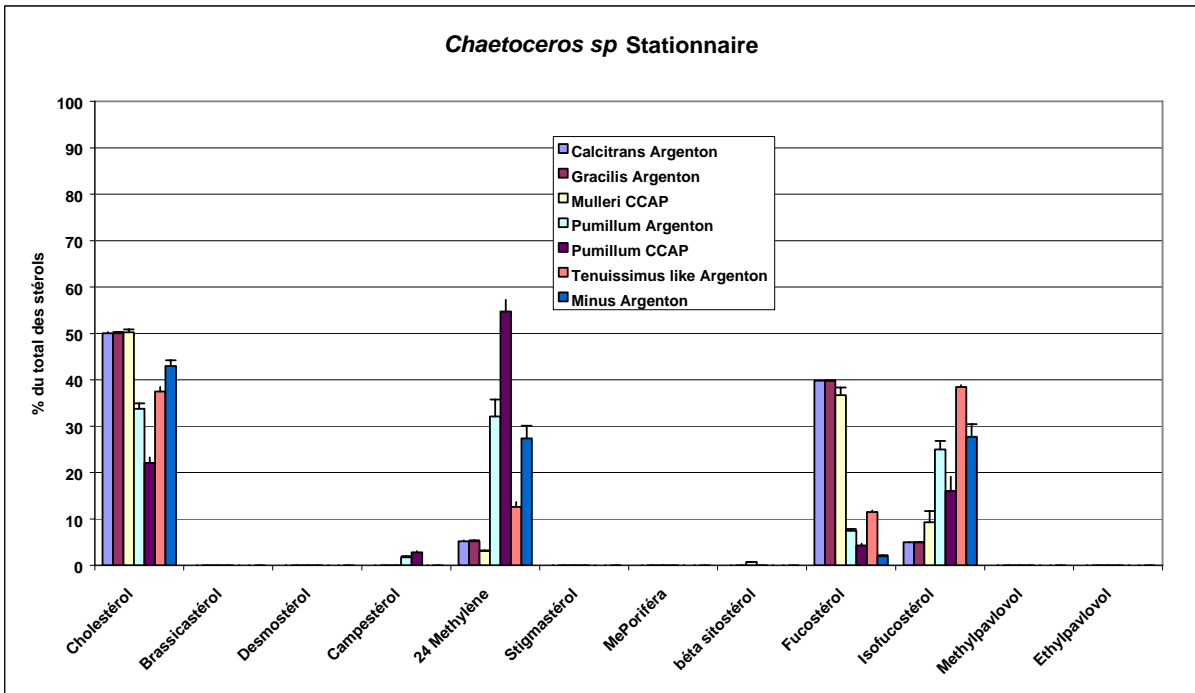
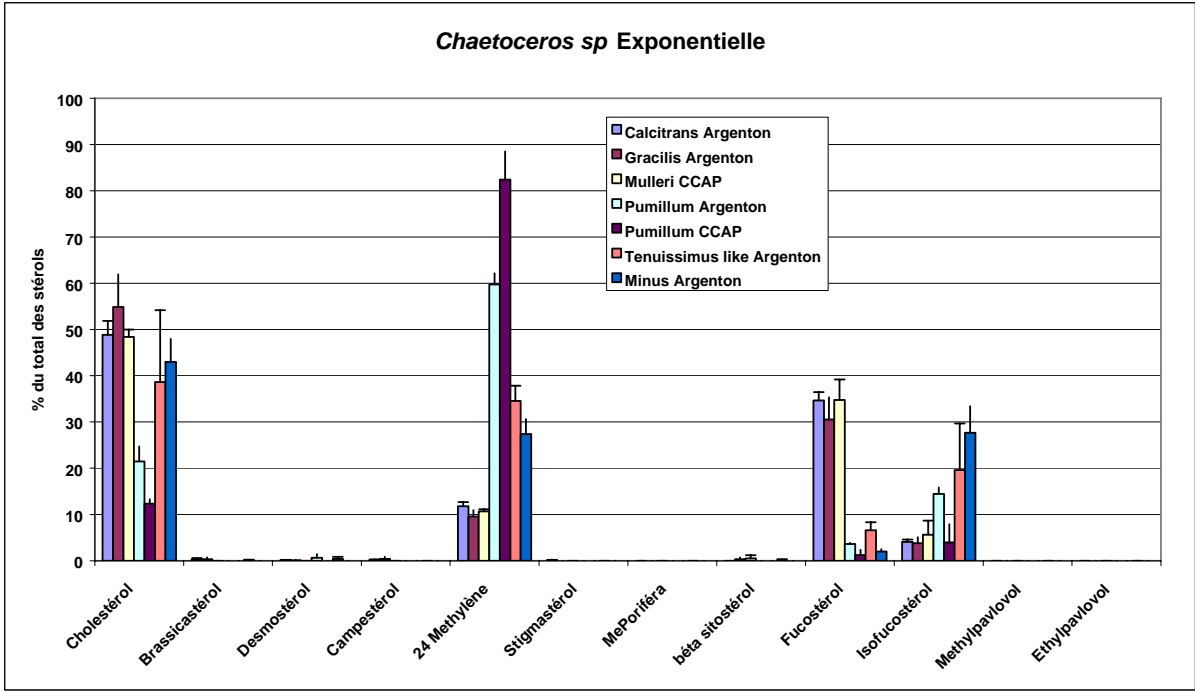
T. isochrysis (origine CCAP)

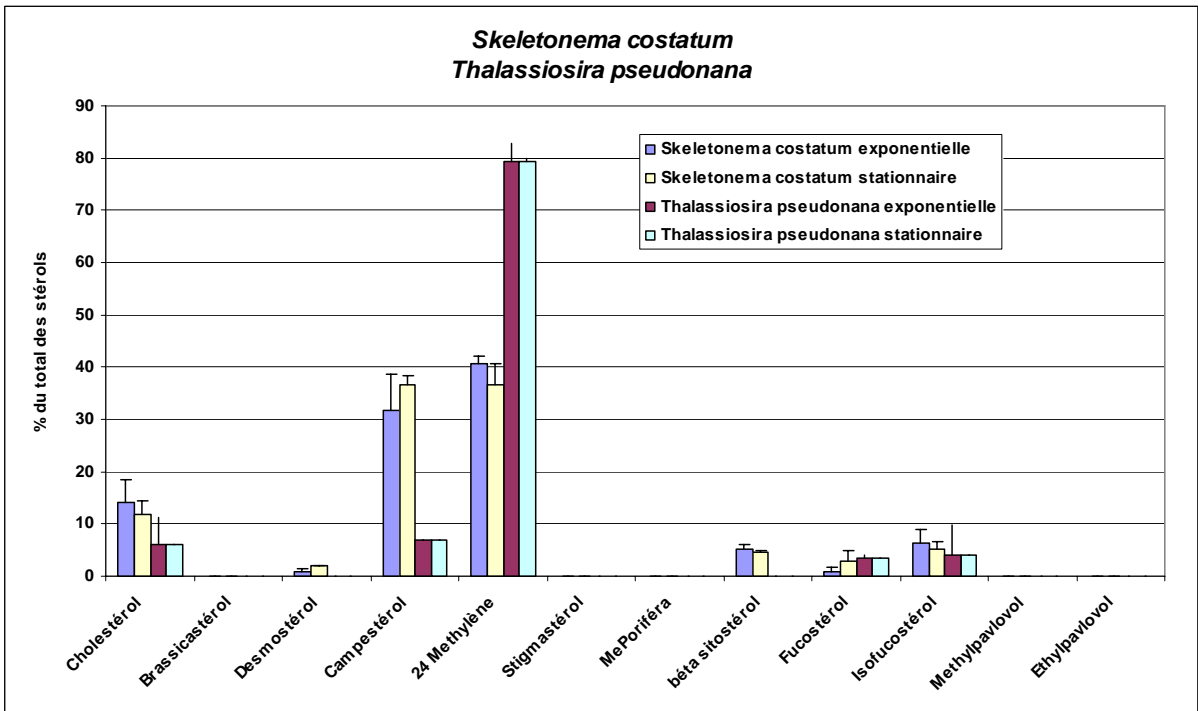
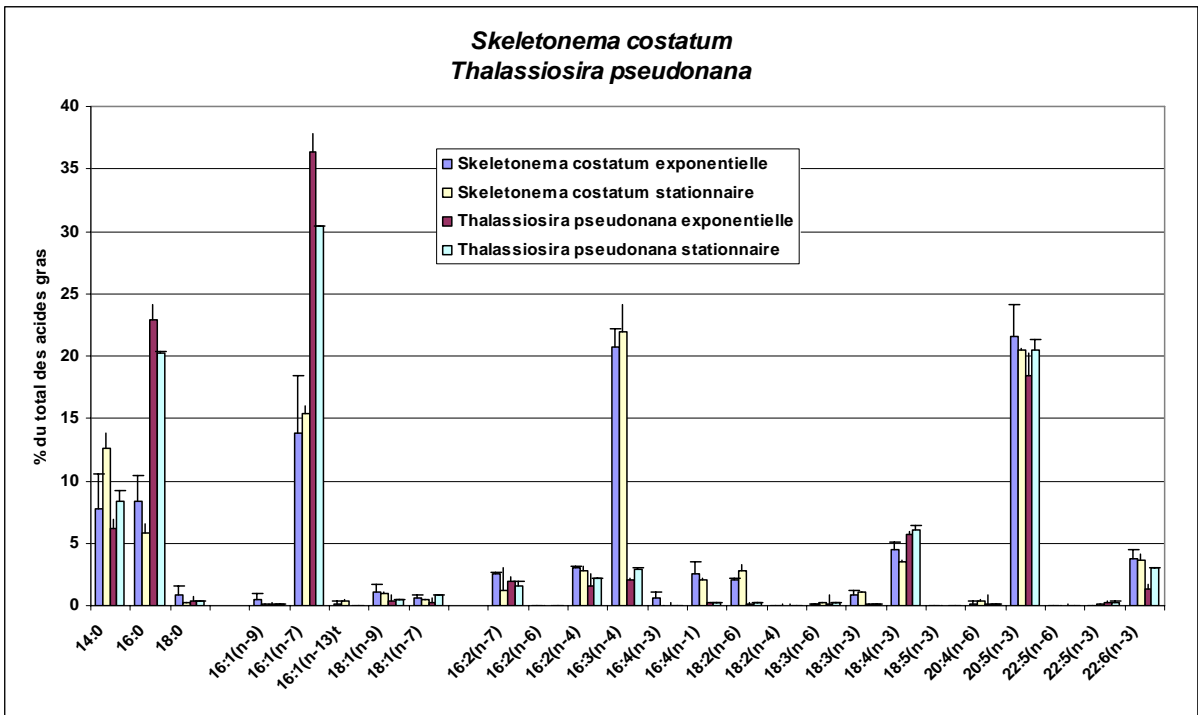
	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	3		4		3		3		3		3	
14:0"	16,04	3,35	14,34	4,03	14,89	2,87	13,55	3,07	11,48	5,66	13,74	2,58
16:0"	13,03	2,92	13,22	2,02	13,28	2,03	9,92	2,67	9,32	3,12	10,62	0,68
18:0"	1,93	1,05	1,42	0,70	1,79	1,06	0,29	0,27	0,47	0,19	0,34	0,13
20:0"	0,13	0,26	-	-	0,13	0,26	0,35	0,69	0,29	0,57	0,20	0,23
22:0"	0,63	0,66	0,83	0,89	0,49	0,58	0,86	1,03	0,76	0,88	0,46	0,10
24:0"	0,00	0,00	0,10	0,14	0,01	0,02	0,12	0,14	0,12	0,16	0,12	0,11
16:1(n-9)"	0,45	0,64	0,90	0,89	0,28	0,30	0,48	0,85	0,31	0,38	0,27	0,27
16:1(n-7)"	3,39	1,68	3,70	3,49	3,38	1,67	3,38	0,73	4,55	3,43	4,00	0,88
16:1(n-13)t"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1(n-9)"	11,67	5,00	14,39	5,50	11,28	4,98	13,42	3,43	11,11	2,77	11,31	1,07
18:1(n-7)"	0,72	0,59	0,52	0,42	0,79	0,59	0,56	0,66	0,58	0,69	0,62	0,72
16:2(n-7)"	0,33	0,24	0,32	0,31	0,31	0,22	0,19	0,13	0,45	0,36	0,32	0,14
16:2(n-6)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:2(n-4)"	0,92	0,63	0,36	0,43	0,66	0,25	0,47	0,44	0,64	0,32	0,69	0,09
16:3(n-4)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16:4(n-3)"	0,26	0,53	0,40	0,67	0,15	0,18	0,22	0,44	0,19	0,38	0,10	0,12
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:2(n-6)"	3,88	1,58	4,00	1,01	3,82	1,58	4,34	1,54	2,85	0,90	3,48	1,48
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	0,82	0,47	0,37	0,26	0,84	0,44	0,79	0,36	0,41	0,18	0,59	0,35
18:3(n-3)"	3,15	2,48	3,70	2,92	3,90	2,38	4,72	2,47	3,86	3,04	5,20	1,75
18:4(n-3)"	12,70	5,94	13,44	6,00	12,77	5,97	20,70	2,11	13,31	10,68	18,81	2,67
18:5(n-3)"	2,15	1,91	2,21	1,53	2,02	1,71	1,47	1,07	1,09	1,28	1,56	0,54
20:4(n-6)"	0,09	0,11	0,13	0,14	0,15	0,12	0,08	0,10	0,07	0,09	0,07	0,08
20:5(n-3)"	0,39	0,37	0,42	0,44	0,50	0,40	0,45	0,12	0,42	0,11	0,45	0,06
22:5(n-6)"	2,74	1,04	3,38	1,15	2,65	0,99	3,43	1,27	2,58	0,31	2,90	0,57
22:5(n-3)"	0,08	0,09	0,14	0,09	0,10	0,08	0,13	0,24	0,05	0,06	0,12	0,16
22:6(n-3)"	10,77	4,43	14,20	2,78	11,78	5,37	16,25	5,57	14,86	4,47	15,69	3,65
TO.SAT.	32,88	2,17	31,23	3,46	31,76	3,23	25,32	4,22	23,67	5,67	26,14	2,20
TO.MONO	18,74	5,18	20,69	8,55	17,90	5,56	18,68	3,84	27,56	18,80	19,51	3,91
TO.(n-9)	13,22	5,05	15,51	5,64	12,23	4,84	14,46	4,35	11,89	3,30	11,92	1,25
TO.(n-7)	5,39	2,96	4,97	3,86	5,48	2,85	4,21	1,01	15,52	15,75	7,52	4,25
TO.POLY	43,61	8,78	45,59	12,17	45,76	11,22	55,11	4,37	42,88	16,39	51,67	4,88
TO.(n-4)	0,94	0,63	0,38	0,44	0,69	0,27	0,48	0,45	0,71	0,36	0,73	0,11
TO.(n-6)	8,21	1,61	8,53	1,56	8,43	1,59	8,95	1,65	6,62	0,72	7,50	1,60
TO.(n-3)	30,98	13,17	35,56	11,18	32,78	14,96	45,28	5,26	34,66	16,99	42,78	4,72
(n-3)/(n-6)	3,72	1,48	4,28	1,58	3,80	1,57	5,28	1,64	5,49	3,19	5,88	1,23
22:6/20:5	-	-	-	-	-	-	37,11	11,93	37,40	15,35	36,27	12,51
22:5/20:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	481,75	252,84	849,02	621,01	1330,77	493,39	464,35	346,79	497,25	434,88	961,61	513,87
STEROLS												
Réplicats	3		4		3		3		3		3	
Cholestérol	9,68	8,28	-	-	10,52	7,73	3,02	1,53	-	-	2,98	1,51
Brassicatérol	90,32	8,28	-	-	89,47	7,73	96,98	1,53	-	-	97,02	1,51
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 Methylène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	18,28	9,33	0,75	0,69	19,03	9,01	44,26	8,25	0,77	57,33	44,76	8,39

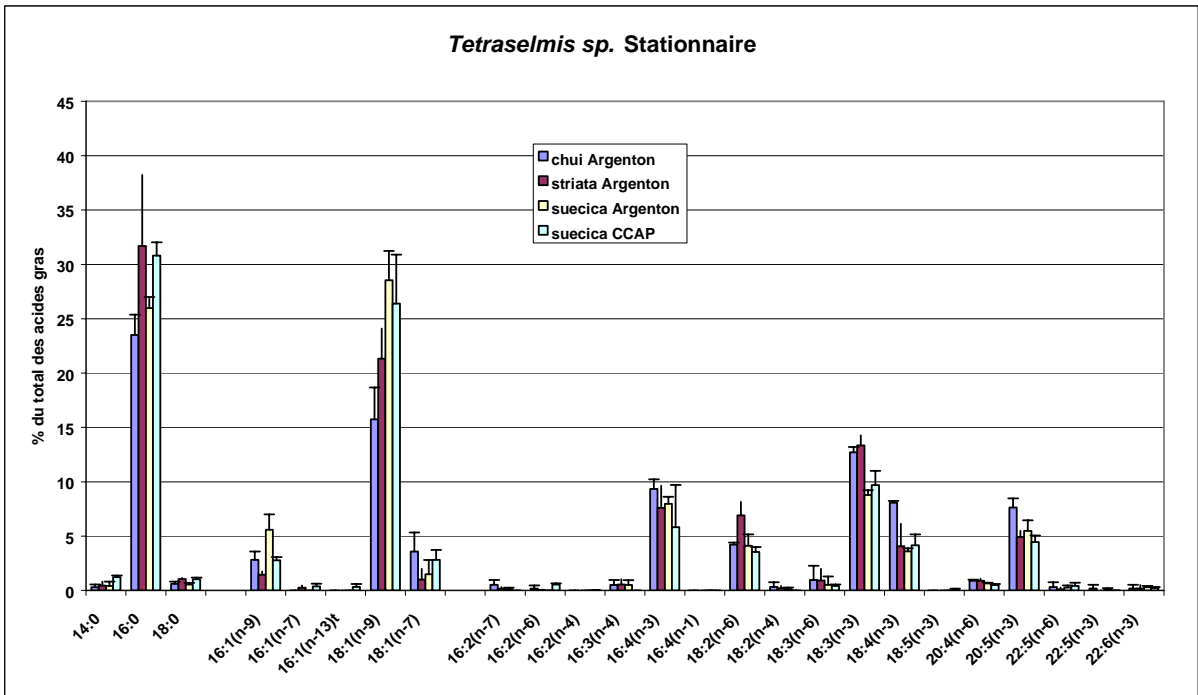
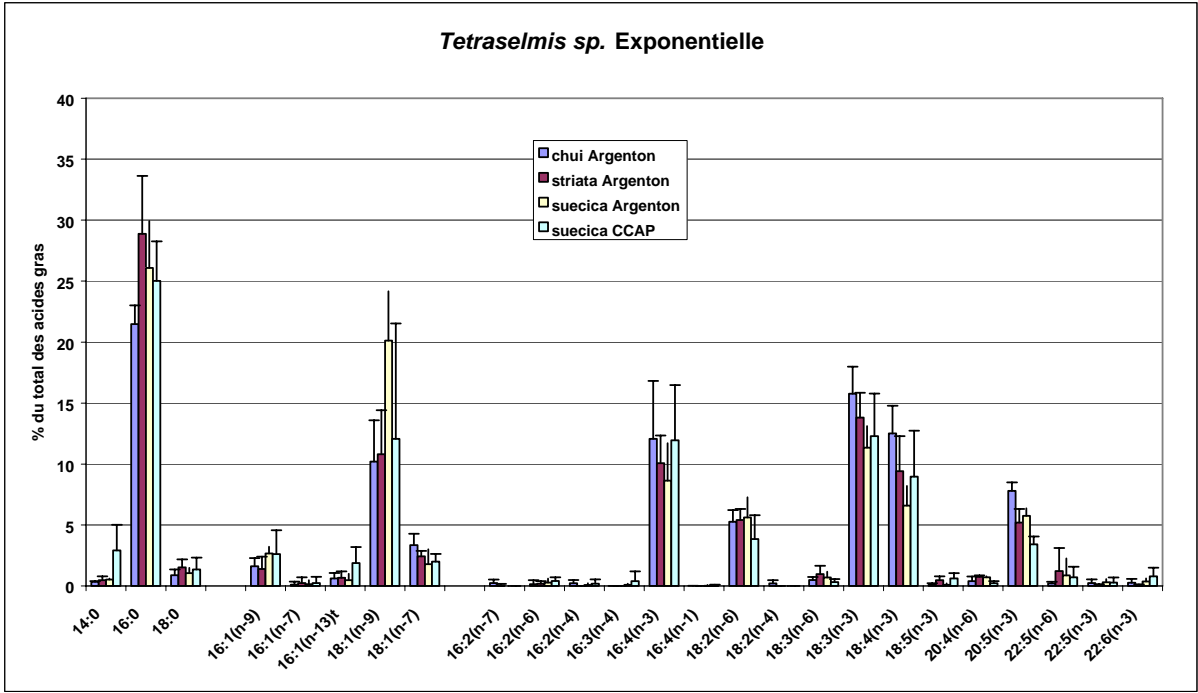
Isochrysis galbana (origine CCAP)

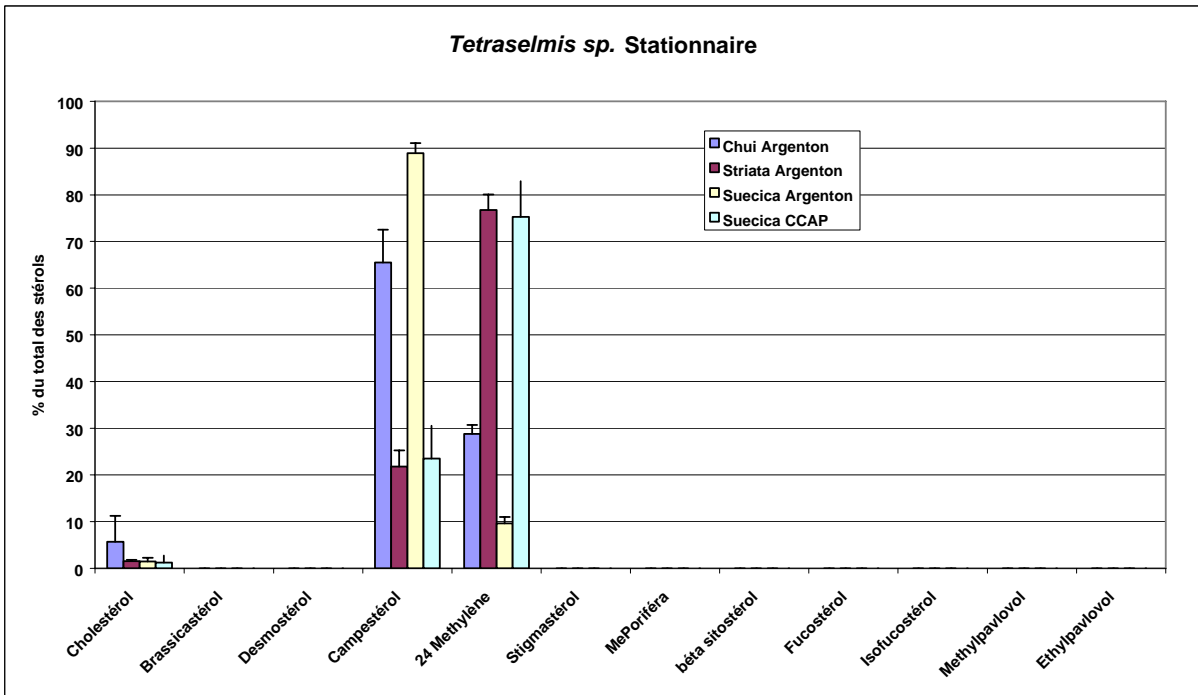
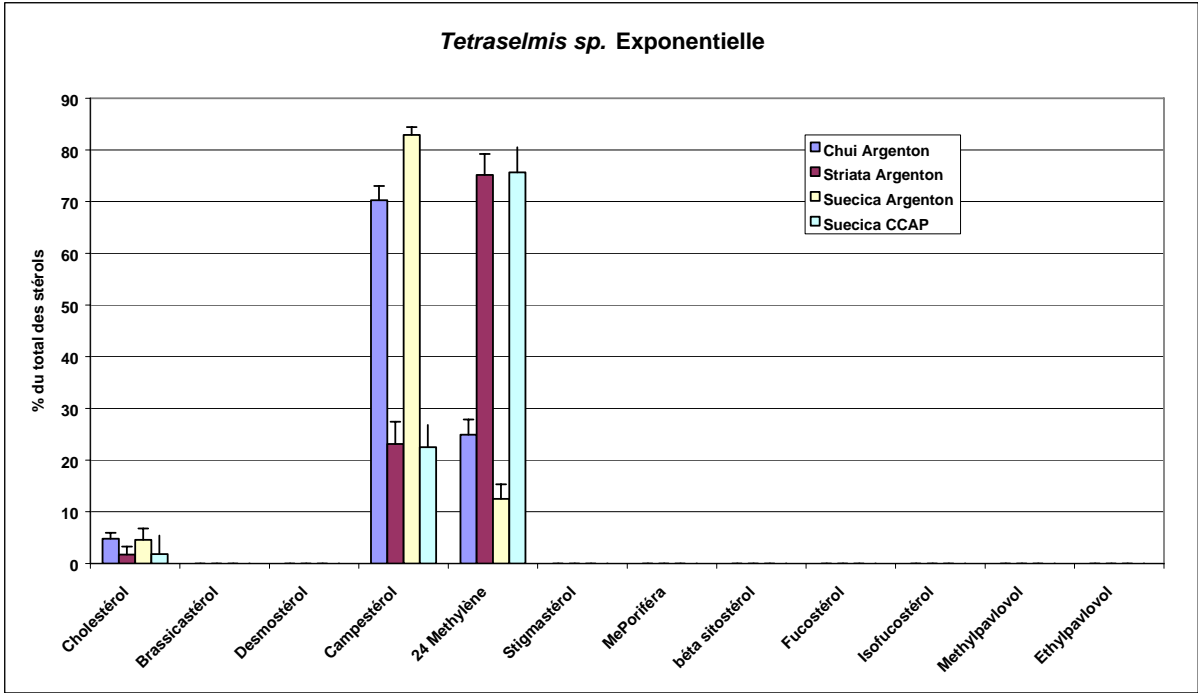
	PHASE EXPONENTIELLE						PHASE STATIONNAIRE					
	Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux		Lipides neutres		Lipides polaires		Lipides totaux	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
ACIDES GRAS												
Réplicats	2		2		2		2		2		2	
14:0"	16,72	2,98	17,58	1,38	17,16	1,07	18,38	3,74	12,82	0,69	15,22	3,62
16:0"	18,18	2,02	15,07	0,60	16,59	1,94	15,34	2,37	11,93	2,43	13,17	2,53
18:0"	1,37	0,72	0,97	0,53	1,27	0,24	1,50	0,82	1,27	0,53	1,51	0,17
20:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22:0"	0,30	0,43	0,22	0,31	0,32	0,04	0,55	0,63	0,45	0,63	0,62	0,04
24:0"	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,03	0,01	0,02
16:1(n-9)"	0,27	0,16	0,21	0,11	0,26	0,04	0,23	0,12	0,10	0,01	0,18	0,11
16:1(n-7)"	1,24	0,40	1,39	0,70	1,42	0,19	1,61	1,00	0,84	0,03	1,30	0,66
16:1(n-13)t"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:1(n-9)"	19,94	11,61	17,57	9,20	20,51	0,99	22,67	9,87	20,93	4,07	23,04	1,70
18:1(n-7)"	0,83	0,23	0,77	0,34	0,75	0,08	1,45	0,51	1,34	1,08	1,23	0,20
16:2(n-7)"	0,00	0,00	0,15	0,05	0,08	0,12	0,09	0,00	-	-	0,05	0,07
16:2(n-6)"	0,07	0,10	-	-	0,04	0,06	0,04	0,05	-	-	0,02	0,03
16:2(n-4)"	0,59	0,47	0,62	0,38	0,53	0,00	0,51	0,35	0,39	0,32	0,39	0,10
16:3(n-4)"	-	-	-	-	-	-	0,03	0,04	-	-	0,02	0,03
16:4(n-3)"	0,06	0,08	-	-	0,03	0,05	0,06	0,09	0,02	0,03	0,05	0,03
16:4(n-1)"	-	-	-	-	-	-	0,03	0,04	-	-	0,02	0,03
18:2(n-6)"	8,49	5,36	7,60	4,49	8,89	0,27	5,72	2,65	5,11	0,75	5,71	0,61
18:2(n-4)"	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18:3(n-6)"	0,05	0,07	0,07	0,10	0,08	0,03	0,06	0,08	0,06	0,01	0,06	0,01
18:3(n-3)"	2,66	1,46	2,82	1,30	2,50	0,00	3,49	1,56	3,64	2,56	3,15	0,13
18:4(n-3)"	5,02	1,22	5,69	0,43	5,23	0,50	4,58	0,83	4,71	2,54	4,29	0,22
18:5(n-3)"	3,63	2,09	5,42	3,78	3,95	0,78	3,17	2,21	2,04	1,46	2,26	0,78
20:4(n-6)"	0,44	0,38	0,44	0,43	0,51	0,05	0,27	0,22	0,23	0,14	0,29	0,03
20:5(n-3)"	0,48	0,21	0,86	0,70	0,57	0,17	0,49	0,02	0,49	0,25	0,46	0,04
22:5(n-6)"	5,08	4,50	3,13	1,74	3,65	1,33	3,65	2,62	3,33	2,54	2,99	0,34
22:5(n-3)"	-	-	-	-	-	-	0,10	0,10	-	-	0,06	0,08
22:6(n-3)"	9,83	5,39	10,30	6,01	9,04	0,29	10,21	6,18	12,06	10,91	9,42	0,27
TO.SAT.	36,96	3,72	34,15	2,98	35,71	1,19	36,45	4,16	26,70	1,98	31,02	6,73
TO.MONO	23,16	11,58	23,61	5,58	24,69	0,38	27,08	11,90	23,42	3,26	26,56	3,40
TO.(n-9)	20,97	11,27	18,94	7,98	21,55	0,93	23,31	10,40	21,20	4,31	23,57	1,97
TO.(n-7)	2,18	0,31	3,79	1,17	2,86	0,91	3,70	1,40	2,22	1,04	2,95	1,37
TO.POLY	39,15	7,30	40,41	8,17	38,39	0,05	35,53	8,25	42,81	10,73	37,31	4,37
TO.(n-4)	0,59	0,47	0,62	0,38	0,53	0,00	0,54	0,31	0,39	0,32	0,41	0,12
TO.(n-6)	16,05	3,36	13,09	4,99	15,36	1,50	11,96	2,26	11,85	2,28	11,83	0,69
TO.(n-3)	22,36	9,98	25,91	11,94	22,13	1,23	22,83	10,13	23,56	17,51	20,42	1,13
(n-3)/(n-6)	1,49	0,93	2,32	1,80	1,45	0,22	2,02	1,23	1,88	1,12	1,73	0,01
22:6/20:5	20,11	2,59	13,55	4,01	16,57	5,42	20,40	11,57	21,75	11,26	20,46	2,33
22:5/20:4	25,60	32,39	17,32	20,90	7,28	3,29	25,33	29,89	21,35	23,71	10,42	0,08
fg/cell	899,26	196,54	1710,46	832,79	2609,72	1147,21	1362,10	433,36	1870,88	841,32	3232,98	719,52
STEROLS												
Réplicats	2		2		2		2		2		2	
Cholestérol	5,34	3,06	-	-	5,34	3,06	2,47	0,57	-	-	2,40	0,66
Brassicatérol	94,66	3,06	-	-	94,66	3,05	97,53	0,57	tr.	-	97,60	0,66
Desmostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Campestérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 Methylène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stigmastérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MePoriféra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
béta sitostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Isofucostérol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethylpavlovol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fg/cell	30,07	1,59	-	-	30,07	1,59	34,85	8,02	1,32	-	36,17	9,89

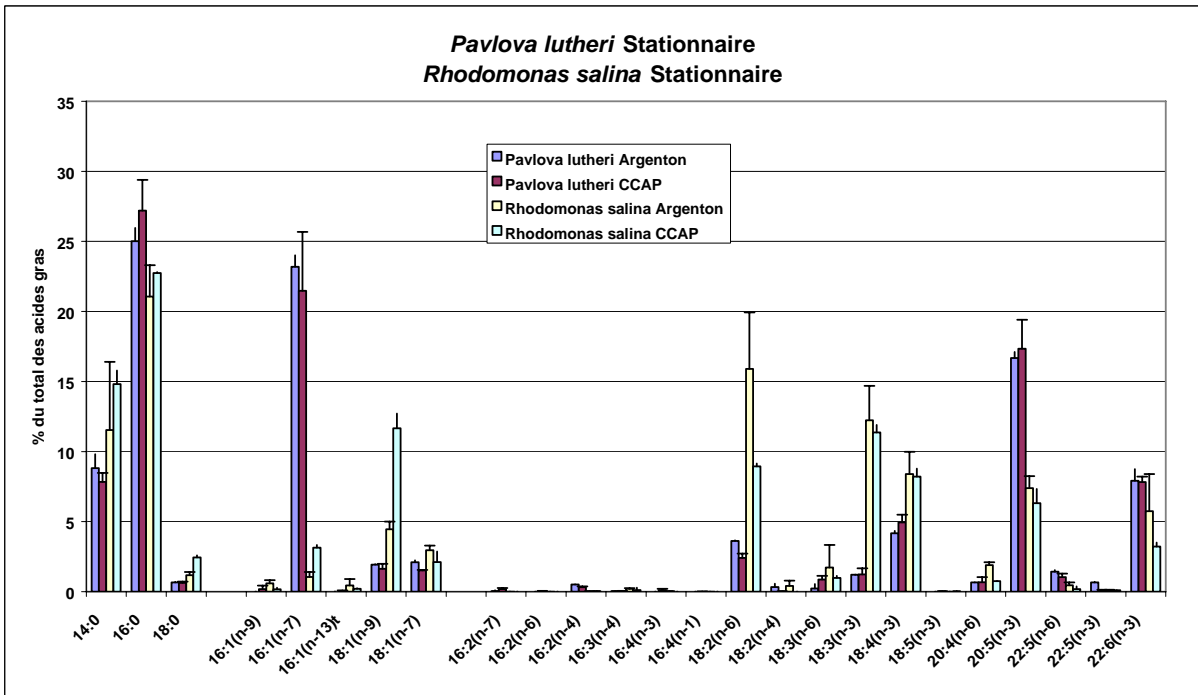
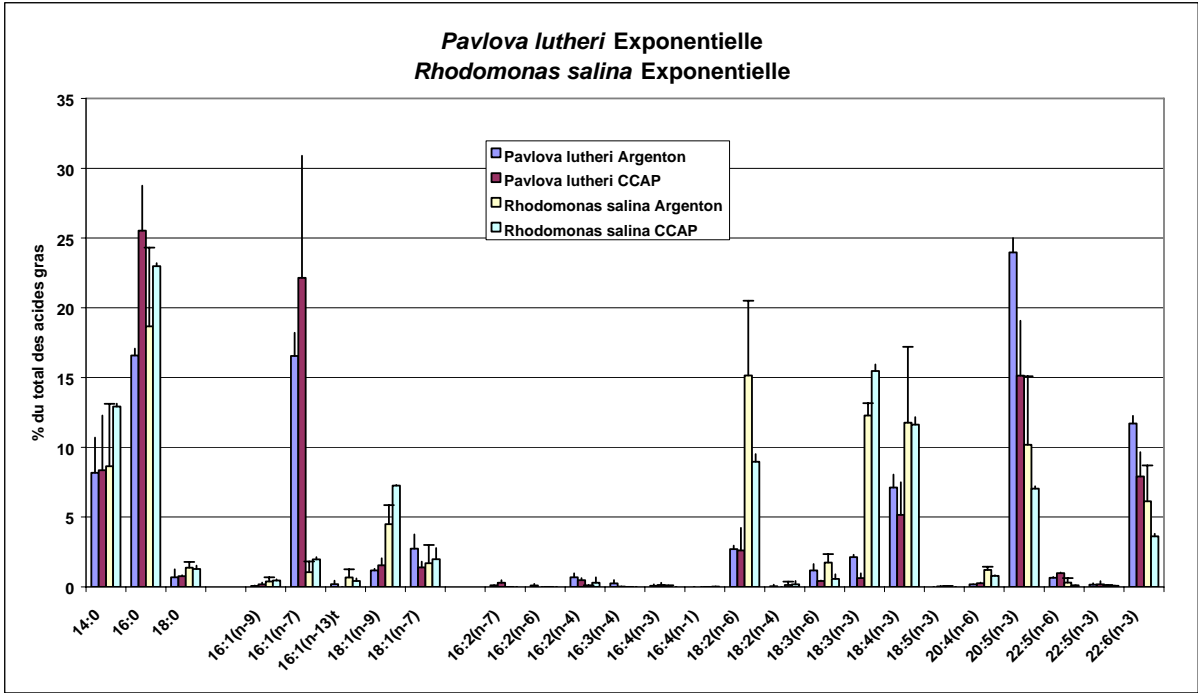


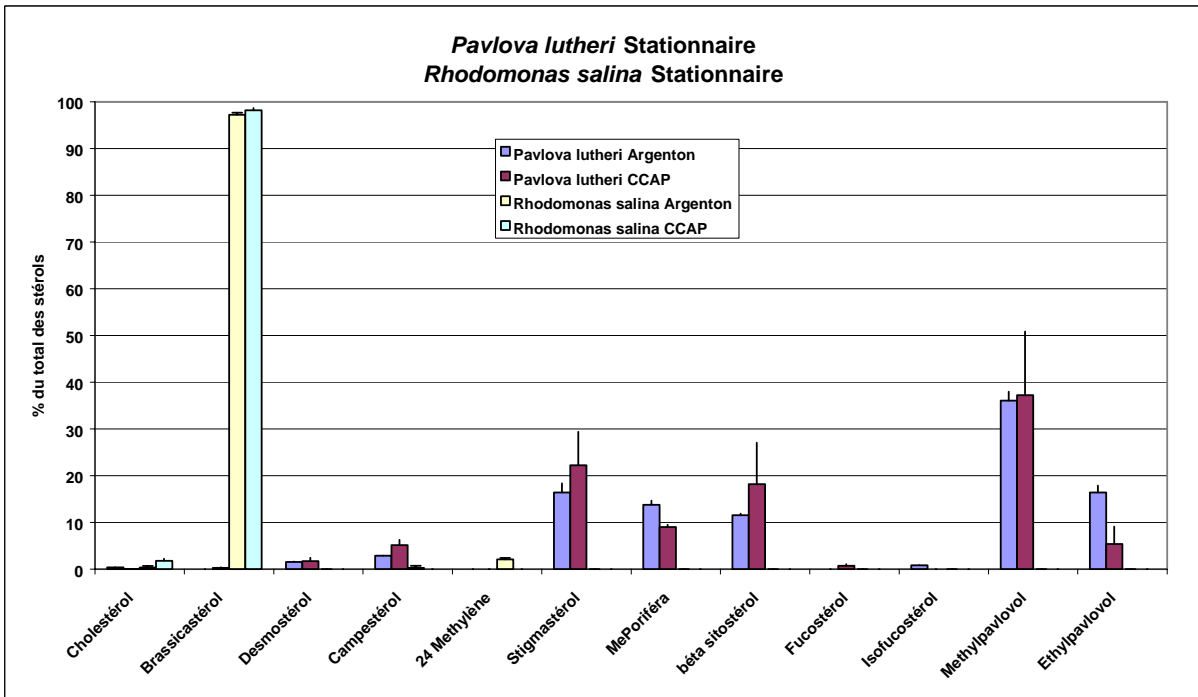
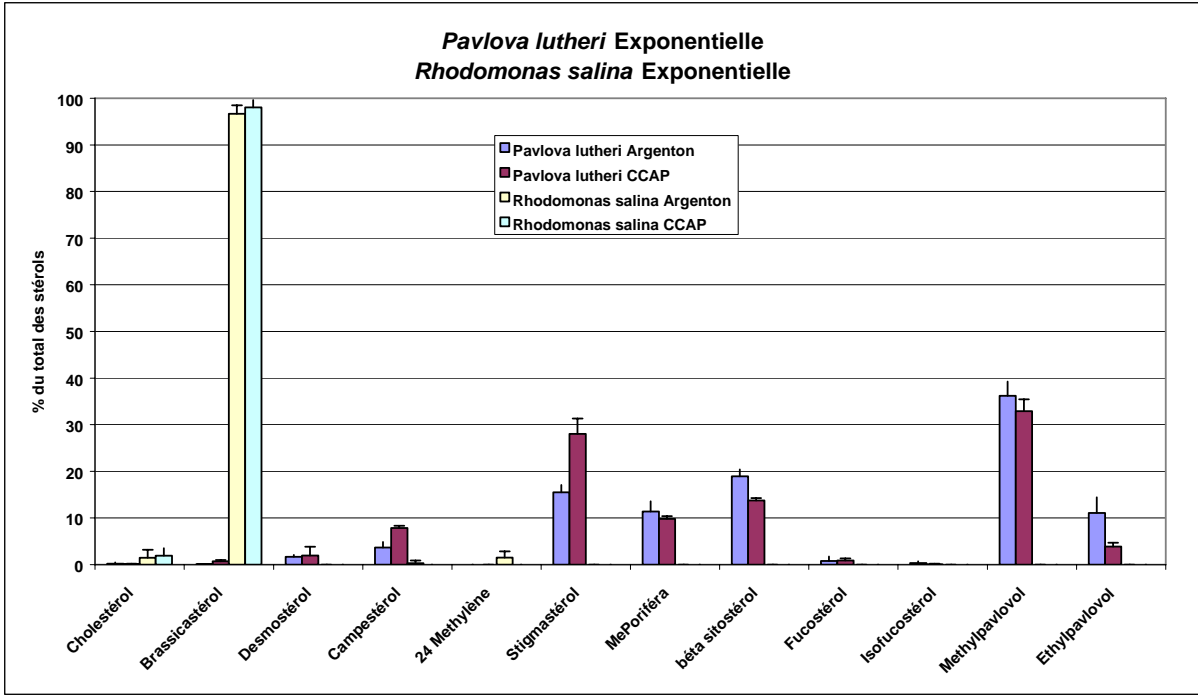


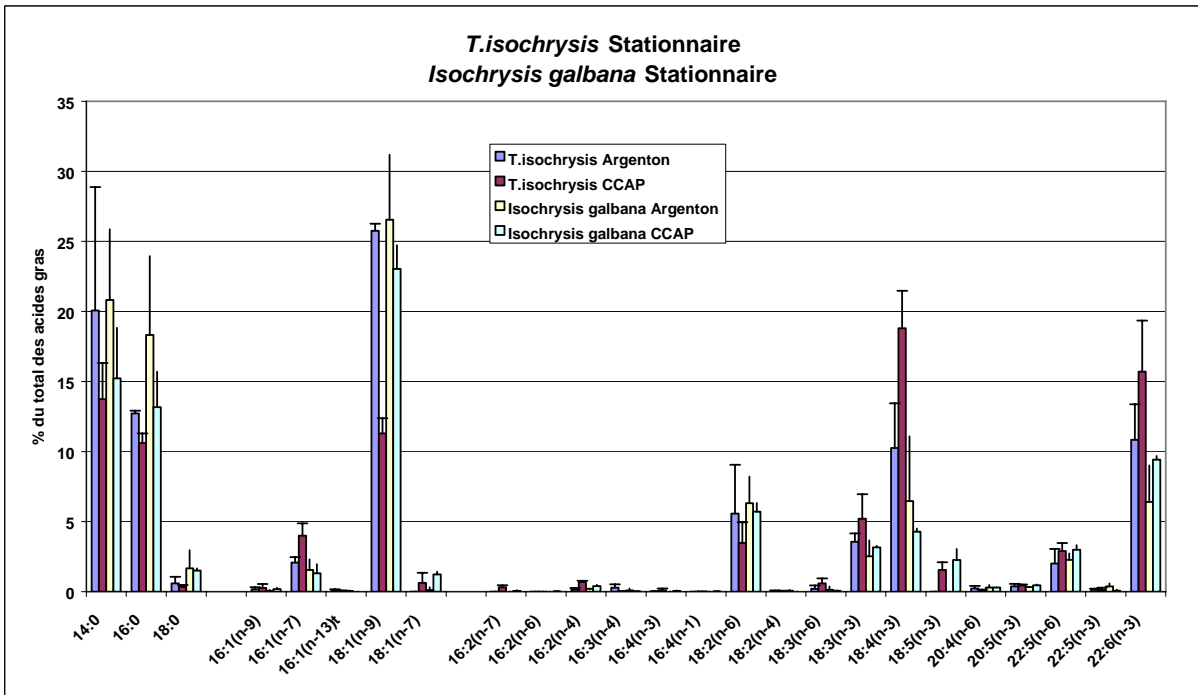
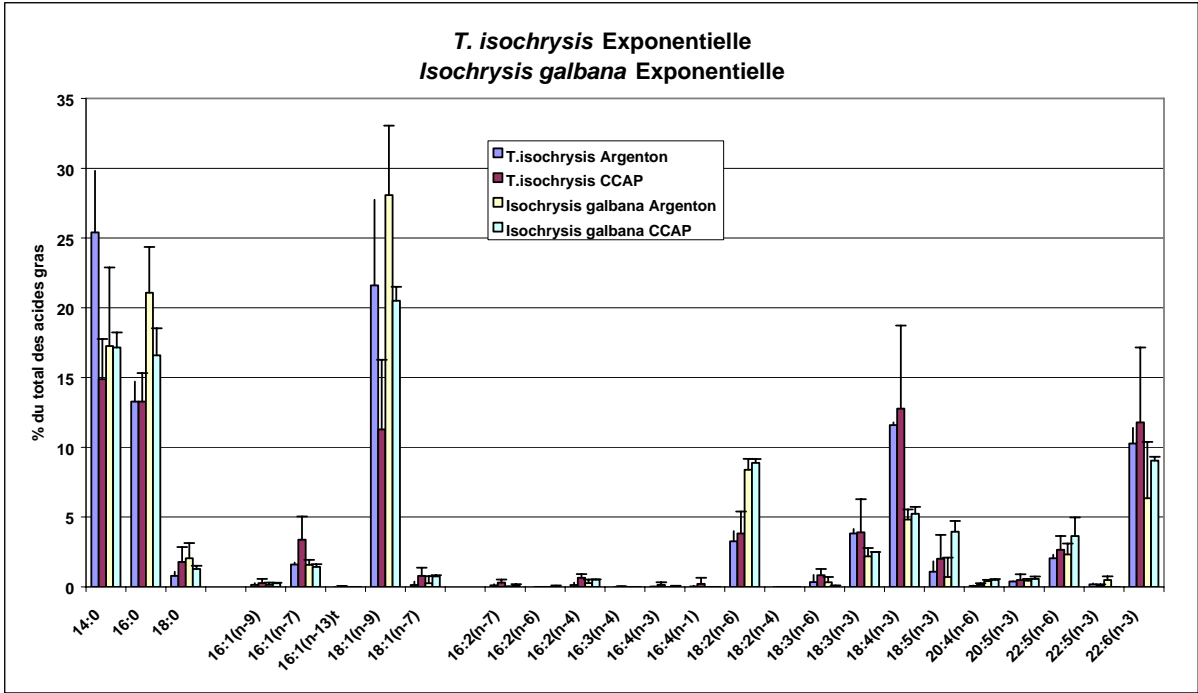


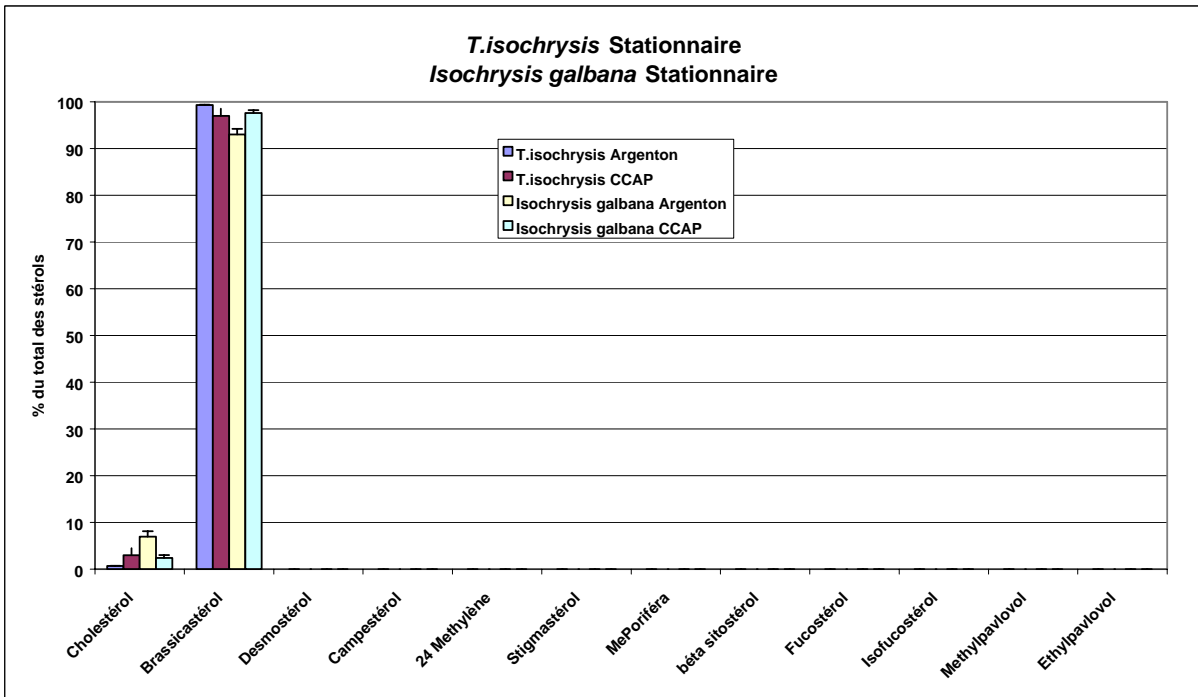
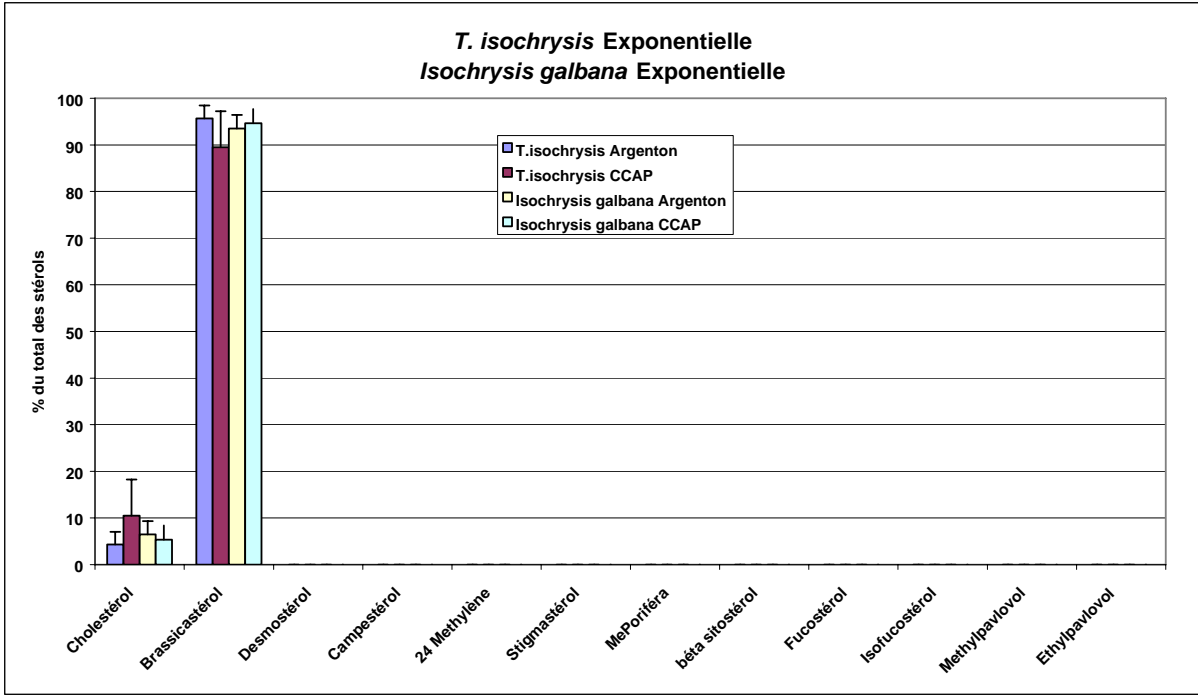


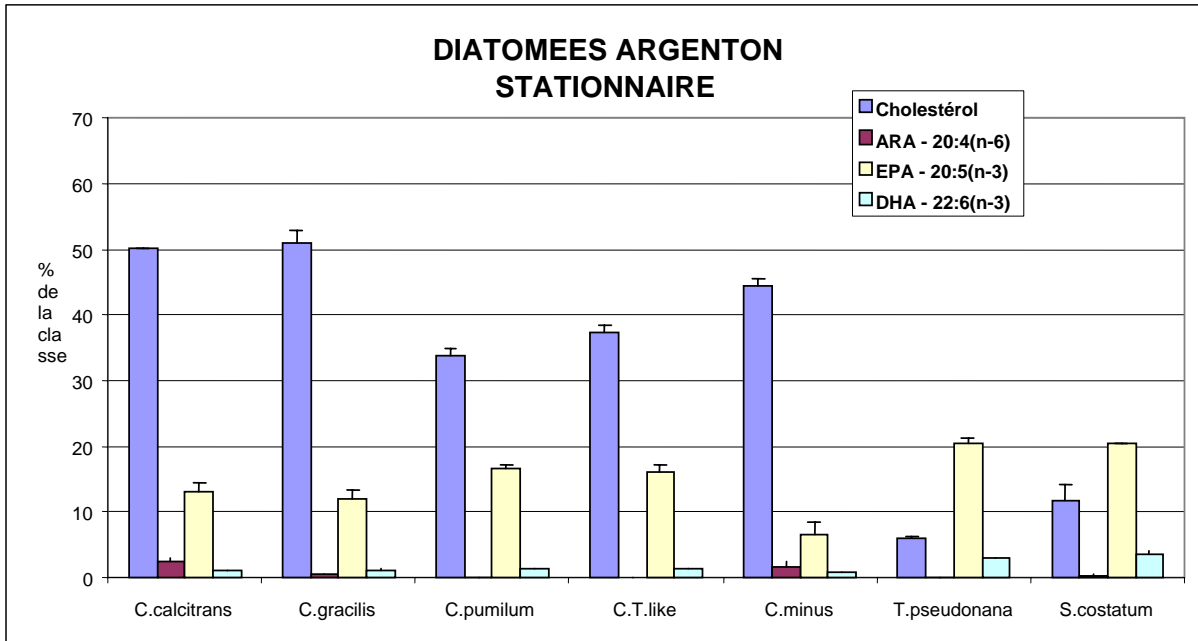
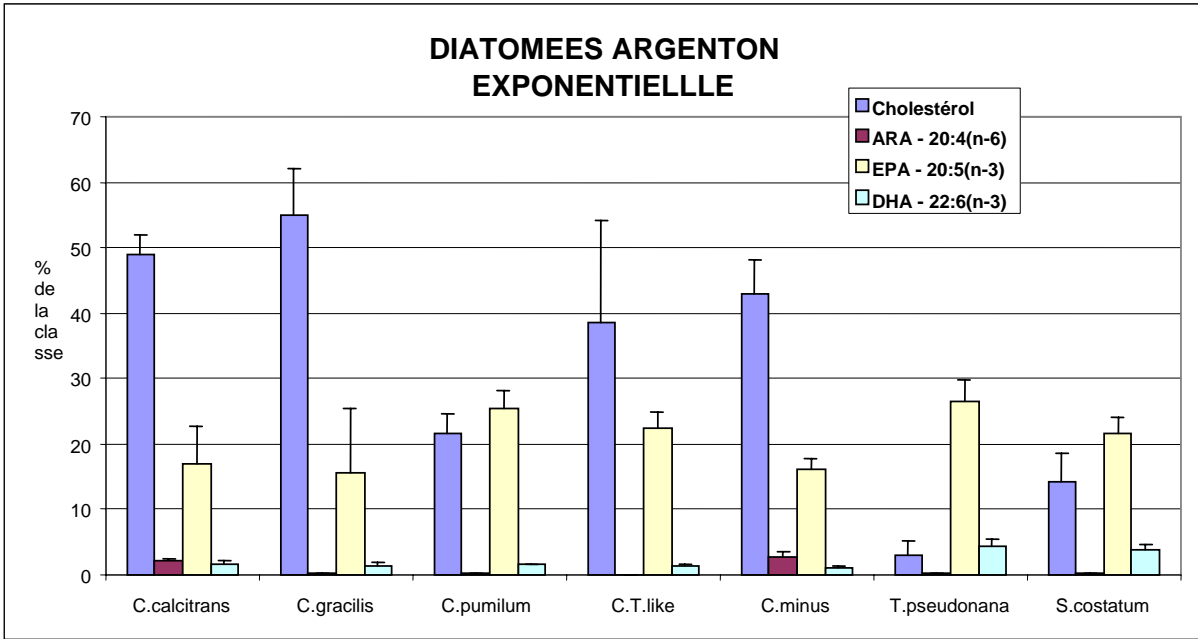


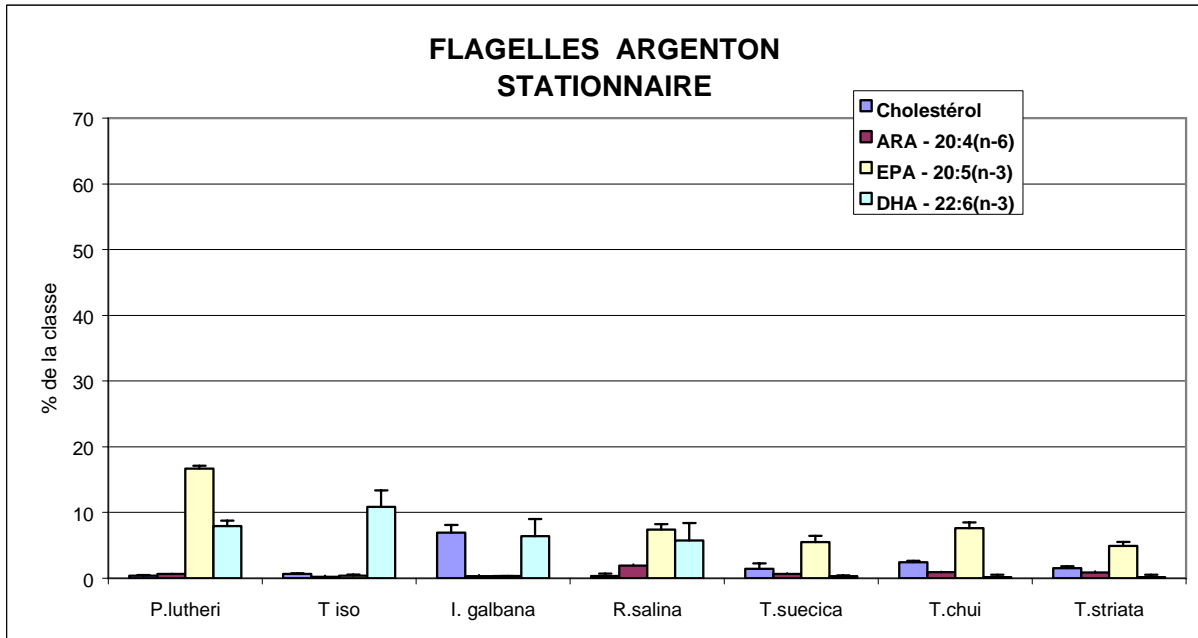
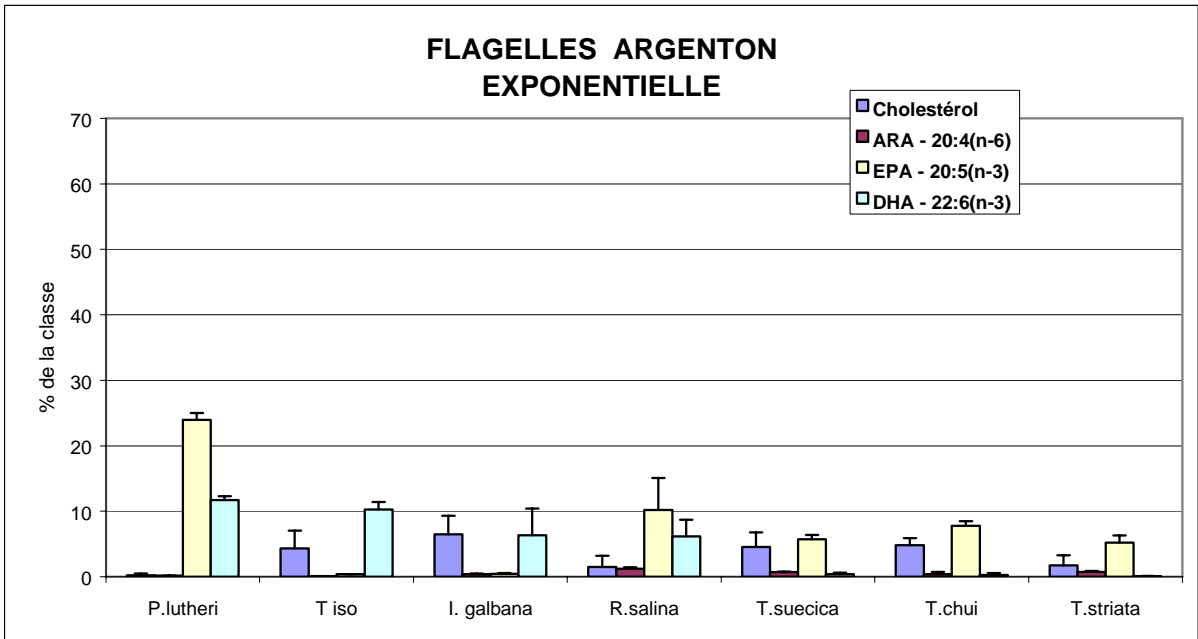


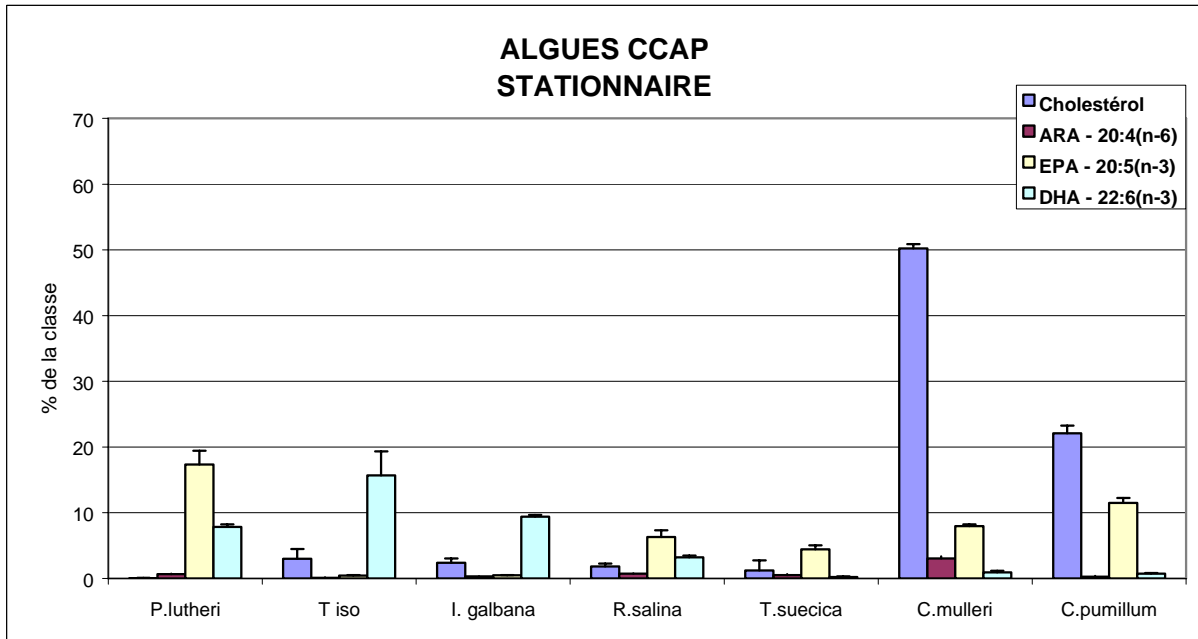
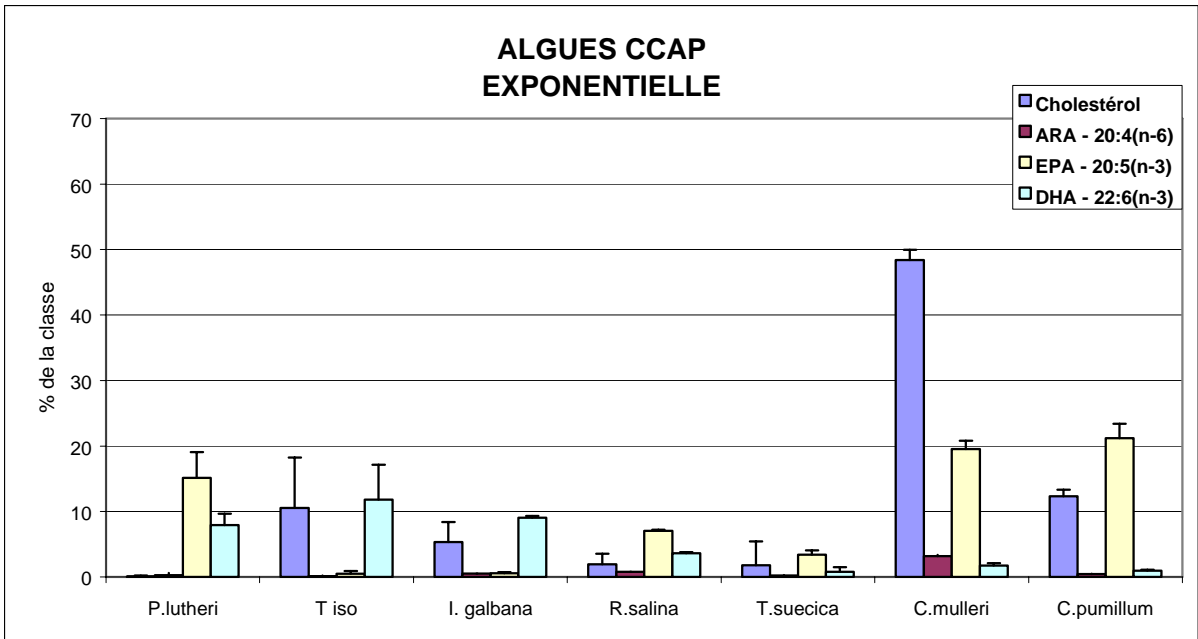












ANNEXE 7 : CARACTERISATION BIOMOLECULAIRE : SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN	Acide DésoxyriboNucléique	PCR	Polymerase Chain Reaction = Réaction de Polymérisation en Chaîne
ADNr	ADN ribosomique	PVPP	PolyVinylPolyPyrrolidone
ARDRA	amplified rDNA restriction analysis	R.	Rhodomonas
ARN	Acide RiboNucléique	RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism =
ARNr	ARN ribosomique		Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction
BEt	Bromure d'Ethidium	RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
BSA	SérumAlbumine Bovine	RNAase	ribonucléase
C.	<i>Chaetoceros</i>	S	unité Svedberg
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (C ₁₉ H ₄₂ NBr) = Bromure de Cetyl- TriméthylAmmonium	S.	<i>Skeletonema</i>
dATP	déoxyadénosine triphosphate	Sarkosyl	N-Lauryl-Sarcosine
dCTP	déoxycytidine triphosphate	SDS	Sodium Dodecyl Sulfate = Dodécyl Sulfate de Sodium
dGTP	déoxyguanosine triphosphate	sp.	<i>species</i>
dNTP	déoxynucléotide triphosphate	T.	<i>Tetraselmis</i> ou <i>Tahiti</i> (selon le cas)
dTTP	déoxythymidine triphosphate	TAE	Tris Acétate EDTA
EDTA	Ethylène Diamine Tétracétate	Taq	Thermus Aquaticus
f.	<i>forma</i>	TE	Tris EDTA
g	gramme	Th.	<i>Thalassiosira</i>
ITS	Internal Transcribed Spacer	Tris	Tris (hydroxyméthyl) aminométhane
L	litre	TRIZol [®] Reagent	50% phénol + 30% thiocyanate + 20% composés non dangereux
M	molaire	µg	microgramme
mA	milliampères	µL	microlitre
mg	milligramme	µM	micromolaire
mL	millilitre	UV	ultraviolets
mM	millimolaire	V	volts
MT	Marqueur de Taille		
pb	paires de bases		
p/v	poids / volume		
PCI	Phénol Chloroforme alcool Isoamylique		

ANNEXE 8: PROTOCOLE DE LYSE CELLULAIRE ET D'EXTRACTION DE L'ADN TOTAL

LYSE CELLULAIRE :

- **Lyse par l'azote liquide** : plonger le tube dans l'azote liquide pendant 3 minutes environ. Sortir le tube et broyer immédiatement le culot d'algues à l'aide d'un pilon adapté. Conserver le tube dans la glace après broyage et le placer au réfrigérateur à + 4°C.
- **Lyse par ultrasons** : placer la sonde de l'appareil à ultrasons au fond du tube. Laisser 10 secondes (60 Watts) puis enlever la sonde et conserver le tube dans la glace. Le placer au réfrigérateur à + 4°C.

EXTRACTION DE L'ADN TOTAL :

- **Protocole classique** : (Sambrook *et al.*, 1989).
 1. Lyse et extraction : après lyse préalable, ajouter du Sarkosyl et du SDS aux concentrations finales de 1%. Laisser 30 secondes à température ambiante puis ajouter la protéinase K à la concentration finale de 0,4 mg/mL. Incuber 3 heures à +45°C. Centrifuger 5 minutes à 6000g.
 2. Purification : prélever le surnageant et le transférer dans un nouveau tube. Ajouter 1 volume de PCI puis agiter doucement deux ou trois fois par retournement. Centrifuger 10 minutes à 12000g, prélever le surnageant et le transférer dans un nouveau tube. Ajouter 1 volume de chloroforme puis agiter doucement deux ou trois fois par retournement. Centrifuger 10 minutes à 12000g, prélever le surnageant et le transférer dans un nouveau tube.
 3. Précipitation : ajouter 2 volumes d'éthanol absolu à -20°C, bien mélanger et laisser précipiter à -20°C pendant 12 heures environ. Centrifuger 5 minutes à 2000g, éliminer l'éthanol par retournement. Réaliser un rinçage à l'éthanol 70% et laisser sécher à température ambiante. Reprendre le culot d'ADN par 30 à 50 µL d'eau distillée stérile.
- **Protocole « ablc »** :
 1. Lyse et extraction : appliquer la lyse par l'azote liquide. Ajouter 500 µL de tampon de lyse (10mM Tris, 1mM EDTA, 1% Triton[®] X-100 (Sigma, Etats-Unis), porter au bain-marie bouillant pendant 5 minutes et centrifuger à 6000g pendant 5 minutes. Prélever le surnageant et le transférer dans un nouveau tube.
 2. Purification : ajouter 500 µL de chloroforme dans ce tube puis centrifuger à 10000g pendant 10 minutes. Récupérer la phase aqueuse (phase supérieure) et la transférer dans un nouveau tube. Conserver l'échantillon à + 4°C.

- **Protocole utilisant du CTAB (Doyle & Doyle, 1987) :**

1. Lyse et extraction : réaliser la lyse par ultrasons. Ajouter 600 µL de tampon de lyse (CTAB 2% p/v, NaCl 1.4 M, β-mercaptoéthanol 0,2%, EDTA 20 mM, Tris HCl pH 8 100 mM, Protéinase K 0,1 mg/mL) puis incubé 30 minutes à + 60°C. Centrifuger 5 minutes à 6000g, récupérer le surnageant et le transférer dans un nouveau tube.
2. Purification : ajouter 600 µL de chloroforme. Broyer au Vortex et centrifuger 10 minutes à 10000g. Récupérer la phase aqueuse et la transférer dans un nouveau tube. Ajouter de la RNAase (concentration finale de 20 µg/mL). Incuber 30 minutes à +37°C.
3. Précipitation : ajouter 2/3 de volume d'isopropanol 100% et laisser précipiter 12 heures à température ambiante. Centrifuger 5 minutes à 2000g. Décanter le culot d'ADN par retournement et rincer avec 1 mL d'éthanol absolu. Laisser reposer au moins 30 minutes à température ambiante. Centrifuger 5 minutes à 2000g. Décanter le culot d'ADN avec précaution par retournement puis laisser sécher à température ambiante. Reprendre le culot dans 50 µL d'eau distillée stérile et laisser suspendre à nouveau l'ADN 12 heures au réfrigérateur à + 4°C.

- **Protocole utilisant le TRIzol® Reagent (Life Technologies, Etats-Unis) :**

1. Lyse et extraction : après lyse préalable ajouter 1 mL de TRIzol® Reagent et broyer au vortex. Laisser 5 à 10 minutes à température ambiante pour permettre la dissociation complète des complexes de nucléoprotéines.
2. Purification : ajouter 0,2 mL de chloroforme, bien fermer le tube puis agiter vigoureusement pendant 15 secondes. Laisser à température ambiante 2 à 3 minutes. Centrifuger à 10000g (pas plus de 12000g) pendant 15 minutes à +4°C. Après centrifugation, on a une phase phénol-chloroforme (rose), une phase aqueuse et une interphase, l'ADN se situant dans l'interphase et dans la phase phénol-chloroforme.
3. Précipitation : éliminer complètement la phase aqueuse. Ajouter 0,3 mL d'éthanol absolu. Agiter doucement par retournement et laisser à température ambiante 2 à 3 minutes. Centrifuger à 10000g pendant 5 minutes à + 4°C.
4. Lavage : éliminer le surnageant (phase phénol-ethanol). Laver la pelote d'ADN deux fois par 1 mL de solution (0,1 M citrate de sodium, 10% éthanol) : ajouter la solution puis laisser à température ambiante 30 minutes sous agitation légère, centrifuger à 2000g pendant 5 minutes à + 4°C, éliminer le surnageant. Suspendre à nouveau l'ADN dans 1,5 à 2 volumes (soit environ 2 mL) d'éthanol 70%. Laisser 10 à 20 minutes à température ambiante. Centrifuger à 2000g pendant 5 minutes à + 4°C, éliminer le surnageant par retournement, laisser sécher à l'air et remettre en suspension dans 30 à 50 µL d'eau distillée stérile.
5. Seconde purification : pour les échantillons ayant été lysés aux ultrasons, on réalise une seconde purification avant séchage. Ajouter 500 µL de tampon TE-Na puis du SDS et du Sarkosyl aux concentrations finales de 1%. Laisser 30 secondes à température ambiante puis ajouter de la protéinase K (concentration finale de 0,4 mg/mL). Incuber 3 heures à + 56°C, centrifuger 5 minutes à 6000g, récupérer le surnageant et le transférer dans un nouveau tube. Ajouter 500 µL de chloroforme, agiter doucement par retournement puis centrifuger 10 minutes à 10000g. Récupérer la phase aqueuse et la transférer dans un nouveau tube. Ajouter 1 mL d'éthanol absolu et laisser 10 à 20 minutes à température ambiante. Centrifuger à 2000g pendant 5

minutes à + 4°C, éliminer le surnageant par retournement, laisser sécher à l'air et remettre en suspension dans 30 à 50 µL d'eau distillée stérile.

- **Protocole utilisant du chlorure de lithium (LiCl : Hong *et al.*, 1997):**

1. Lyse et extraction : préparer la solution suivante :

0,8 M LiCl

0,6% Sarkosyl

10 mM EDTA

0,2% PVPP

5% β-mercaptoethanol.

Placer au préalable cette solution à + 55°C. Ajouter 1 mL de celle-ci au culot d'algues et incuber 10 minutes à + 55°C. Centrifuger 5 minutes à 6000g, récupérer 500 µL de surnageant et les transférer dans un nouveau tube.

2. Purification : ajouter 500 µL de chloroforme. Centrifuger 10 minutes à 10000g, récupérer la phase aqueuse et la transférer dans un nouveau tube.

3. Précipitation : ajouter 1mL d'éthanol absolu à -20°C. Laisser précipiter quelques heures à -20°C puis centrifuger 5 minutes à 2000g. Décanter le culot d'ADN avec précaution par retournement puis laisser sécher à température ambiante. Reprendre le culot dans 50 µL d'eau distillée stérile et laisser suspendre à nouveau l'ADN 12 heures au réfrigérateur à +4°C.

ANNEXE 9: ELECTROPHORESES EN GEL D'AGAROSE

Tampon TAE 10X :

Pour 500 mL de solution mère à diluer 10 fois :

Tris 24,2 g
EDTA 370 mg
Acétate de Sodium anhydre 8,2 g
Ajouter un peu d'eau distillée.
Ajuster le pH à 8,2 avec de l'acide acétique glacial.
Compléter à 500 mL avec de l'eau distillée.

Tampon de charge :

Glycérol 5%
Bleu de bromophénol 0,1%
Eau distillée qsp 100%

Préparation du gel d'agarose et dépôt des échantillons:

BEt (Eurobio, France)	0,8 µg / gel
Tampon TAE 1X	volume de gel à préparer + volume de la cuve
Agarose	0,8 ou 2 % à multiplier par le volume de gel à préparer
Tampon de charge	2 µL/échantillon

- Préparation du gel :

Préparer du TAE 1X (diluer le tampon TAE 10 X au 1/10^{ème}). Fondre l'agarose (0,8 % p/v pour le dépôt des extraits et des produits PCR ; 2 % p/v pour le dépôt des produits de digestion par Alu1 et Hha1) dans le tampon TAE 1X au four à micro-ondes (2 à 3 minutes pour 200 mL de gel) ou au bain-marie à ébullition. Attendre la dissolution de l'agarose : le gel devient translucide. Laisser refroidir jusqu'à environ 50-55°C. Ajouter le BEt, mélanger (attention aux bulles). Couler le gel dans le moule après avoir disposé un ou plusieurs peigne(s) : le gel ne doit pas atteindre le sommet des dents du peigne. Laisser le gel se solidifier 15 à 30 minutes à température ambiante. Retirer délicatement et bien verticalement le(s) peigne(s). Placer le gel dans la cuve à électrophorèse, les puits disposés du côté cathode. Remplir la cuve avec le tampon TAE 1X jusqu'à ce que le gel soit recouvert de quelques millimètres de tampon.

- Dépôt des échantillons :

Déposer autant de fois que d'échantillons 2 µL de tampon de charge sur du papier parafilm. Prélever 6 à 10 µL d'échantillon et mélanger ce volume, à la micropipette, aux 2 µL de tampon de charge. Déposer 6 µL de ce mélange dans un des puits du gel. Répéter cette opération pour tous les échantillons puis réaliser judicieusement un ou plusieurs dépôts de marqueur de taille. Connecter la cuve à électrophorèse au générateur et appliquer un champ électrique de 100 V, d'environ 80 mA pendant environ 30 minutes. Observer sous UV.