

# INTÉRÊT DU COMPTEUR DE PARTICULES ZB-ZBI ET DE L'ANALYSEUR C1000 POUR LA NUMÉRATION DES ALGUES UNICELLULAIRES DE CULTURE

René ROBERT

IFREMER, quai du Commandant-Silhouette, 33120 Arcachon.

## *Abstract*

UTILIZATION OF COULTER COUNTER ZB-ZBI AND CHANNELYSER C 1000 IN UNICELLULAR ALGAE NUMERATION.

Marine unicellular algae growth rates were studied with : a Coulter Counter, a Coulter Counter in conjunction with a channelyser, and a hemacytometer. Compared to the hemacytometer a good precision of the culture density was observed when the Coulter Counter was used in conjunction with a channelyser. Nevertheless care had to be taken when determining the growth of the diatoms.

## *Résumé*

L'intérêt du compteur de particules et de l'analyseur C1000 ont été recherchés dans le cadre de l'étude expérimentale de la croissance d'algues unicellulaires. Le compteur de particules seul permet difficilement de déterminer avec précision la densité cellulaire du nanoplancton de culture. Lorsque celui-ci est équipé d'un analyseur C1000, une meilleure approche est réalisée. Néanmoins, cet équipement doit être utilisé avec prudence en ce qui concerne les Bacillariophycées.

## *Introduction.*

Malgré les résultats prometteurs obtenus par l'utilisation des particules alimentaires microencapsulées pour les élevages larvaires en aquaculture (LANGDON et SIEGFRIED, 1984), seules les algues de culture permettent encore à ce jour d'assurer d'une façon fiable et reproductible le bon déroulement de la vie pélagique des bivalves. De nombreux travaux ont montré que la reproduction en milieu contrôlé dépend avant tout d'une bonne alimentation des élevages (LOOSANOFF et DAVIS, 1963 ; WALNE, 1970). La qualité des algues pour les phytophages dépend à la fois de l'espèce cultivée mais aussi de l'état physiologique des cultures. Ainsi l'utilisation de phytoplancton en phase de dégénérescence provoque dans la plupart des cas des mortalités de masse liées à des phénomènes bactériens (LUCAS, 1980). Par ailleurs, sur le plan quantitatif, il existe une relation étroite entre la densité des organismes en élevage et la quantité de nourriture à apporter. Cette dernière est fonction de la densité des cultures et de la taille des cellules algales. Que ce soit en éclosérie expérimentale ou en éclosérie de production, le suivi des cultures d'algues constitue donc un travail indispensable pour lesquelles les techniques anciennes de comptage à la cellule hématimétrique, relativement longues, ont été remplacées par l'utilisation de compteur de particules. En effet, la gamme de taille des algues unicellulaires, servant d'alimentation aux larves de mollusque, est suffisamment étroite (1 à 12  $\mu$ m) pour qu'à priori l'emploi des compteurs électroniques présentent un intérêt. A ce jour, nous avons pu établir dans nos conditions de culture (milieu, température, salinité, luminosité...) la croissance et la répartition en taille d'une dizaine d'algues (ROBERT et HIS, sous presse, *a, b*). Si pour se faire le compteur de particules ZB-ZBI couplé avec un analyseur C1000 s'est avéré intéressant, des limites d'utilisation ont été mises en évidence. Ce travail a pour but de les exposer afin de compléter les informations plus générales déjà diffusées sur ce sujet (SAMAIN *et al.*, 1985).

## Matériel et méthodes.

### Principe du fonctionnement.

Le compteur de particules. — L'organe détecteur est un tube de verre rempli d'électrolyte (ici eau de mer fraîchement filtrée à  $0,2 \mu\text{m}$ ) muni d'un orifice et pourvu de deux électrodes, l'une interne, l'autre externe, entre lesquelles passe un courant continu. Il existe donc entre les deux électrodes une différence de potentiel connue. Chaque particule qui passe à travers l'orifice déplace dans le tube un volume d'eau égal à son propre volume faisant varier en conséquence la différence de potentiel. Ce sont ces variations de d.d.p. qui sont enregistrées et sélectionnées au niveau du compteur électronique. La sélection en volume des particules repose sur la formule suivante :  $V = k_v \cdot A \cdot I \cdot T$ , où A représente l'atténuateur (ou amplificateur), I l'impédance, T le seuil et  $k_v$  une constante de l'appareil. En assimilant chaque particule à une sphère, il est possible d'exprimer cette sélection en taille. Le compteur de particules n'effectue que le comptage des particules. L'appareil est muni d'un oscilloscope qui visualise les particules pénétrant à travers l'orifice, mais il ne permet pas d'analyser leur répartition en volume. Cette dernière est assurée par l'analyseur C1000.

Il est limité à la fois dans les valeurs maximum et minimum. Celles-ci dépendent essentiellement de la taille de l'orifice du tube. La plus grande mesure enregistrée par l'appareil est égale à 50 % de la valeur du diamètre de l'orifice. Cette limite n'a aucune conséquence pour le dénombrement d'algues unicellulaires de culture servant d'alimentation aux larves, car rappelons-le, leur taille est généralement inférieure à  $12 \mu\text{m}$ . L'obtention de la valeur minimum pose certains problèmes. Plus l'orifice est petit, plus on descend dans les petites valeurs, mais le gain obtenu en changeant de tube n'est pas très important. En recherchant cette valeur minimum, il faut veiller à ne pas rentrer dans le bruit de fond de l'appareil car les mesures qui en résultent n'ont plus de signification.

L'analyseur C1000. — Il ne peut être utilisé que couplé avec un compteur de particules. Il affiche sur un écran divisé en 100 canaux la distribution en volume des particules en suspension. L'analyse du volume repose sur une formule proche de celle du compteur où A et I sont communs aux deux appareils.

Comparativement au compteur de particules, l'échelle d'analyse du C1000 est assez étroite. Ainsi lorsque le compteur est calibré pour détecter les plus petites et les plus grandes valeurs, un tube de  $100 \mu\text{m}$  dénombre les particules comprises entre  $1,5$  et  $50 \mu\text{m}$  alors que le C1000 ne permet d'étudier la même population qu'entre  $1,5$  et  $4,5 \mu\text{m}$  approximativement. Pour une calibration fixe de A et de I, la distribution de la population repose sur une dynamique de trois en taille. Par contre, à l'intérieur de cette fenêtre, l'analyse est très précise.

### Les algues unicellulaires.

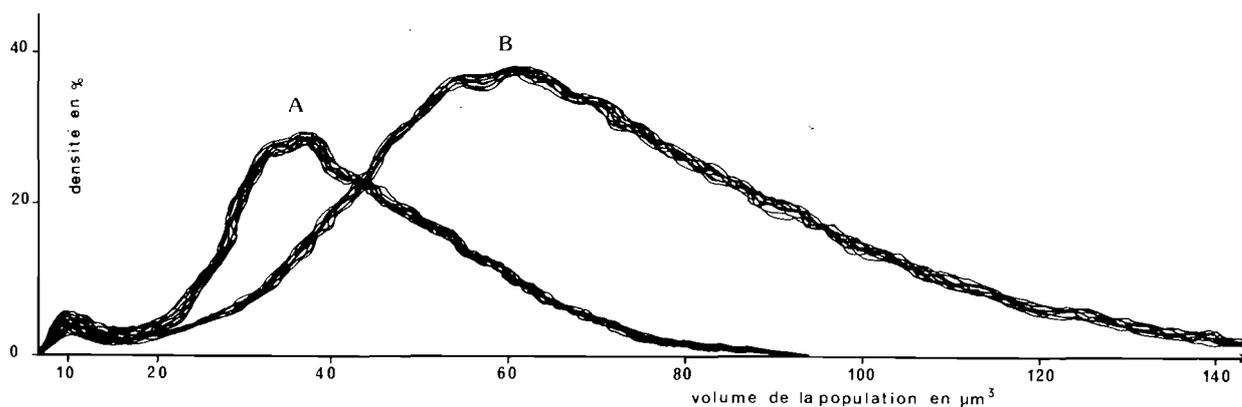


FIG. 1. — Evolution sur dix mesures successives de la distribution du volume cellulaire d'une même culture d'*Isochrysis galbana* Parke ; A : souche âgée de 4 jours ; B : souche âgée de 37 jours.

The volume frequency distribution over ten successive records of a same culture of *Isochrysis galbana* Parke ; A : 4 day old culture ; B : 37 day old culture.

Les techniques de culture et de production algale ont été décrites par ailleurs (ROBERT et HIS, 1987 a). La croissance et le spectre de répartition en taille de neuf algues unicellulaires en cultures non renouvelées ont été étudiées.

- Prymnésiophycées : *Isochrysis galbana* Parke, *Isochrysis aff galbana* « Tahiti » nom. prov., *Pseudoisochrysis paradoxa* nom. prov. et *Paulova lutheri* (Droop) Green.
- Prasinophycées : *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butcher et *Tetraselmis tetrathele* (G.S. West) Butcher.
- Bacillariophycées, *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* Takano, *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano et *Chaetoceros gracilis* Schütt.

La croissance a été étudiée comparativement au compteur de particules équipé d'un tube de  $100\ \mu\text{m}$  et à la cellule de Malassez. La plupart des échantillons étaient dilués en eau de mer filtrée à  $0,2\ \mu\text{m}$  à l'aide d'un diluteur automatique au 1/100. Le nombre de particules supérieures ou égales à  $2\ \mu\text{m}$  de l'eau de dilution était inférieur à 1 000 par ml. Le volume cellulaire a été recherché à l'analyseur C1000. Cette étude a été réalisée sur matériel frais, tous les essais de conservation du matériel particulaire (formol, lugol, congélation à  $-20\ ^\circ\text{C}$ ...) affectant le spectre de distribution et la numération des particules (SAMAIN *et al.*, 1985).

## Résultats.

### Les Prymnésiophycées.

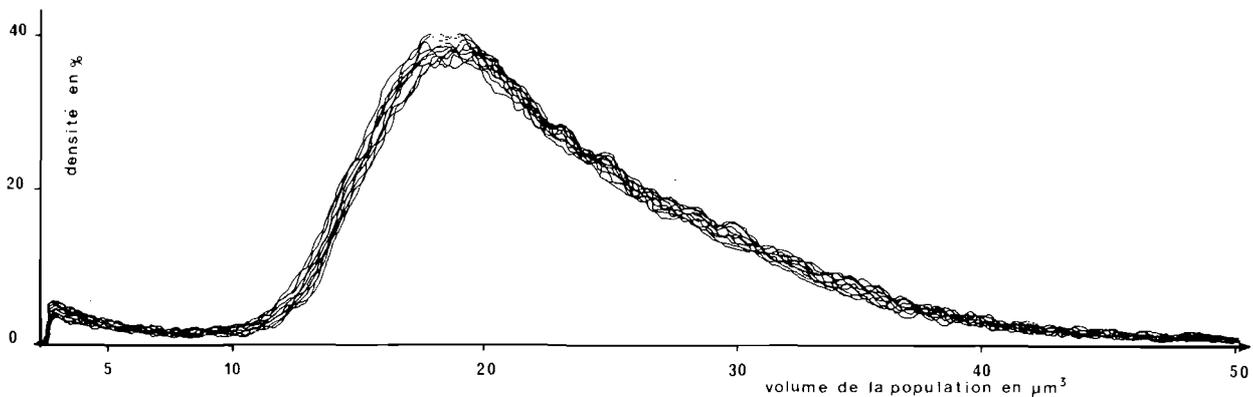


FIG. 2. — Evolution sur dix mesures successives de la distribution du volume cellulaire d'une même culture de *Pseudoisochrysis paradoxa* nom. prov.

The volume frequency distribution over ten successive records of a same culture of *Pseudoisochrysis paradoxa* nom. prov.

Le compteur de particules a été calibré de telle sorte que la plus petite valeur enregistrée soit égale à  $2\ \mu\text{m}$ . Les valeurs obtenues au compteur de particules et à la cellule de Malassez sont concordantes. Ainsi chez *Isochrysis galbana*, pour cinq concentrations comprises entre  $9,1 \cdot 10^6$  et  $1,8 \cdot 10^6$  cell./ml au compteur de particules et  $9,3 \cdot 10^6$  et  $1,9 \cdot 10^7$  à la cellule de Malassez, la droite de régression est égale à :  $y = 1,014 x + 0,227$ . Le coefficient de corrélation  $r$  est significatif au seuil de 95 %. Il en est de même avec *Pseudoisochrysis paradoxa* où pour huit densités comprises entre  $10^6$  et  $2,5 \cdot 10^7$  cell./ml au compteur de particules et  $9 \cdot 10^5$  et  $2,3 \cdot 10^7$  cell./ml à la cellule de Malassez,  $y = 0,869 x + 0,116$  et  $r = 0,997$ . En ce qui concerne la distribution en volume, dix mesures successives effectuées sur le même échantillon montrent une excellente reproductibilité du spectre, aussi bien chez les jeunes cultures que chez les plus âgées (fig. 1 et 2).

### Les Prasinophycées (tabl. 1 a).

Lorsque le compteur est calibré comme précédemment, diamètre supérieure ou égal à  $2\ \mu\text{m}$ , les valeurs ne correspondent pas à celles obtenues à la cellule de Malassez. Elles sont surestimées par un facteur deux. On observe parallèlement sur le C1000 une importante montée des particules dans les premiers canaux ; la distribution prend l'allure d'une courbe exponentielle. Par contre, lorsque le compteur est calibré pour un diamètre supérieur ou égal à  $3,5\ \mu\text{m}$ , les valeurs sont proches de celles enregistrées à la cellule de

Malassez. La distribution de la population est alors de type Gaussien. Pour une même numération, dix mesures successives réalisées sur l'échantillon permettent de constater qu'il n'y a pas reproductibilité du spectre de taille. Ce phénomène est moins marqué chez les souches âgées (fig. 3).

Age de la culture en jours	Densité cellulaire $10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ calculée au compteur de particules		Densité cellulaire $10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ calculée à la cellule de Malassez
	$d \geq 2 \mu\text{m}$	$d \geq 6 \mu\text{m}$	
0	1,0	0,31	0,45
2	3,5	0,74	0,86
4	3,6	2,1	2,3
7	5,9	2,5	2,4
9	6,6	2,8	3,4
11	7,9	2,9	3,8
14	7,0	2,9	4,3
16	7,6	3,1	4,2
18	6,9	2,9	3,3
21	8,6	3,5	4,2
23	9,4	4,0	4,6
25	10	4,1	4,1
28	15	6,0	7,4
30	8,3	8,2	10
32	22	8,4	8,7
35	31	11	12

Tableau 1 a.

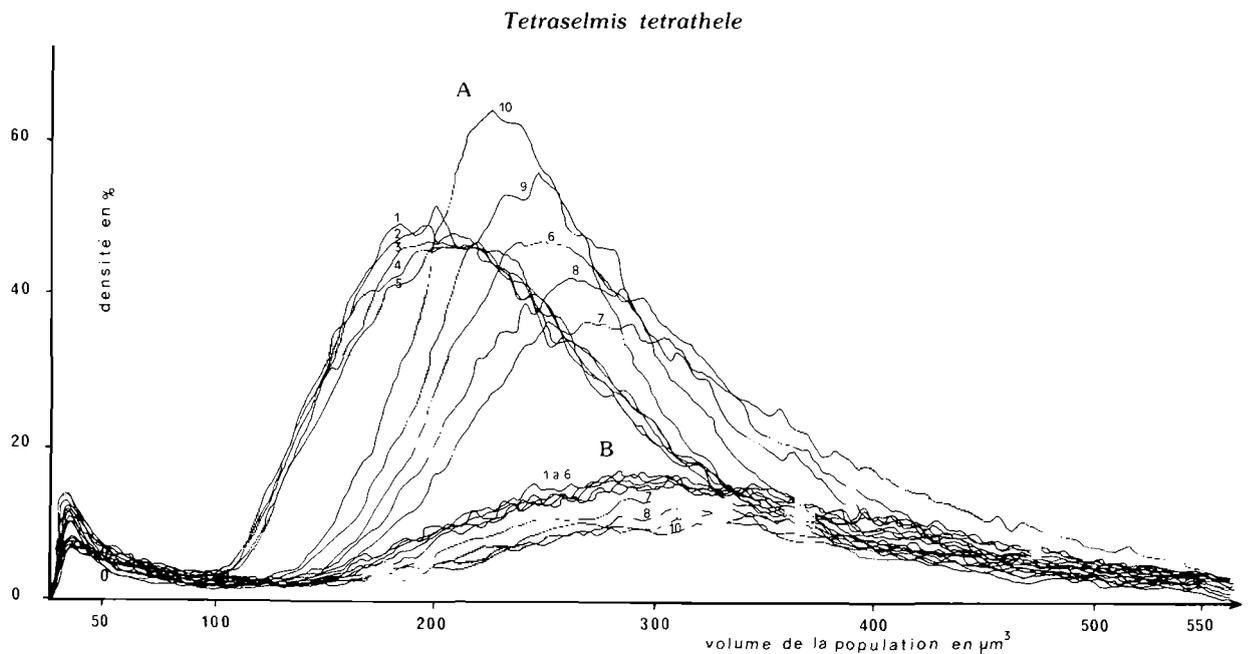


FIG. 3. — Evolution sur dix mesures successives de la distribution du volume cellulaire d'une même culture de *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butcher ; A : souche âgée de 9 jours ; B : souche âgée de 38 jours.

The volume frequency distribution over ten successive records of a same culture of *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butcher ; A : 9 day old culture ; B : 38 day old culture.

**Les Bacillariophycées** (tabl. 1 b et c).

Parmi les trois espèces étudiées, l'une de petite taille, *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*, se caractérise par la présence de soies courtes. Les deux autres, *Chaetoceros calcitrans* et *Chaetoceros gracilis*, plus volumineuses, possèdent des soies dont la longueur atteint quatre à cinq fois celle de l'axe apical. Lorsque le compteur est réglé pour un diamètre supérieur ou égal à  $2 \mu\text{m}$ , les valeurs chez *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*, en phase exponentielle et stationnaire, sont voisines de celles qui sont obtenues à la cellule de Malassez. Par contre, le spectre de distribution de l'algue est écrasé dans les premiers canaux. Lorsque l'on calibre le compteur sur un diamètre supérieur ou égal à  $1,60 \mu\text{m}$ , la population est entièrement visualisée au C1000 mais les numérations sont surestimées.

Age de la culture en jours	Densité cellulaire $10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ calculée au compteur de particules		Densité cellulaire $10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ calculée à la cellule de Malassez
	$d \geq 1,6 \mu\text{m}$	$d \geq 2 \mu\text{m}$	
0	1,7	1,0	0,8
2	2,8	2,2	1,9
7	10	10	9,0
10	18	15	14
15	24	19	18
22	23	17	19
25	22	19	17

Tableau 1 b. *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum*

Age de la culture en jours	Densité cellulaire $10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ calculée au compteur de particules $d \geq 2,5 \mu\text{m}$	Densité cellulaire $10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ calculée à la cellule de Malassez
0	1,4	0,9
4	3,0	1,6
6	6,4	3,5
11	8,6	8,0
14	9,2	7,0
19	10	8,1
26	12	8,0
29	9,8	4,7
34	9,4	5,5

Tableau 1 c. *Chaetoceros calcitrans*

TABL. 1. — Densités cellulaires ( $\text{ml}^{-1}$ ) d'une culture de *Tetraselmis tetrathele* (G.S. West) Butcher, *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* Takano et de *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano cultivée en ballon de six litres. Comparaison des données obtenues au compteur de particules et à la cellule de Malassez.  
 Comparison of algal numbers ( $\text{ml}^{-1}$ ) of a 6 l culture of *Tetraselmis tetrathele* (G.S. West) Butcher, *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* Takano and *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano in a Malassez hemacytometer and Coulter counter.

Le compteur de particules ne permet pas de mettre en évidence la phase de sénescence de cette algue. Ainsi jusqu'au quinzième jour de culture, une corrélation hautement significative est observée entre huit densités obtenues au compteur de particules et comprises entre  $10^6$  et  $2,4 \cdot 10^7$  cell./ml et à la cellule de Malassez pour des concentrations comprises entre  $1,3 \cdot 10^6$  et  $1,8 \cdot 10^7$  cell./ml :  $y = 0,712 x + 0,723$  et  $r = 0,988$ . Au-delà, lorsque l'algue dégénère, on constate que les valeurs notées au compteur de particules sont aussi élevées qu'en phase stationnaire et, de ce fait, la corrélation n'est plus significative. Ainsi sur

cinq séries de mesures, pour des concentrations comprises entre  $2,2 \cdot 10^7$  et  $2,4 \cdot 10^7$  cell./ml au compteur de particules et  $1,1 \cdot 10^6$  et  $3,8 \cdot 10^6$  cell./ml à la cellule de Malassez,  $y = -0,325x + 14,065$  et  $r = -0,211$ . Dix mesures successives réalisées sur un même échantillon donnent une distribution du même type, quel que soit l'âge de la souche. La distribution est étalée (fig. 5). Une montée importante des particules dans les premiers canaux indiquent la phase de sénescence qui, rappelons-le, n'est pas visible par le seul dénombrement réalisé au compteur de particules.

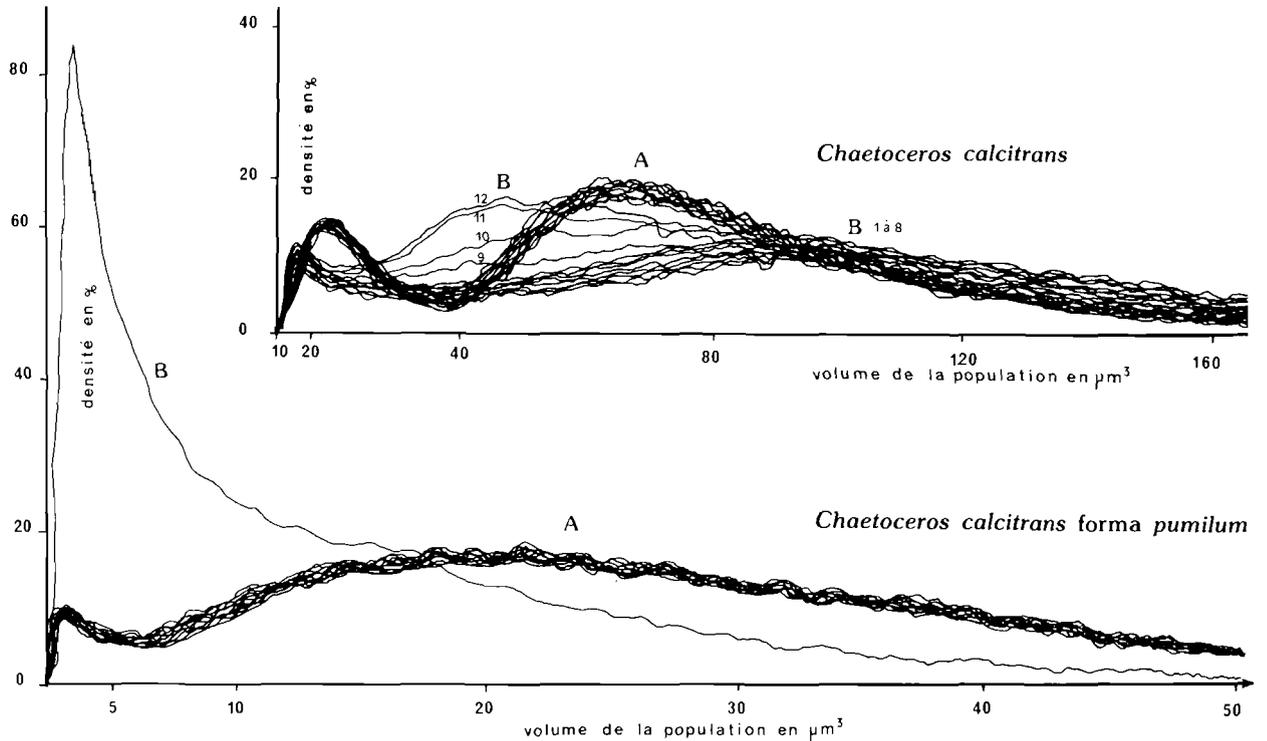


FIG. 4. — Evolution sur douze mesures successives de la distribution du volume cellulaire d'une même culture de *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano ; A : souche âgée de 7 jours ; B : souche âgée de 18 jours.

The volume frequency distribution over ten successive records of a same culture of *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen) Takano : A : 7 day old culture ; B : 18 day old culture.

FIG. 5. — Evolution sur dix mesures successives de la distribution du volume cellulaire d'une même culture de *Chaetoceros calcitrans forma pumilum* Takano (A) et distribution du volume cellulaire de cette même souche en phase de dégénérescence (B).

The volume frequency distribution over ten successive records of a same culture of *Chaetoceros calcitrans forma pumilum* Takano (A) and the volume frequency distribution of this algae when collapsing (B).

Le compteur de particules ne permet pas le dénombrement correct des deux autres diatomées. Lorsque l'on calibre l'appareil sur un diamètre supérieur ou égal à  $2 \mu\text{m}$ , une surestimation par un facteur deux du nombre des cellules est notée et le spectre de distribution est peu visible. Lorsque l'on se positionne sur un diamètre supérieur ou égal à  $2,5 \mu\text{m}$ , qui permet de visualiser correctement la population, les dénombrements sont améliorés, mais des différences avec ceux obtenus à la cellule de Malassez persistent encore : la dégénérescence des cultures, à partir du vingt-neuvième jour, ne peut pas être mise en évidence au compteur de particules. Si une assez bonne reproductibilité du spectre est généralement observée chez les jeunes souches, il n'en est pas de même chez les plus âgées, où dès la neuvième mesure une diminution du volume cellulaire est notée (fig. 4).

Chez *Chaetoceros gracilis*, le C 1000 permet de visualiser la phase de sénescence : comme chez *Chaetoceros calcitrans forma pumilum*, une montée importante des particules dans les premiers canaux est notée. A l'inverse, chez *Chaetoceros calcitrans*, une augmentation du volume cellulaire caractérise l'approche de cette phase.

Il est possible de déterminer avec précision les concentrations cellulaires des flagellés au compteur de particules. A l'inverse, cet appareil ne permet pas une bonne estimation de celles-ci chez les diatomées. Or, une adjonction de métasilicate dans le milieu de culture, milieu de Conway (WALNE, 1956 ; LAING, 1979), est nécessaire pour la production de ces dernières et celle-ci est effectuée en routine avant autoclavage des milieux. Il s'en suit généralement une précipitation qui pourrait expliquer un apport de particules parasites. Pour vérifier cette hypothèse, l'analyse des milieux a donc été réalisée.

**Les milieux de culture.**

Le nombre de particules parasites, c'est-à-dire apporté par le milieu de culture des flagellés, est faible par rapport aux densités algales enregistrées (tabl. 2 a). Ainsi dans la plus petite position utilisée, A = 1/8, I = 1/8, T = 6, où est généralement dénombré *Pseudoisochrysis paradoxa*, cet apport constant est de l'ordre de 10<sup>6</sup> pour une culture dont la densité cellulaire est comprise entre 1 et 2.10<sup>7</sup>. Le rapport est donc

Age de la culture en jours	Densité particulaire 10 <sup>6</sup> . ml <sup>-1</sup> déterminée au compteur de particules				
	1/8 - 1/8	1/4 - 1/8	1/4 - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 0,354
0	1,2	0,70	0,32	0,13	0,080
2	0,95	0,56	0,32	0,17	0,12
5	0,73	0,47	0,31	0,17	0,13
8	0,88	0,50	0,34	0,19	0,15
12	1,0	0,52	0,37	0,24	0,19
15	0,77	0,41	0,26	0,16	0,12
23	0,35	0,14	0,080	0,050	0,040

Tableau 2 a.

Age du milieu de culture en jours	Densité particulaire 10 <sup>6</sup> . ml <sup>-1</sup> déterminée au compteur de particules				
	1/8 - 1/8	1/4 - 1/8	1/4 - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 0,354
0	3,5	2,0	2,0	0,46	0,30
2	6,4	3,4	1,1	0,30	0,18
5	6,0	2,9	1,2	0,29	0,17
8	6,7	2,9	1,1	0,30	0,19
12	6,8	2,9	1,2	0,45	0,14
15	6,8	2,9	1,0	0,49	0,15
23	8,0	3,2	1,3	0,49	0,22

Tableau 2 b.

de 1/10 à 1/20. Pour les flagellés plus volumineux, comme *Tetraselmis suecica* qui est dénombré aux positions A = 1/2, I = 0,354, T = 6, cet apport est de l'ordre de 1 à 2.10<sup>5</sup> pour une culture dont la densité cellulaire est comprise entre 2 à 4.10<sup>6</sup>, soit encore un rapport de 1/10 à 1/20. Ces particules du milieu sont visibles sur les différents spectres de répartition et correspondent au petit pic apparaissant dans les dix premiers canaux.

En ce qui concerne les milieux utilisés pour la croissance des diatomées, l'adjonction de métasilicate dans nos conditions de culture est une source d'apport de particules parasites non négligeable surtout dans les plus petites positions de A et de I (tabl. 2b) qui se traduit au C1000 par un pic important dans les dix premiers canaux. Par contre, lorsque l'adjonction de métasilicate est effectuée après autoclavage, cet apport parasite diminue considérablement (tabl. 2 c).

**Discussion et conclusion.**

Chez les Prymnésiophycées, les valeurs obtenues au compteur de particules sont très voisines de celles acquises à la cellule de Malassez. Une légère surestimation, due aux particules du milieu de culture, est cependant détectée dans les plus petites positions de A et de I où est généralement déterminée *Pseudoisochrysis paradoxa*. Ce nombre de particules parasites ne peut expliquer les différences importantes notées chez les Prymnésiophycées lorsque le compteur est calibré sur un diamètre supérieur ou égal à 2  $\mu\text{m}$ . *Tetraselmis suecica* et *Tetraselmis tetrathele* sont pourvus de quatre flagelles qui se détachent facilement des cellules algales. L'observation des cultures au microscope met en évidence ce phénomène. La surestimation observée dans les comptages pour les basses valeurs de A et de I et le pic noté dans les premiers canaux du C1000 sont probablement dus aux flagelles libérés par les cellules dans le milieu de culture. Lorsque l'on augmente les valeurs de A et de I, ceux-ci ne sont plus pris en compte au niveau du compteur électronique et il y a correspondance entre les deux techniques de comptage. Les Prasinophycées ont la propriété d'adhérer soit fortement entre elles, soit aux parois des récipients de culture même lorsqu'un brassage important est maintenu. Cette faculté pourrait expliquer les variations du volume cellulaire de la population observées sur un même échantillon.

Age du milieu de culture en jours	Densité particulaire $10^6 \text{ ml}^{-1}$ déterminée au compteur de particules				
	1/8 - 1/8	1/4 - 1/8	1/4 - 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 0.354
0	1,3	0,81	0,51	0,26	0,21
2	1,0	0,60	0,40	0,30	0,28
5	1,2	0,55	0,40	0,28	0,27
8	1,7	0,60	0,39	0,31	0,28
12	2,3	1,0	0,69	0,25	0,37
15	3,3	1,4	0,81	0,26	0,37
23	3,2	1,4	0,83	0,35	0,36

Tableau 2 c.

TABLE. 2. — Densités particulaires ( $\text{ml}^{-1}$ ), en fonction de différentes positions de l'atténuateur A et de l'impédance I du compteur de particules, du milieu de Conway non métasilicaté utilisé pour la culture des flagellés (a), du milieu de Conway métasilicaté avant autoclavage pour la culture des diatomés (b), du milieu de Conway métasilicaté après autoclavage pour la culture des diatomés (c).

Particle concentrations ( $\text{ml}^{-1}$ ), for different calibrations of the Coulter counter amplification (A) and aperture current (I), of normal Conway medium used for the culture of flagellates (without silicate) (a), modified Conway medium used for the culture of diatoms : the silicate solution was added to the medium and autoclaved (b), modified Conway medium used for the culture of diatoms : the silicate solution was added after cooling (c).

Chez les Bacillariophycées, l'analyse des densités cellulaires est plus délicate avec ce type d'appareillage. En ce qui concerne le dénombrement, la surestimation observée chez les trois espèces est probablement liée à l'apport de particules de métasilicate qui précipite à l'autoclavage. Ce phénomène parasite est particulièrement visible dans les faibles positions de A et de I. Pour des études plus fines de croissance, il serait donc souhaitable de réaliser cette adjonction après autoclavage. De plus, chez *Chaetoceros calcitrans* et *Chaetoceros gracilis*, les soies, dont la longueur est loin d'être négligeable, sont probablement prises en compte dans le comptage sur les petites positions de A et de I. En effet, on observe fréquemment dans les cultures des soies qui se sont détachées des frustules. Enfin, le compteur de particules ne permet pas de mettre en évidence la phase de sénescence des diatomées ; la persistance dans les récipients de culture des frustules siliceux des cellules mortes explique vraisemblablement cet inconvénient. Le compteur ne permet pas d'apprécier cet état. Cet artefact explique le prolongement apparent de la phase stationnaire. Les nombreuses observations à la cellule de Malassez ont montrées que, dans nos conditions de culture, la durée de vie de ces diatomées n'excède pas trois à quatre semaines.

Il n'est donc possible que d'apprécier grossièrement les densités cellulaires chez ces diatomées avec ce type d'appareillage. Pour améliorer les comptages, il faut calibrer l'appareil pour que seule la population algale apparaisse nettement au C1000 ; la position du seuil inférieur T doit être modifiée pour éliminer les parasites. Le déclin des cultures de diatomées peut être détecté au C1000. Chez *Chaetoceros calcitrans* forma *pumilum* et chez *Chaetoceros gracilis*, la population est étendue en forme de cloche ; une diminution du volume cellulaire s'observe parfois en phase exponentielle, mais il n'y a pas généralement de changement notable de la distribution en taille des cellules. La phase de sénescence est indiquée par une augmentation très importante des particules dans les premiers canaux ; la population prend alors l'allure d'une courbe exponentielle. Chez *Chaetoceros calcitrans*, à l'inverse, l'approche de la phase de dégénérescence de la culture est indiquée par une augmentation importante du volume cellulaire.

Le compteur de particules seul permet difficilement de mesurer avec certitude la densité des cultures d'algues monocellulaires utilisées en aquaculture. L'adjonction de l'analyseur C1000 permet un calibrage correct de l'appareil qui rend possible, dans la plupart des cas, les mesures sur les seules cellules algales. De plus, le suivi du volume cellulaire permet de caractériser les différentes phases de croissance des algues. Chez la plupart, le spectre de répartition de la taille des cellules est constant en phase exponentielle, puis une augmentation de leur volume est généralement observée en phase stationnaire (ROBERT et HIS, sous presse, a, b).

#### BIBLIOGRAPHIE

- LAING (I.), 1979. — Recommended procedures for the culture of *Chaetoceros calcitrans*. — *Fish. Res. Techn. Rep.*, 53 : 8-12.
- LANGDON (C.J.) et SIGGRIED (C.A.), 1984. — Progress in the development of artificial diets for bivalve filter feeders. — *Aquaculture*, 39 : 135-153.
- LOOSANOFF (V.L.) et DAVIS (H.C.), 1963. — Rearing of bivalve larvae. — *Advances in Mar. Biol.*, 1 : 1-136.
- LUCAS (A.), 1980. — Problème de génétique, d'écophysiologie et de pathologie dans les écloséries de bivalves. — *Oceanis*, 5 : 1-22.
- ROBERT (R.) et HIS (E.), 1987 a. — Croissance et spectre de taille de trois algues en cultures non renouvelées, utilisées pour la nutrition des larves de bivalves en éclosérie. — *Haliotis*, 17 : sous presse.
- 1985 (1987 b). — Croissance et spectre de taille de six algues en cultures non renouvelées, utilisées pour la nutrition des larves de bivalves en éclosérie. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 47 (3-4) : 165-173.
- SAMAIN (J.-F.), HIS (E.), LCEILLET (C.), MOAL (J.), POULIET (S.) et ROBERT (R.), 1985. — Table ronde. Utilisation du compteur Coulter en milieu marin. Informations pratiques. — *Oceanis*, 11 (5) : 481-485.
- WAINMAN (P.R.), 1956. — Experimental rearing of the larvae of *Ostrea edulis* L. in the laboratory. — *Fish Invest.*, London, Ser. 2, 20 : 1-23.
- 1970. — Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalve of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Merccenaria* and *Mytilus*. — *Fish. Invest.*, London, Ser. 2, 26 : 1-62.

Manuscrit soumis le 17-8-1987, accepté le 20-10-1987.